

А.Д. Макацария
В.О. Бицадзе

**ТРОМБОФИЛИИ И
ПРОТИВОТРОМБОТИЧЕСКАЯ
ТЕРАПИЯ В
АКУШЕРСКОЙ ПРАКТИКЕ**



А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе

**ТРОМБОФИЛИИ
И ПРОТИВОТРОМБОТИЧЕСКАЯ
ТЕРАПИЯ В АКУШЕРСКОЙ
ПРАКТИКЕ**

Москва,
«Триада-Х», 2003

А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе. «Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике». М., «Триада-Х», 2003 — 904 с.

ISBN 5-8249-0097-3

В монографии детально рассмотрены физиология функционирования всех звеньев гемостаза, точки приложения разнообразных противотромботических препаратов, вопросы патогенеза, диагностики и принципов терапии тромбофилических состояний, включающих генетические формы и антифосфолипидный синдром. Последовательно изложены вопросы клинической фармакологии, антагонистов витамина К, нефракционированного и фракционированного гепаринов, тромболитиков, ингибиторов функции тромбоцитов и других групп противотромботических препаратов. Изложены медикаментозные нарушения свертывания крови, гепарин-индуцированная тромбоцитопения, контроль противотромботической терапии. С позиции роли АФС и генетических форм тромбофилии в патогенезе различных осложнений гестационного процесса описаны основные принципы противотромботической терапии беременных с синдромом потери плода, гестозом, тромбозами, заболеваниями клапанов сердца, герпесвирусной инфекцией. Монография предназначена для врачей акушеров-гинекологов, врачей-клиницистов всех специальностей, студентов старших курсов медицинских ВУЗов, клинических ординаторов и аспирантов.

Рекомендовано к изданию Бюро редакционно-издательского совета Московской медицинской академии им. И.М.Сеченова.

Научный редактор Кусаинова В.Н.

ISBN 5-8249-0097-3

© А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе, 2003
© Издательство «Триада-Х», 2003
© Оформление — «Издательский дом «Паллар», 2003

Подписано в печать 9.07.2003.

Формат 70×100 1/16.

Печать офсетная. Печ. л. 56,5.

Тираж 2000 экз. Заказ 720

Отпечатано в полном соответствии
с качеством предоставленных диапозитивов
в ОАО «Можайский полиграфический комбинат».
143200, г. Можайск, ул. Мира, 93.



МАКАЦАРИЯ Александр Давидович

Профессор, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии, руководитель лаборатории патологии гемостаза медико-профилактического факультета Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова. Автор 425 научных работ, включая 15 монографий. Под его руководством подготовлено 95 диссертаций, включая 14 докторских.

Научные интересы:

- беременность высокого риска (беременность и сердечно-сосудистые заболевания, беременность и инфекционная патология)
- оперативное акушерство
- онкогинекология
- гормональная контрацепция и гормональная заместительная терапия
- противотромботическая терапия в акушерстве, гинекологии и онкологии
- антифосфолипидный синдром
- ДВС-синдром
- генетические формы тромбофилии
- генетические формы геморрагических диатезов



БИЦАДЗЕ Виктория Омаровна

Окончила факультет подготовки научных и научно-педагогических кадров Московской Медицинской Академии им. И.М. Сеченова, клиническую ординатуру и аспирантуру. Ведущий научный сотрудник лаборатории патологии гемостаза кафедры акушерства и гинекологии МПФ ММА им. И.М. Сеченова. Ученица профессора А.Д. Макацария. Одна из главных исследователей проблем патологии гемостаза в акушерско-гинекологической практике. Автор 70 научных работ, включая 6 монографий. Стипендиат «Rotary International». В 1999 г. — стажировка в Университете Бонн (Германия).

Научные интересы:

- диагностика молекулярных механизмов тромбофилии в общеклинической и акушерско-гинекологической практике
- мультигенные формы тромбофилий
- ведение беременных высокого риска (рецидивирующие тромбозы, заболевания сердца, гестозы, привычное невынашивание)
- ведение беременных с искусственными клапанами сердца
- диагностика и ведение беременных с антифосфолипидным синдромом
- контроль противотромботической терапии
- онкогинекология
- ятрогенные эффекты гормональной контрацепции и гормональной заместительной терапии

Содержание

Об авторах	3
Список сокращений	5
Предисловие	11
Введение	12
Глава I. Физиология системы гемостаза и вопросы стратегии противотромботической терапии	13
Глава II. Генетические формы тромбофилии и беременность	165
Глава III. Антифосфолипидный синдром в акушерстве	204
Глава IV. Гипергомоцистеинемия и патология беременности	264
Глава V. Свободные радикалы — производные кислорода в патогенезе артериальных тромбозов	305
Глава VI. Диагностика тромбофилических состояний (А.Л. Мищенко, В.О. Бицадзе)	315
Глава VII. Антагонисты витамина К (оральные антикоагулянты)	361
Глава VIII. Нефракционированный и фракционированный (низкомолекулярный) гепарины	429
Глава IX. Производные гепарина и гепариноиды	461
Глава X. Прямые ингибиторы тромбина	470
Глава XI. Ингибиторы функции тромбоцитов	484
Глава XII. Тромболитические препараты (фибринолитики)	505
Глава XIII. Декстраны	531
Глава XIV. Препараты эндогенных антикоагулянтов и рекомбинантные ингибиторы свертывания	538
Глава XV. Медикаментозно обусловленные нарушения в системе гемостаза	546
Глава XVI. Гепарин-индуцированная тромбоцитопения	612
Глава XVII. Контроль противотромботической терапии.	661
Глава XVIII. Геморрагические и тромботические осложнения противотромботической терапии	678
Глава XIX. Беременность, тромбозы и противотромботическая терапия	694
Глава XX. Принципы профилактики тромбоэмболических осложнений у беременных с заболеваниями клапанов сердца (В.О. Бицадзе, О.С. Аляутдина, Л.М. Смирнова)	758
Глава XXI. Синдром потери плода и противотромботическая терапия ...	798
Глава XXII. Гестозы и противотромботическая терапия	825
Глава XXIII. Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и тромбофилии	871
Глава XXIV. Низкомолекулярные гепарины в терапии эндотелиальных повреждений у беременных с герпесвирусными инфекциями (Н.В. Долгушина)	878
Источники представленных рисунков и таблиц	904

Список сокращений

ABP	активированное время рекальцификации
АГП	антенатальная гибель плода
АД	артериальное давление
АДд	диастолическое артериальное давление
АДГ	антидиуретический гормон
АДФ	адениндифосфат
АИТП	аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура
АКА	антикардиолипидные антитела
АМФ	аденинмонофосфат
АОТ	антитело-опосредованный тромбоз
АТ	артериальный тромбоз
АТ III	антитромбин III
АТФ	аденинтрифосфат
АПФ	ангиотензин-превращающий фермент
АФА	антифосфолипидные антитела
АФС	антифосфолипидный синдром
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВА	волчаночный антикоагулянт
в/в	внутривенно
ВВГГ	внутривенное введение гамма-глобулина
ВВЗ	вирус варицелла зостер
Витамин КН2	гидрохинон витамина К
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВКЗ-протеины	витамин К-зависимые протеины
ВЛЭС	время лизиса зуглобулинового сгустка
ВМК	высокомолекулярный кининоген
ВПГ	вирус простого герпеса
ВТЭ	венозный тромбозмблизм
ГАГ	гликозаминогликаны
ГБГ	гликопротеины, богатые гистидином
ГГ	генитальный герпес
ГЗА	гепарин-зависимые антитела
ГИТ	гепарин-индуцированная тромбоцитопения
ГИТТ	гепарин-индуцированные тромбоцитопения и тромбоз
ГК	глюкокортикоиды

ГКГС	главный комплекс гистосовместимости
ГП	гликопротеин
Гр+	грамположительный
Гр-	грамнегативный
ГУС	гемолитико-уремический синдром
ДВС	диссеминированное внутрисосудистое свертывание
ДН	дыхательная недостаточность
ЗВРП	задержка внутриутробного развития плода
ИВЛ	искусственная вентиляция легких
ИКС	искусственные клапаны сердца
ИЛ	интерлейкин
ИЛТ	индуцированная лекарствами тромбоцитопения
ИМ	инфаркт миокарда
ИПГ	импедансная плетизмография
ИТП	индекс тромбодинамического потенциала
ИФН	интерферон
КДА	килодальтон
КАФС	катастрофический АФС
КЛ	кардиолипиды
КОК	комбинированные оральные контрацептивы
КПК	концентраты протромбинового комплекса
КС	калликреин-кининовая система
КТ	компьютерная томография
КУС	компрессионная ультрасонография
ЛВП	липопротеины высокой плотности
ЛГ	легочная гипертензия
ЛНП	липопротеины низкой плотности
ЛОНП	липопротеины очень низкой плотности
ЛПРВ	ложноположительная реакция Вассермана
ЛПС	липополисахарид
ЛСП	липопротеины средней плотности
ЛТК	липоевая кислота
МАТ	метионинаденозилтрансфераза
Мм	молекулярная масса
МОК	минутный объем крови
МОС	минутный объем сердца
НАДФ	никотин аденин дифосфат
НГ	нефракционированный гепарин
НМГ	низкомолекулярный гепарин
НПВП	нестероидные противовоспалительные препараты
НЭЖК	неэтерифицированные жирные кислоты

ОАК	оральные антикоагулянты
ОИМ	острый инфаркт миокарда
ОК	оральные контрацептивы
ОПВ	околоплодные воды
ОПН	острая почечная недостаточность
ОПСС	общее периферическое сопротивление сосудов
ОРДС	острый респираторный дистресс-синдром
ОЦК	объем циркулирующей крови
ПГ	простагландин
ПГН	плазминоген
ПДФ (FDP)	продукты деградации фибрина/фибриногена
ПИ	протромбиновый индекс
п/к	подкожно
ПЛ	плацентарный лактоген
ПЛГ	первичная легочная гипертензия
ПМК	пролапс митрального клапана
ПМЯ-лейкоциты	полиморфноядерные лейкоциты
ПНГ	пароксизмальная ночная гемоглобинурия
ПОЛ	перекисное окисление липидов
ПОНРП	преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ПТП	посттрансфузионная пурпура
ПЦР	полимеразная цепная реакция
РВ	рептилазное время
РКМФ	растворимые комплексы мономеров фибрина
РНК	рибонуклеиновая кислота
РЭС	ретикуло-эндотелиальная система
СГЯ	синдром гиперстимуляции яичников
СЗП	свежезамороженная плазма
СК	стрептокиназа
СКВ	системная красная волчанка
СМФ	система мононуклеарных фагоцитов
СПКЯ	синдром поликистозных яичников
СПП	синдром потери плода
ССС	сердечно-сосудистая система
ТАТ	комплекс тромбин-антитромбин
ТАФ	тромбоцит-активирующий фактор
ТВ	тромбиновое время
ТГ	тромбоглобулин
ТГВ	тромбоз глубоких вен
ТИА	транзиторные ишемические атаки
ТИЛ	тромбозы, индуцированные лекарственными средствами

ТМ	тромбомодулин
Тма	% максимальной агрегации в смеси плазм донора и больного
Тм	% максимальной агрегации в плазме донора
ТМА	тромботическая микроангиопатия
ТТП	тромботическая тромбоцитопеническая пурпура
ТФ (TF)	тканевой фактор
ТЭГ	тромбоэластограмма
ТЭЛА	тромбоэмболия легочной артерии
ФВ	фактор Виллебранда
ФИ	фосфатидилинозитол
ФЛ	фосфолипиды
ФН	фибронектин
ФС	фосфатидилсерин
ФХ	фосфатидилхолин
ФЭ	фосфатидилэтаноламин
ХГЧ	хорионический гонадотропин человека
ХПН	хроническая почечная недостаточность
ц-АМФ	циклический аденозинмонофосфат
ЦВД	центральное венозное давление
ЦМВ	цитомегаловирус
ЦОГ	циклооксигеназа
ЧСС	частота сердечных сокращений
ЧТКА	чрескожная транслюминальная ангиопластика
ЭКГ	электрокардиограмма
ЭК (EC)	эндотелиальные клетки
ЭОВ	эмболия околоплодными водами
Эхо-КГ	эхокардиограмма
ЯМР	ядерно-магнитный резонанс
АСЕ	ангиотензинпревращающий фермент
AdoMet (SAM)	S-аденозилметионин
АРС	активированный протеин С
АРС-R	резистентность к АРС
α 1-PI	α 1-ингибитор протеиназ
α 2-AP	α 2-антиплазмин
α 2-M	α 2-макроглобулин
β 2 GPI	β 2 гликопротеин I
ВНМТ	бетаин-гомоцистеинметилтрансфераза (метионин-синтетаза)
ВК	брадикинин
C4bp	C4-связывающий протеин
CBS	цистатионин- β -синтетаза
C1INH	C1-ингибитор эстеразы

COX-1	циклооксигеназа 1
COX-2	циклооксигеназа 2
DAG	диацилглицерол
DDAVP	десмопрессин
dPT	тромбопластиновое время с разведенным тромбопластином
dRVVT	время с разведенным ядом гадюки Рассела
EC	эндотелиоциты
EDRF	эндотелиальный релаксирующий фактор
EE	этинилэстрадиол
EGF (ЭФР)	эпидермальный фактор роста
EPCR	эндотелиальный рецептор протеина C
EPK	эктопротеинкиназа
EPR-1	протеазный эффектор-1 эффекторных клеток
ET	эндотелин
F1+2	фрагменты 1+2 протромбина
FPA	фибринопептид А
FPB	фибринопептид В
FVi	инактивированный фактор V
GAG	гликозаминогликаны
HC II	кофактор гепарина II
HIPA	гепарин-индуцированная агрегация тромбоцитов
HNF	печеночный ядерный фактор
HS	гепаран-сульфат
ICAM 1,2	молекулы интрацеллюлярной адгезии 1,2
Ig	иммуноглобулин
IGF	инсулиноподобный фактор роста
IL-1	интерлейкин-1
INR (МНО)	международное нормализованное отношение
IP3	инозитол-трифосфат
LAD	дефицит лейкоцитарной адгезии
Lpa (Лпа)	липопротеин А
LRP	рецептор ЛНП
ma	максимальная амплитуда тромбоэластограммы
MAC	мембран-атакующий комплекс
MTHFR	метилентетрагидрофолатредуктаза
NOS	NO-синтетаза
PAF (ФАТ)	фактор активации тромбоцитов
PAI-1	ингибитор активатора плазминогена-1
PAP	комплекс плазмин-антиплазмин
PC	протеин C
PCI	ингибитор протеина C

PDGEF	тромбоцитарный фактор роста эндотелия
PDGF	тромбоцитарный фактор роста
PECAM-1	молекула адгезии тромбоцитов и эндотелиоцитов 1
PF4	пластиночный фактор 4
PGI 2	простаглицлин
PIG-A	фосфатидилинозитолгликан класса А
PIP2	фосфатидилинозитол 4,5-бифосфат
PIVKA	протеины, индуцируемые антагонистами витамина К
PKC	протеин-киназа С
PLC	фосфолипаза С
POF	пентоксифилин
PS	протеин S
PSGL	L-селектин
PZ	протеин Z
PZI	PZ-зависимый ингибитор протеаз
PT (ПВ)	протромбиновое время
RSA	привычный выкидыш
SCR1	растворимый рецептор комплемента типа 1
SEK	серпин-энзимные комплексы
SK	стрептокиназа
SIRS (CCBO)	синдром системного воспалительного ответа
SPS	синдром липких тромбоцитов
SRA	реакция высвобождения серотонина
TAFI	активируемый тромбином ингибитор фибринолиза
TG	триглицериды
THF	тетрагидрофолат
TNF-a	тумор-некротический фактор а
TFPI	ингибитор внешнего пути свертывания
TR	тромбиновый рецептор
TRAP-TR	активирующий пептид
TxA2	тромбоксан А2
t-PA (ТПА)	тканевой активатор плазминогена
u-PA	активатор плазминогена урокиназного типа
VEGF	сосудистый эндотелиальный фактор роста
Vimp	фактор V, инактивированный плазмином
vWF (ФВ)	фактор Виллебранда

Предисловие

Мне посчастливилось быть у истоков становления и развития клинической гемостазиологии в акушерстве в нашей стране; и пройденный до настоящего времени путь был тернистым. Во многом это было связано с ломкой старых представлений, а часто и догм в понимании осложнений в акушерстве и гинекологии.

Я с глубочайшей благодарностью вспоминаю моих учителей, которые еще в начале 70-х гг. прошлого столетия поддержали мой научный интерес к проблемам тромбоза и гемостаза в клинической и акушерско-гинекологической практике. Особо хотел бы отметить академика РАМН, профессора Михаила Ильича Кузина и академика РАМН, профессора Владимира Николаевича Серова; научные контакты и творческая дружба с ними сыграли большую роль в моем становлении и позволяли не раз преодолевать трудности и преграды, встречаемые в клинической практике. Я безмерно благодарен члену-корреспонденту РАМН, профессору Зиновию Соломоновичу Баркагану - одному из авторитетнейших специалистов мира в области клинической гемостазиологии, постоянное общение с которым стало ценнейшей школой для меня.

Древнее библейское изречение гласит, что многому можно научиться у своих наставников, еще большему – у своих товарищей, но более всего – у своих учеников. Большинство моих учеников, так же как и я, выпускники Московской медицинской академии им. И.С. Сеченова. Без их таланта, трудолюбия и энтузиазма немыслимо было бы успешно совместно осваивать бурно развивающийся, особенно с конца XX века, процесс внедрения новых знаний в акушерско-гинекологическую и общеклиническую практику. Приношу всем своим ученикам и последователям искреннюю признательность и желаю им творческих успехов.

Профессор
А.Д. Макацария

*Наука всегда оказывается не права.
Она не в состоянии решить ни одного вопроса,
не поставив при этом десятка новых.*
Джордж Бернارد Шоу

Введение

Открытие в конце XX века (1987 г.) антифосфолипидного синдрома (АФС) и целого ряда ранее неизвестных, но наиболее распространенных форм генетических дефектов системы гемостаза, предрасполагающих к разнообразным тромботическим осложнениям (фактор V мутация Лейден, мутация протромбина, мутация метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), полиморфизм гена активатора плазминогена (PAI-1), полиморфизм тромбоцитарных рецепторов (1993-2000 гг.), как основных причин приобретенной и генетической тромбофилий, позволило значительно углубить наши представления о патогенезе множества заболеваний и в общеклинической, и в акушерской практике.

Если суммировать прямо связанные с тромбозами фатальные исходы при самых разнообразных заболеваниях в клинической практике, то станет очевидным, что тромбозы являются главной причиной смерти населения Земли. На протяжении многих лет тромбозы и тромбоземболии рассматривались как непредотвратимые осложнения. С внедрением в клиническую практику новых технологий по выявлению антифосфолипидных антител (АФА) и генетических тромбофилий, нарушающих функционирование защитных механизмов против тромбоза – естественных антикоагулянтов, эндотелия, системы фибринолиза, появилась возможность своевременной диагностики и профилактики тромбозов и тромботических осложнений.

В акушерской практике тесты, свидетельствующие о наличии тромбофилии, стали одновременно молекулярными маркерами высокого риска синдрома потери плода, гестоза, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, а также высокого риска сердечно-сосудистых и цереброваскулярных осложнений при назначении гормональных контрацептивов и препаратов для гормональной заместительной терапии.

В свете вышеизложенного исключительное значение приобретает противотромботическая профилактика и терапия. Однако ее эффективность и безопасность во многом зависит от современных представлений о патогенезе развития тромбофилии и тромбозов, а также знания фармакологии противотромботических препаратов. Без этого невозможно обеспечить подбор адекватной дозы препарата, оценить эффективность профилактики и лечения, предотвратить в ряде случаев крайне опасные для жизни геморрагические или тромботические осложнения противотромботической терапии.

Исследование акушерских и общеклинических проблем, обусловленных антифосфолипидным синдромом, генетическими формами тромбофилии, а также противотромботическая терапия, являются одним из главных научных направлений нашей кафедры.

Надеемся, что наша монография может быть полезной врачам – акушерам-гинекологам, клиницистам других специальностей, студентам старших курсов медицинских ВУЗов, клиническим ординаторам и аспирантам.

Глава I.

Физиология системы гемостаза и вопросы стратегии противотромботической терапии

Эволюция представлений о свертывании крови

Хотя и Гиппократ, и Аристотель, и Цельс, и Гален были полностью уверены, что свежая кровь превращается в сгусток в течение нескольких минут пребывания вне кровеносного сосуда, никто из них не связывал это явление с гемостазом. Интересно при этом, что они также в деталях описали различные (внешние и внутренние) кровотечения. И только по прошествии двух тысячелетий, около 1720 года, парижский хирург Jean-Leuis Petit высказал мнение, что после ампутации конечностей гемостаз достигается за счет формирования сгустков в кровеносных сосудах. Впервые свертывание крови было отнесено к механизму гемостаза.

В 1828 году Friedrich Hopff отмечал, что хорошо известная в то время семейная геморрагическая тенденция у мужчин связана с выраженной гипокоагуляцией. Таким образом, свертывание крови уже рассматривалось как необходимый процесс, предотвращающий кровотечение.

Хотя в 16-м (Morgagni) и 17-м (Willis) веках уже описывалось образование «сгустков» у животных моделей, тем не менее, считалось, что кровь сворачивается только после того, как вытекает из кровеносных сосудов.

После того, как стало известно, что аномалии свертывания крови связаны с проблемами кровотечений и тромбозов, началось интенсивное изучение свертывания крови.

Пониманию процесса свертывания крови в большой степени способствовали исследования Мальпиги, который еще в середине 17-го века выделял из сгустка, состоящего из клеток крови и сыворотки, волокна и изучал их морфологические характеристики под микроскопом.

Более чем столетие спустя William Hewson, британский хирург, который имел множество наблюдений о функционировании крови и лимфы, продемонстрировал, что волокна, обнаруживаемые в составе сгустка Мальпиги, являются производными фракции крови, которую в настоящее время называют «плазмой».

William Hewson и John Hunter были одними из первых, кто разработал методы для изучения процесса свертывания крови.

Рудольф Вирхов подробно описал тромбы, в основном нижних конечностей и их тенденцию к эмболизации. Были открыты тромбоциты, их функции изучались Bizzozzero, Hayem, Eberth и Schlimmelbusch.

В 1836 году Андрей Буханан сообщил, что свертывающий потенциал развивается в сыворотке крови тот час после образования сгустка. Хотя это открытие некоторое время игнорировалось, этот феномен был заново открыт «отцом» гематологии — Александром Шмидтом — представителем следующего поколения. Именно Александр Шмидт выдвинул концепцию о биохимической основе процесса свертывания крови. Компоненты процесса свертывания в дальнейшем были открыты и изучались: фибриноген — Olof Hammarsten, протромбин —

Cornelius Pекelhering, кальций — Mauris Arthus. Эти исследования стали в дальнейшем основой «классической» теории свертывания, сформулированной наилучшим образом Моравитцем в 1905 году.

В течение почти 40 лет XX столетия велись споры относительно выдвинутой концепции свертывания крови: было много как сторонников, так и противников теории. Разворачивались споры вокруг открытых к тому времени факторов свертывания — фибриногена, протромбина, тромбопластина и кальция — равно как и над тем, является ли тромбин ферментом по своей природе. Несмотря на то, что уже были открыты гепарин, витамин К и дикумарол, концепция свертывания крови все еще не была окончательно принята.

Хотя уже был открыт витамин К, в качестве основных рассматривались два типа кровотечения: в отсутствие тромбоцитопении геморрагическая тенденция обозначалась как «гемофилия» (точнее «геморрафилия»), если же геморрагия была неясного генеза, то — «псевдогемофилия».

Новая эра в развитии учения о свертывании крови началась с 1940 года, когда Paul Owren показал, что геморрагический диатез у молодых женщин не может быть объяснен существовавшей ранее теорией «гемофилии», «тромбоцитопении» и «псевдогемофилии». Он отмечал, что геморрагическая тенденция у женщин связана с дефицитом нового — пятого коагуляционного фактора в плазме.

Это открытие решило спор между двумя «конфликтующими» исследовательскими группами — Армана Квика и представителями школы Айовы (Harry P. Smith, Walter Seegers, Emory D. Warner, Kenneth M. Brinkhous). Новый фактор, который был предложен Owren, а ныне известен как фактор V, стал недостающим звеном в классической теории свертывания и толчком к открытию фактора, предшествующему пятому фактору — фактору VII.

Открытый Owren фактор, Квик определил как «лабильный фактор», а Smith — как «компенсаторный фактор».

Фактор VII был открыт Owen как «стабильный протромбин-превращающий фактор» в 1947 году и дополнил «лабильный фактор» Квика. При назначении дикумарола отмечалась депрессия фактора VII. Однако «официально» фактор VII был признан, лишь когда группа исследователей под руководством Бенжамина Александра выявила первого пациента с дефицитом «стабильного протромбин-превращающего фактора».

И только в 1957 году Cecil Hongie и сотрудники показали, что «фактор VII» представлен двумя сходными протеинами, один из которых в дальнейшем получил название «фактора X».

В то же время было обнаружено, что термин «гемофилия» объединяет, по меньшей мере, 2 заболевания. В 1947 году Alfredo Pavlovsky сообщил, что при смешивании крови двух пациентов с гемофилией удлиненное изначально время свертывания крови, характерное для обоих образцов, корректируется (укорачивается). Это дало основание утверждать, что фактор свертывания, недостающий у одного пациента, присутствует в крови у другого. Фактор, отсутствующий (или присутствующий в недостаточном количестве) у пациентов с традиционной гемофилией получил название VIII фактора, а открытый новый фактор был идентифицирован как фактор IX. Дефицит фактора IX часто называют также «болезнью Кристмасса», поскольку впервые дефицит этого фактора был выявлен у ребенка с фамилией Кристмасс.

Открытие Робертом Розенталем в 1953 году другого аутосомного дефицита с повышенной склонностью к геморрагиям стало поистине новой эрой в развитии гемостазиологии. Дефицит фактора, который ныне называется XI фактором свертывания, как у женщин, так и у мужчин был причиной состояния, схожего по клинике с гемофилией. Характерной особенностью у пациентов с дефицитом фактора XI, в отличие от пациентов с классической гемофилией (дефицитом факторов VIII или IX) было наличие удлиненного АЧТВ и нормальных значений

протромбинового времени. Таким образом, был открыт другой фактор, необходимый для развития полной тромбопластиновой активности. В связи с этим обстоятельством фактор XI изначально был назван как «плазменный предшественник тромбопластина».

Открытие фактора XI еще больше «осложнило» концепцию свертывания крови, которая далека от окончательного представления и по сей день, хотя, безусловно, по сравнению с серединой двадцатого века, благодаря открытиям в области биохимии, концепция свертывания крови значительно расширилась и усложнилась.

Таким образом, под «гемофилией» стали понимать три разных дефекта: гемофилия А (классическая гемофилия, дефицит фактора VIII), гемофилия В (дефицит фактора IX) и гемофилия С (дефицит фактора XI). Однако оставался вопрос, почему пациенты с гемофилией С имеют тенденцию к «мягким» формам геморрагического диатеза, который часто проявляется только после травмы или при хирургических процедурах?

Эта загадка имела свое продолжение. В 1955 году Oscar Ratnoff открыл «гемофилию», не связанную с дефицитом факторов VIII, IX или XI. Более того, пациенты с лабораторными «атрибутами» гемофилии не обладали повышенной склонностью к геморрагиям, а пациент с фамилией Хагеман с дефицитом этого фактора умер от тромбоэмболии легочной артерии. Открытый Оскаром Ратноффом фактор получил название фактора XII или, иначе, фактора Хагемана.

Вскоре у нескольких пациентов — членов семьи Fletcher, также был обнаружен дефект, характеризующийся лабораторными «атрибутами» гемофилии и отсутствием геморрагической тенденции. Этот фактор не получил цифровой нумерации и был назван фактором Флетчера или, согласно его официальным характеристикам — «прекаллекреином».

Позже были открыты другие негеморрагические «гемофилии». Изначально идентифицированный как «кофактор контактной активации» в 1960 году Сандрой Шифман и соавт., в последующем вновь обнаруженный в ряде семей дефицит фактора обозначили как дефицит «высокомолекулярного кининогена». Притом, что «нетромбоцитопенические» кровотечения, обусловленные дефицитом факторов V, VII, X, фибриногена и протромбина встречались как у женщин, так и у мужчин практически с одинаковой частотой, оставался нерешенным вопросом: почему у некоторых женщин с геморрагическим диатезом протромбиновое время было нормальным, в то время как значительный дефицит факторов V, VII, X, протромбина или фибриногена удлиняли его. Объяснением этому является наличие одной из форм болезни Виллебранда, природа которой стала ясна только после обнаружения недостаточности VIII фактора; как у мужчин, так и у женщин. При этом выяснилось, что фактор VIII состоит из 2-х молекул, и будет ли заболевание аутосомным или X-сцепленным зависит от «задействованности» одной или другой молекулы фактора VIII. Таким образом, одна часть молекулы отвечает за развитие гемофилии, а другая — болезни Виллебранда.

Ближе к концу XX века был достигнут значительный прогресс и в понимании механизмов процессов фибринолиза и стабилизации фибрина в результате перекрестного связывания под действием фактора XIII.

Поистине новая эра в концепции свертывания крови началась в Детройте (Мичиган) и связана с именем Вальтера Сигерса, устроившего симпозиум по свертыванию крови в Wayne State University. Название обсуждаемой темы было «Биохимические аспекты свертывания крови». На симпозиуме присутствовало большое количество биохимиков. Более того, первый докладчик представил биологическое ревью о механизмах свертывания, в частности весьма смелую теорию коагуляционного каскада или, иначе, теорию «водопада». Согласно этой теории каждый фактор в каскаде активируется и, в свою очередь, активирует последующий фактор (XII, XI, IX, VIII, X, V, II, I). Присутствующая публика буквально взорва-

лас хохотом: как это возможно представить, что свертывание крови — всего лишь комплекс последовательных энзиматических реакций?!

Тем не менее, именно в 1964 году, обсмеянный в свое время Макфарлан предложил принятую в настоящее время теорию непрерывного каскада («водопада») энзиматических реакций, как основную теорию свертывания крови. Как ни странно, эта теория была логическим продолжением теории апологета теории свертывания Поля Моравитца, предложившего комплексную теорию свертывания (с участием четырех факторов свертывания, которые были известны в то время) еще в 1905 году.

Несомненно, заслуга Сигерса состоит в том, что он заострил внимание биохимиков не только на природе известных к тому времени 12-ти факторов свертывания, но и на механизмах свертывания крови.

Хотя большинство биохимиков того времени концентрировались на изучении химии гепарина, дикумарола и витамина К, только единицы серьезно занимались изучением механизмов свертывания, среди них был и сам Вальтер Сигерс.

Следует отметить, что новая эра в развитии теории свертывания крови наступила именно благодаря исследованиям биохимиков. Результатом этих исследований явились современные знания относительно образования протромбиназного комплекса с участием активных факторов V и X, в присутствии ионов кальция и фосфолипидов; а также о механизмах преобразования протромбина в тромбин и фибриногена — в фибрин.

Одновременно изучалась роль более ранних факторов — предшественников протромбина, а также фибринолиз и ингибиторы свертывания, в частности протеин C.

Знания о механизмах свертывания, в свою очередь, позволили разработать лабораторные тесты, имитирующие свертывание крови в организме человека и, соответственно, в ряде случаев диагностировать повышенный риск геморрагий и, в меньшей степени тромбозов (так как к тому времени тесты определения молекулярных маркеров тромбофилии еще не были разработаны). Протромбиновое время и двухэтапное определение протромбина были разработаны в начале XX века, а стали применяться в клинической практике только в 40—70-е годы XX века. Частичное тромбопластиновое время — один из методов исследования — отображающих время свертывания плазмы, было внедрено в клиническую практику только в 50-е годы XX века.

Современная эра развития лабораторных методов исследования системы гемостаза ознаменовалась развитием синтетических субстратов и иммунологических техник измерения уровня факторов свертывания в плазме, а также внедрением генетических методов исследования.

Что же получили пациенты в результате всех этих научных и, казалось бы, далеких от практики, изысканий?

Открытие гепарина и дикумарола позволило у большинства пациентов как предотвратить тромботические осложнения, так и успешно использовать их в процессе терапии тромбозов.

Открытие витамина К позволило успешно купировать геморрагические осложнения у новорожденных и при кровоточивости в условиях обструкции билиарного тракта, обусловленного дефицитом витамина К.

Более того, большим шагом вперед было внедрение концентратов факторов плазмы для восполнения дефицита у пациентов, прежде всего, с гемофилией. Впервые Judith Pool предложил переливание «криопреципитата» в 1959 году вместо свежезамороженной плазмы. Безусловно, при дефиците других факторов свертывания по-прежнему единственным эффективным лечением оставалось переливание свежезамороженной плазмы.

Концентраты факторов IX, VII, X, протромбин хотя применяются, тем не менее, ассоциируются с риском заражения вирусными гепатитами и ВИЧ. То же

относится и к концентрату фактора VIII, который готовится также из пула плазмы большого количества доноров.

Большая степень «очистки» факторов, а также внедрение «рекомбинантных» факторов может решить проблему ятрогенных осложнений.

Несмотря на то, что в последние годы были открыты новые факторы коагуляционного каскада, базовая теория «непрерывного каскада энзиматических реакций» свертывания крови при этом не «пострадала». Возможно, это явление аналогично великому открытию периодического закона и таблицы Менделеева, когда через много лет после смерти Менделеева были открыты новые химические элементы, занявшие «пустующие» места в таблице. По-видимому, гениальность этих теорий заключается в их универсальности. Поэтому открытие новых факторов и более тонких механизмов регуляции свертывания крови в последние годы не опровергают относительно «старую» теорию каскадного свертывания крови.

Физиология системы свертывания крови

Одной из уникальных и высоко отрегулированных биологических систем является система гемостаза человека, которая позволяет крови оставаться в жидком состоянии в физиологических условиях и моментально реагирует на повреждение сосудистой стенки образованием сгустка. Тромбоз возникает лишь в случае постоянного присутствия тромбогенного стимула и связанного с ним истощения запасов естественных антикоагулянтов.

Неповрежденный сосудистый эндотелий сохраняет жидкое состояние крови путем ингибирования коагуляции и агрегации тромбоцитов, способствуя одновременно фибринолизу. Кроме того, сосудистый эндотелий является разделительной поверхностью между клетками крови и плазменными факторами с одной стороны и высокорезактивными элементами более глубоких слоев сосудистой стенки с другой.

В последние годы благодаря развитию молекулярной биологии, генетики, биохимии и смежных наук, были достигнуты значительные успехи в понимании тонких механизмов регуляции системы гемостаза.

Последующие исследования системы гемостаза позволили выявить существование различных звеньев системы гемостаза и некоторые закономерности их функционирования.

Под системой гемостаза на сегодняшний день понимают многокомпонентный комплекс, являющийся важнейшей частью гомеостаза, и представленный сложным взаимодействием прокоагулянтного, тромбоцитарного, фибринолитического звеньев, а также ингибиторами свертывания крови и фибринолиза. Эта сложная биологическая система обеспечивает, с одной стороны, сохранение жидкого состояния крови, а с другой стороны — предупреждение и остановку кровотечений.

Традиционно в системе гемостаза выделяют: 1) прокоагулянтное звено, включающее внутренний и внешний пути свертывания крови, естественные ингибиторы свертывания крови; 2) тромбоцитарно-сосудистое звено, представленное тромбоцитами, эндотелием, а также их взаимодействием, включая гемодинамические эффекты; 3) фибринолитическое звено и ингибиторы фибринолиза.

Однако в последние десятилетия лет знания о тонких механизмах поддержания гемостатического баланса были существенно обогащены благодаря успехам биохимии, биофизики, молекулярной генетики и возможности создания экспериментальных моделей с использованием математического моделирования.

Математические модели разрабатываются для воссоздания и описания прокоагулянтных реакций коагуляционной системы. Эти модели базируются на термодинамических, стехиометрических и каталитических параметрах прокоагулянтных-антикоагулянтных реакций, полученных в результате экспериментальных из-

мерений. Математические модели удобны для описания количественного и качественного выражения реакций генерации тромбина. Эти модели используются для решения таких вопросов как роль FV/FVa, FVIII, FIX, FXI в этих реакциях, а также для определения количества FVIIa, необходимого для эффективной компенсации дефицитов FVIII или FIX. Компьютерные модели подтвердили, что FVIIa будет эффективен в преодолении дефицита FVIII или FIX в концентрациях 5—10 нМ. Таким образом, математическое моделирование позволило найти новый подход в терапии гемофилии А и при наличии ингибиторов факторов коагуляции эмпирическим применением рекомбинантного FVIIa.

В 1835 г. шотландский физиолог Буханан сравнил процесс свертывания крови со скисанием молока. Это было первое предположение, что процесс свертывания крови является энзиматическим процессом.

Последующие исследования, включая выделение протеинов в чистом виде, подтвердили гипотезу Буханана. За исключением FXIII, каждый из факторов является сывороточной (сериновой) протеазой. Это большая группа, включающая в себя трипсин, химо tripsин, плазмин. Эти протеазы действуют путем отщепления (кливажа) пептидной цепочки от специфического белка — субстрата. Обычно это сопровождается высвобождением короткой пептидной цепочки.

Биохимическая эра исследования коагуляции крови началась лишь в конце 19 века. Первыми работами были труды А.С. Шмидта и Р. Моравитца, которые выдвинули гипотезу о том, что фундаментальными реакциями свертывания крови являются превращение протромбина в тромбин через тромбопластин и конверсия фибриногена в фибрин через тромбин. В первой половине 20 века исследования коагуляции крови, которые принципиально фокусировались на прокоагулянтных компонентах, расширились за счет успехов в области патологии человека и лабораторных исследований. Этому способствовало 2 фактора: а) кровь легко получить; б) мать обычно всегда замечает длительное кровотечение у ребенка. Последовательно были изучены геморрагические заболевания: гемофилия А (дефицит F VIII), гемофилия В, болезнь Кристмаса (дефицит F X), дефицит SPCA (ускоритель конверсии сывороточного протеина, дефицит F VII), гемофилия С (дефицит F XI) и парагемофилия (дефицит F V, проакцелерин). Р. Оурен, открывший парагемофилию, назвал компонент, необходимый таким пациентам фактором V, так как это был 5-ый компонент (в дополнение к протромбину, Са, тромбопластину и фибриногену), необходимый для образования тромба. Таким образом, он предвосхитил дальнейшее обозначение факторов римской нумерацией. Работы Смита и Айове, Арланда по клинической патологии, и Квика привели к разработке количественной, лабораторной оценки свертывания крови. Четко был определен тот факт, что кровь свертывается спонтанно даже при получении ее из сосуда со всеми предосторожностями. Исследования этого «внутреннего пути» свертывания привели к открытию частично тромбопластинного времени Лэнгделлом. Этот анализ, применяемый как лабораторный диагностический тест, привел к идентификации дефицита FXII (Хагемана), а также прекалликреина, высокомолекулярного кининогена, потенциально способствующих внутреннему пути свертывания. Однако дефицит их активности не приводил к кровотечению. FXII (трансглутаминаза плазмы) был открыт как предшественник агента, который продуцирует нерастворимый фибриновый тромб. В этих ранних исследованиях был открыт ряд антитромбиновых агентов, включая антитромбин I (фибрин) и антитромбин III. Ингибитор системы тканевого фактора, открытый относительно недавно, и имеющий огромное значение, первоначально был идентифицирован в анализах свертывания *in vitro*. Новые возможности обеспечило открытие гамма-карбоксилирования, что привело, в свою очередь, к открытию протеина С, протеина S и протеина Z. Исследование функций протеина С привело к открытию тромбомодулина и антикоагулянтной роли тромбина в системе активирования протеина С, важной отрицательной обратной связи, динамической регуляции процессов. Однако до сих пор не выяснены функции протеина Z.

В 1964 г. процесс свертывания крови был представлен Mc Farlane, Davie и Ratnoff в виде гипотезы о каскаде-водопаде последовательных протеолитических реакций, приводящих к образованию фибрина. Эта гипотеза является основополагающей на протяжении 36 лет. Сначала был описан один каскад реакций, впоследствии он был расширен до двух путей — внутреннего и внешнего с двумя источниками «тромбопластина», ведущими к образованию тромбина. В системе свертывания активированный субстрат действует как фермент или кофактор, который приводит к активации другого субстрата. Конечным продуктом этих реакций является фибриновый сгусток. Тромбин переводит фибриноген в фибрин. Таким образом, согласно гипотезе Mc Farlane, Davie и Ratnoff коагуляционный процесс представлен серией схожих реакций, где неактивный предшественник-протеин или «зимоген» превращается в «активированный» энзим, который в свою очередь, способствует превращению следующего протеина в энзим и т.д. Превращение зимогенов (проэнзимов) в энзимы (сериновые протеазы) происходит в результате отщепления (кливажа) пептидной цепочки и образования энзима с активным участком. Коагуляционные энзимы являются сериновыми (сывороточными) протеазами гомологичными по своей структуре и основным механизмам действия пищеварительным энзимам трипсину и химотрипсину. Вместе с тем, коагуляционные энзимы по сравнению со своими «родственниками» приобрели целый ряд дополнительных структурных доменов, ответственных за специфические функциональные свойства. Согласно номенклатуре активированные формы обозначаются добавлением буквы «а» к наименованию коагуляционного протеина. Например, фактор Ха является активной формой зимогена фактора Х.

На основании функциональных и структурных характеристик факторы свертывания могут быть сгруппированы следующим образом:

1. сывороточные протеазы — энзимы:
 - а) витамин К — зависимые: II, VII, IX, X.
 - б) система контакта: XI, XII, прекалликреин.
2. Трансамидазы: XIII.
3. Кофакторы:
 - а) плазмы — V, VIII, высокомолекулярный кининоген, фибриноген.
 - б) тканей — тканевой фактор.

Ферменты контактной системы — это молекулы среднего размера ($M_r=80000-160000$), в форме проферментов они синтезируются в печени. Витамин К не нужен для их синтеза, поэтому эти факторы не выделяются адсорбцией хлоридом бария.

Факторы II, VII, IX и X — проферменты с меньшим весом ($M_r=45000-60000$), также синтезируются в печени. Витамин К необходим для трансформации остатков глютаминовой кислоты в остатки гамма-карбоксихлоридной кислоты после завершения синтеза предшественника белка (см. ниже). На окончании каждого витамин-К-зависимого белка имеется 10—12 декарбоксихлоридных аминокислот. Эти аминокислоты связывают Са и белок с фосфолипидами.

При отсутствии этих аминокислот (дефицит витамина К, прием антикоагулянтов) эти ферменты не могут связываться с фосфолипидной поверхностью и участвовать в процессе свертывания.

Фактор XIII — трансамидаза, которая катализирует образование ионвалентных связей между мономерами фибрина. Эти связи усиливают фибриновый сгусток и делают его более устойчивым к действию плазмина.

Этот фактор также синтезируется в виде проэнзима в печени, это крупный белок ($M_r=32\ 000$), для его синтеза витамин К не нужен.

Кофакторы не являются ферментами, но являются белками, ускоряющими взаимодействие между активными ферментами и их субстратами. Кофакторы (за исключением фибриногена) прикрепляются к фосфолипидной поверхности и образуют часть рецепторной единицы для активного фермента и его субстрат.

В присутствии кофактора скорость реакции значительно возрастает (в 1000 — 10000 раз). Плазменные кофакторы — крупные белки (более 200 000). FV и FVIII активируются тромбином и также синтезируются в печени.

Одной из основных особенностей коагуляционной системы является необходимость наличия наряду с коагуляционными протеинами мембранных поверхностей и ионов металлов. Большинство реакций коагуляции происходит в результате образования макромолекулярных комплексов, состоящих из энзимов, субстратов и кофакторных протеинов на анионной фосфолипидной поверхности. Хотя природа этих прокоагулянтных поверхностей еще не совсем ясна, присутствие отрицательно заряженных фосфолипидов, в первую очередь, фосфатидилсерина, является необходимым для осуществления реакций коагуляции; хотя мембранные рецепторы также, вероятно, играют при этом важную роль.

Прокоагулянтные поверхности, которые в нормальных условиях сосредоточены на внутренней поверхности плазматической мембраны тромбоцитов и других клеток, экспонируются на поверхности клеток при их стимуляции агонистами и другими субстанциями.

Как уже указывалось, для образования макромолекулярных комплексов на поверхностях также необходимы бивалентные катионы, которые связывают специфические участки коагуляционных протеинов, ответственных в одних случаях за связывание с анионными фосфолипидными мембранами, в других — за стабилизацию протеина. Хотя в основном таким ионом является кальций (Ca^{2+}), другие бивалентные ионы, такие как Zn^{2+} , Mg^{2+} , также могут быть вовлечены в реакции коагуляции.

Второй важной особенностью коагуляционной системы является высокая скорость ответа и, соответственно, скорость реакции: продуктами каждой реакции являются ферменты, которые в свою очередь, катализируют следующие реакции каскада. Кроме того, широко распространенный механизм положительной обратной связи способствует ускорению реакций начальных этапов свертывания. Например, фактор Ха и тромбин значительно повышают активность факторов V и VIII, двух важнейших белков-кофакторов. Более того, тромбин, являясь клеточным агонистом, стимулирует тромбоциты и эндотелиальные клетки, что ведет к экспозиции отрицательно заряженных фосфолипидных поверхностей, которые поддерживают реакции свертывания. Тем самым постоянно поддерживается базальный уровень циркулирующих коагуляционных энзимов, что обеспечивает постоянную готовность системы к внезапному стремительному старту «в экстремальной ситуации». Таким образом, все эти механизмы обуславливают чрезвычайную быстроту и «взрывную» природу коагуляционного ответа.

Третьей важной особенностью свертывающей системы является ограниченность ответа в отношении локальности его и продолжительности. Так, образование сгустка ограничено участком повреждения и не распространяется дальше, чем это необходимо для стабилизации и репарации повреждения в циркуляторной системе.

Коагуляционный ответ ограничен также и по времени: насколько быстро он включается, и быстро происходят реакции, настолько быстро достигается конечная цель — процесс репарации, после чего уровень циркулирующих энзимов и скорость реакций возвращаются к базальным.

Четвертой важной особенностью системы коагуляции является ее интегрированность с другими защитными системами крови. Начальная адгезия тромбоцитов в участке повреждения и агрегация их с образованием тромбоцитарной пробки образуют первую линию защиты против кровотечения. Тем не менее, этот первичный ответ является недостаточным, так как если тромбоцитарный сгусток не укрепляется фибриновым, он довольно легко может оторваться под действием тока крови и кровотечение может возобновиться.

Система коагуляции тесно связана и с воспалительным ответом. Так, сепсис, реакции отторжения трансплантата характеризуются активацией коагуляции и повышенным образованием фибрина. Кроме того, для системы коагуляции и воспалительного процесса существуют общие стимулирующие сигналы. Два из основных цитокиновых медиаторов воспаления интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) и тумор-некротический фактор- α (TNF- α) обладают прокоагулянтным эффектом *in vivo*, вызывают экспрессию тканевого фактора (TF) и снижают уровень антикоагулянта тромбомодулина на поверхности клеток *in vitro*. С другой стороны, активированный протеин С — естественный антикоагулянт, активируемый тромбином, является важным модулятором снижения коагулянтного ответа, и, кроме того, обладает противовоспалительными свойствами.

Активация контактной фазы коагуляции также активирует систему комплемента, противостоящую интервенции чужеродных организмов.

Таким образом, система коагуляции, воспалительный процесс и система комплемента взаимодействуют и интегрируются в противостоянии инфекции и обеспечения стабильности гемостаза.

Учитывая вышеизложенное, систему коагуляции можно определить как комплекс порогово-зависимых, высоко отрегулированных физических, клеточных и биохимических процессов, обеспечивающих гемостаз.

Субпроцессы коагуляционного каскада (фаза инициации, расширения (распространения), терминальная, элиминации (выключения, репарации) иллюстрируют сложную «хореографию», вовлеченную в поддержание (сохранение) целостности сосудистой стенки (см. ниже).

Изучение механизмов свертывания крови и патогенеза тромбообразования стало базисом для разработки противотромботических препаратов. При этом следует отметить, что чем более тонкие механизмы функционирования системы гемостаза становятся известны, тем успешнее продвигается создание новых более эффективных противотромботических препаратов. Конечно, идеальным было бы создание препарата(ов), которые бы ингибировали только нарушенный гемостаз и не влияли бы на нормальный. То есть такие препараты должны обладать хорошим клиническим эффектом без больших местных побочных эффектов, в частности, кровотечений. И хотя идеальный препарат еще не получен, уже созданы новые противотромботические лекарственные средства, намного превосходящие «старые».

В основном противотромботические препараты классифицируются в зависимости от механизма действия. Антитромбоцитарные препараты подавляют функцию тромбоцитов, тогда как антикоагулянты способствуют либо уменьшению образования тромбина, либо ингибируют эффекты тромбина после его формирования. Таковы в общих чертах основные механизмы действия противотромботических препаратов.

Коагуляционный каскад

Инициация

Инициация прокоагулянтного ответа развивается при нарушении взаимоотношений между сосудистым эндотелием, циркулирующими клетками крови и нормальной антитромбогенной природой сосудистой системы в результате механического повреждения, воздействия воспалительных стимулов и пр. При повреждении сосудистой стенки происходит экспозиция субэндотелиальных тканевых элементов, где начинают аккумулироваться клетки периферической крови и, в первую очередь, тромбоциты. В результате процессов экспозиции и аккумуляции появляются рецепторы и мембранные поверхности, которые обеспечивают связывание циркулирующих прокоагулянтных протеинов. Таким образом, фаза инициации обеспечивает основу, своеобразную «матрицу» для последующих этапов коагуляции.

Фаза расширения

Фаза расширения коагуляции складывается из активности прокоагулянтных энзиматических комплексов, сосредоточенных на участках, составленных субэндотелиальным матриксом и клетками периферической крови. Этот ассоциированный на поверхности мультикомпонентный комплекс представлен сериновыми протеазами, неэнзиматическими кофакторами протеинов, ионами кальция (Ca^{2+}) и компонентами клеточных мембран.

Различают два самостоятельных пути свертывания крови, которые соответственно происходят из внутреннего или внешнего иницирующего комплексов (рис. 1).

На определенном этапе оба пути объединяются в общий путь, ведущий к образованию α -тромбина. Внутренний путь, или путь контактной активации, составляя большинство протеинов плазмы, активирующихся при контакте с отрицательно заряженными поверхностями. Дефицит протеинов, связанный с инициацией внутреннего пути (прекалликреин, высокомолекулярный кининоген (ВМК) и фактор XII) не вызывает тенденцию к кровоточивости. В то же время дефицит протеинов внешнего и общего путей свертывания (протромбин и факторы V, VIII, VII, IX и X) может проявляться серьезным геморрагическим диатезом.

Физиологическая роль инициального комплекса системы контактной активации в контроле геморрагий до сих пор не ясна, хотя известно, что фактор XI играет важную роль в гемостатическом ответе: у индивидуумов с дефицитом FXI имеют место эпизоды кровотечения, связанные с хирургическим вмешательством. Возможно, роль FXI в гемостазе определяется не активацией его XII фактором во внутреннем пути свертывания: FXI может быть активирован α -тромбином по принципу положительной обратной связи при генерации тромбина. FXIa может тем самым играть роль в дальнейшем (ауто) расширении образования тромбина.

Внешний путь (путь тканевого фактора) свертывания запускается при взаимодействии плазменного FVII с тканевым фактором TF. Тканевой фактор является интегральным мембранным протеином, который «механически» появляется при остром повреждении сосуда. В норме TF не экспрессирован на поверхности сосудистого эндотелия, однако, он представлен на поверхности экстравааскулярных клеток и при повреждении эндотелиальных клеток попадает в кровоток. Помимо этого TF может появляться на эндотелиальных клетках и клетках периферической крови под действием воспалительных цитокинов. В крови циркулирует незначительное количество FVIIa, который может связываться с TF после его экспрессии и иницировать процесс коагуляции. Свободный FVIIa не проявляет сколько-нибудь заметной энзиматической активности и не инактивируется циркулирующими ингибиторами в отсутствие комплекса FVIIa-TF. В то же время комплекс FVIIa-TF может дополнительно активировать в небольшом количестве FVII, однако наиболее вероятно, промотором активации FVII является α -тромбин или FX-фосфолипидный комплекс. Фактор X, связанный с фосфолипидами (без фактора Va, который является его кофактором в протромбиназном комплексе) в 24 раза больше активировывает FVII, чем комплекс FVIIa-TF. α -тромбин менее активный, но количественно превосходящий активатор. Таким образом, усиление начальных этапов коагуляции через формирование комплексов TF-FVIIa, вероятно, в большой степени зависит от FXa и α -тромбина. Протеазы, необходимые для нормальной коагуляции крови, через внешний путь проявляют свою функцию в качестве компонентов мембран-зависимых энзимных комплексов.

В системе гемостаза различают 3 прокоагулянтных энзимных комплекса (протромбиназа, внутренняя теназа и внешняя теназа) и 1 антикоагулянтный комплекс (протеин С-аза) (рис. 1). Протромбиназа и внутренняя теназа содержат гомологи плазменных кофакторов, в то время как внешняя теназа и протеин С-аза содержат кофакторные протеины, имеющие клеточное и тканевое происхождение. Ви-

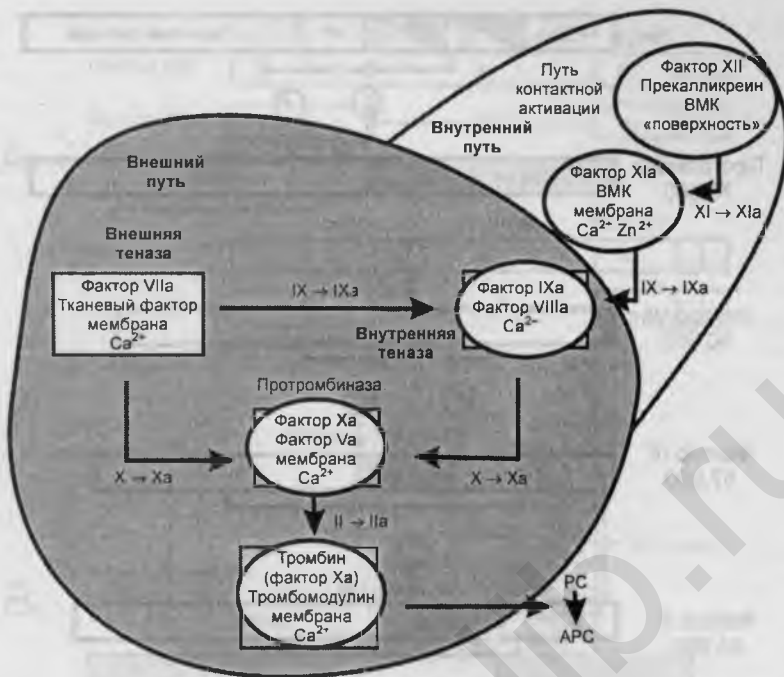


Рис. 1. Энзиматический комплекс коагуляционного каскада.

тамин-К-зависимые зимогены (протромбин, протеин С, факторы VII, IX, X) характеризуются наличием NH₂-концевого отдела молекулы Gla-домена, содержащего 10—12 карбоксиглутаматных остатков (рис. 2). γ -карбоксилирование глутаматных остатков является посттрансляционной модификацией этих протеинов под действием витамин К-зависимых карбоксилаз. γ -карбоксиглутаматы или Gla-остатки играют ключевую роль в модуляции трехмерной структуры этих протеинов и в связывании сериновых протеаз и зимогенов с мембранной поверхностью. Прокофакторы дериваты плазмы, фактор V и фактор VIII, синтезируются в виде одноцепочных гомологичных друг другу молекул. Участки тяжелой цепи (A1 и A2 домены) и участки легкой цепи (A3, C1, C2 домены) кофакторных молекул связываются через Ca²⁺-зависимый механизм (рис. 3). A1 и A2 домены остаются ковалентно связанными в факторе Va. Напротив, при активации фактора VIII необходим дополнительный кливаж между A1 и A2 доменами. Хотя 2-цепочечный фактор Va стабилен, 3-цепочечный фактор VIIIa спонтанно дезорганизуется с освобождением A2 домена. Кофакторы при условии наличия клеточных мембран концентрируются в экстрацеллюлярных, цитоплазматических и трансмембранных пространствах.

Основным результатом фазы расширения коагуляции является активация протромбина посредством активности мембран-зависимых энзимных комплексов, что ведет к активации α -тромбина. α -тромбин, участвуя в круговороте, активирует циркулирующие тромбоциты в дополнение к клеточной аккумуляции в области сосудистого повреждения, активацию и превращение растворимого фибриногена в нерастворимый фибриновый матрикс. Таким образом, по механизму положительной обратной связи, α -тромбин участвует в активации протеиновых компонентов коагуляционного каскада. α -тромбин активирует прокофакторы, FV и FVIII, и зимогены, факторы VII и XI. Помимо этого, α -тромбин также активирует FXIII (фибрин — стабилизирующий фактор) в фактор FXIIIa, энзим транслугаминазу, стабилизирующий фибриновый сгусток, с образова-

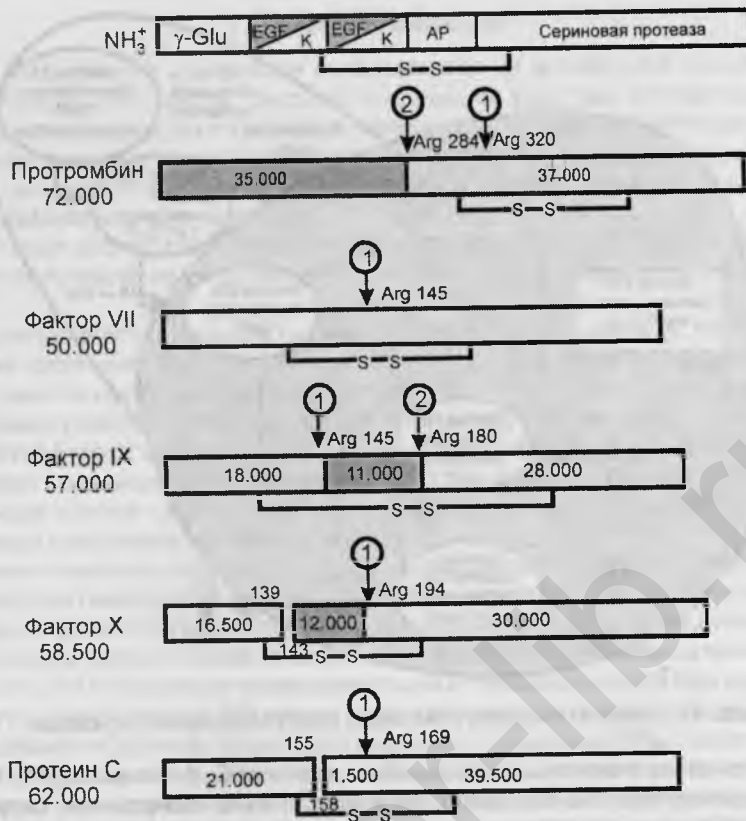


Рис. 2. Структура витамин К-зависимых протеинов.

NH_2 -концевая часть витамин К-зависимых сериновых протеаз содержит γ -карбоксиглутаматные γ -Glu остатки и домен, содержащий структуры, подобные эпидермальному фактору роста (EGF) в факторах VII, IX, X и протеине С или так называемые, «kringle»-структуры в протромбине.

Изображены активационный пептид (AP), который впоследствии подвергается кливажу при активации зимогена, и домен сериновой протеазы, содержащий активный участок. Также представлена структура отдельных витамин К-зависимых зимогенов. Указаны участки кливажа при активации зимогена.

нием фибринового матрикса. В свою очередь, фибрин является субстратом FXIIIa, ускоряет его образование под действием α -тромбина. Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза (TAFI), известный также как карбоксипептидаза U или карбоксипептидаза В, в активной форме TAFIa — защищает фибриновый сгусток от деградации в течение фазы терминации коагуляции.

Таким образом, основным результатом фазы расширения коагуляции является образование стабильного сгустка в области повреждения и предупреждение кровопотери.

Терминация

Завершение (терминация) процесса образования сгустка подразумевает включение ингибиторных процессов. В фазу терминации происходит ингибция протеазных комплексов либо путем прямой ингибиции протеаз, либо через инактивацию кофакторов протеинов. Естественная ингибиторная система представлена, главным образом, циркулирующим ингибитором протеаз AT III (антитром-

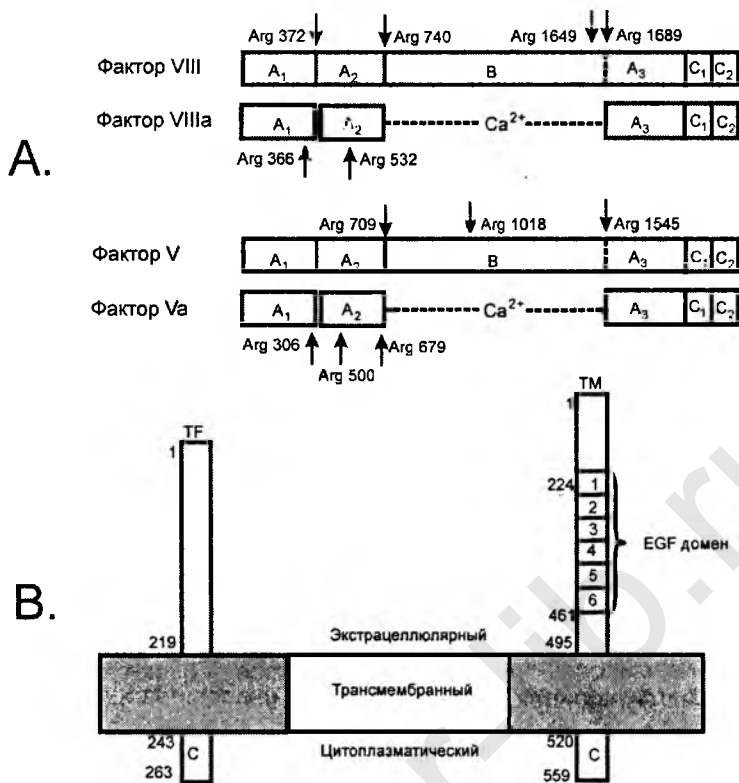


Рис. 3. Структура плазменных и мембран-связанных кофакторов.

A. Циркулирующие прокофакторы, фактор V и фактор VIII активируются α -тромбином. Оба кофакторных протеина содержат три гомологичных А-домена (A₁, A₂, A₃) и два С-домена (C₁ и C₂). В-домен прокофакторных молекул не имеет гомологов. Фактор Va состоит из 2 доменов — участков A₁-A₂ и A₃-C₁-C₂; в то же время фактор VIIIa состоит из трех доменов — участков A₁, A₂ и A₃-C₁-C₂ соответственно. Нековалентное Ca²⁺-опосредованное взаимодействие ответственно за связь между тяжелой (A₁ и A₂) и легкой (A₃, C₁ и C₂) цепями кофакторов.

B. Тканевой фактор (TF) и тромбомодулин (TM) состоят из экстрацеллюлярных доменов, трансмембранных доменов и цитоплазматического участка. TF экспрессируется на различных сосудистых и циркулирующих клетках, в то время как тромбомодулин является преимущественно протеином, ассоциированным с эндотелиальными клетками.

бин III) и ингибитором внешнего пути свертывания (TFPI). AT III циркулирует в плазме в относительно высоких концентрациях (2—3мМ) и ингибирует большинство энзимов прокоагулянтной системы; ему принадлежит важная роль в ингибции α -тромбина и фактора Ха.

Образование комплексов между AT III и энзимами-мишенями повышается в присутствии гепарина почти в 2000 раз. In vivo подобную гепарину функцию выполняет биполимерный протеогликан гепарин-сульфат, связанный с поверхностью эндотелиальных клеток TFPI, который циркулирует в плазме в относительно низких концентрациях, принадлежит к семейству Kunitz энзимов-ингибиторов и обратимо ингибирует свободный фактор Ха, но не обладает значительным ингибиторным эффектом в отношении других сериновых протеаз, циркулирующих в плазме в нормальных концентрациях. Основная функция TFPI — элиминация триггера коагуляции внешней теназы через Ха-зависимый механизм. TFPI ингибирует фактор Ха, нековалентно связываясь с ним. В свою очередь комплекс TFPI-Ха обратимо ингибирует комплекс TF-FVIIa через образо-

вание четвертичного комплекса. Этот четвертичный комплекс может также формироваться непосредственно путем прямого связывания TFPI с третичным комплексом TF-VIIIa-Xa. В обоих случаях TFPI, воздействуя на энзимные продукты внешней теназы, ингибирует комплекс и тем самым блокирует прокоагулянтный триггерный механизм. Система протеина С по принципу регуляции является динамической ингибиторной системой. Активированный протеин С (APC), являясь продуктом комплекса тромбомодулин- α -тромбин (протеин С-аза) (рис. 1), инактивирует протромбиназу и внутреннюю теназу путем инактивации кофакторов этих комплексов — факторов Va и VIIIa. В физиологических условиях инактивация FVIIIa, кроме того, может также происходить через APC-независимый механизм — через диссоциацию A2-домена. Первейшей ролью APC является инактивация FVa и ограничение протромбиназной активности. Степень экспрессии протеинС-азы и APC прямо и парадоксально связана с генерацией конечного продукта коагуляции и протромбиназной активности. Формирование комплекса между α -тромбином и его антикоагулянтным кофактором, тромбомодулином, изменяет реактивность α -тромбина таким образом, что последний уже не может играть прокоагулянтную роль активатора тромбоцитов и кофактора протеинов, а также участвовать в расщеплении фибриногена; комплекс тромбомодулин — α -тромбин в основном способствует образованию APC. Протеин S, витамин К-зависимый протеин, также участвует в ингибиторном пути APC; выступая в качестве кофактора APC. Протеин S содержит Gla-домен, связанный с фосфолипидной мембраной, и расщепляется α -тромбином. Хотя физиологическая важность протеина S не вызывает сомнений, окончательно его биологическая функция еще не ясна.

Хорошо известно, что дефицит протеина С или протеина S ассоциируется с тромботической тенденцией. Недостаточность фазы терминации у пациентов с дефицитом этих протеинов ведет к клинически выраженной патологии. Дефицит обоих протеинов может быть как врожденным, так и приобретенным вследствие начала терапии непрямими антикоагулянтами. Подобным образом при дефиците AT III также имеет место тромботическая тенденция. Хотя в мире не описан ни один случай клинического синдрома, связанного с дефицитом TFPI, на многочисленных моделях, имитирующих систему гемостаза, была доказана чрезвычайная важность его в регуляции коагуляции.

Мутация фактора V в результате замены Arg506 на Gln (фактор V Leiden) также вызывает склонность к тромбозам. Точечная мутация, ведущая к образованию фактора V Leiden, связана с состоянием, получившим название резистентности к активированному протеину С (APC-R). Инактивация FVa активированным протеином С является последовательным мембрано-зависимым процессом. Начальное расщепление (кливаж) фактора Va APC включает промежуточные стадии: последовательный кливаж Arg306 и Arg679 не требует кофакторной активности. У пациентов с FV Leiden мутацией сохраняется кофакторная активность в отношении протромбиназной функции, однако в измененном факторе V Leiden отсутствует Arg506, который необходим для инактивации фактора Va APC путем последовательного его кливажа. Таким образом, фактор Va Leiden инактивируется в значительно меньшей степени, чем нормальный фактор Va. Пролонгация же фактор Va-кофакторной активности и, как следствие, генерации α -тромбина через протромбиназный комплекс, повышает склонность к образованию сгустка и соответственно риск венозных тромбозов, которыми и манифестирует фактор V Leiden мутация.

Фаза терминации свертывания крови является критической в регуляции формирования сгустка. Ограничение образования сгустка необходимо для предотвращения нежелательных тромботических проявлений в результате системного и/или чрезмерного формирования сгустка. В клинике это проявляется в форме тромботических расстройств у пациентов с дефицитом ингибиторных путей.

Фаза элиминации

Элиминация, или «уничтожение», сгустка является важнейшим этапом в процессе заживления (репарации) тканей и происходит с участием энзима плазмина. Фибриновый сгусток «растворяется» путем клизажа плазмином фибринового матрикса с образованием растворимых пептидов фибрина. Плазмин генерируется из циркулирующего зимогена плазминогена под действием активатора плазминогена тканевого типа (t-PA) или урокиназного типа (u-PA). Плазминовая активность необходима для протеолиза фибринового матрикса и активации различных металлопротеиназ, которые участвуют в утилизации поврежденных тканевых компонентов и способствуют миграции клеток, участвуя также в финальной стадии сосудистой репарации.

Система плазминоген/активатор плазминогена также является комплексом прокоагулянтного каскада. Активность плазмина регулируется сосудистыми клетками, которые секретируют как активаторы плазминогена, так и ингибитор активатора плазминогена 1 (PAI-1). Плазмин функционирует по принципу положительной обратной связи и образуется в результате расщепления плазминогена (glu-плазминоген) с образованием промежуточных продуктов (дез 1—76 или lys-плазминоген), которые легче активируются t-PA и u-PA. Образование комплексов рецепторами клеточных поверхностей и экстрацеллюлярного матрикса также повышает активность плазминогена и защищает плазмин от инактивации его циркулирующим ингибитором $\alpha 2$ -антиплазмином.

Вдобавок к этому, установлено, что факторы Va и Xa увеличивают генерацию плазмина. Плазмин расщепляет и фактор V, и Va, что ведет к транзиторной активации фактора V до Va и последующей инактивации до фактора Va ipm. Процесс инактивации фактора Va является фосфолипид- и Ca^{2+} -зависимым. Фактор Va ipm может функционировать в качестве кофактора t-PA в активации плазминогена. Фактор Xa также усиливает активацию плазминогена t-PA, а вместе с F Va ipm генерация плазмина увеличивается примерно в 150 раз. Взаимодействия факторов Va ipm, фактора Xa и генерация плазмина демонстрируют прямую связь между прокоагулянтными процессами и фибринолизом; оба процесса локализованы на мембранной поверхности или в области повреждения сосудистой поверхности.

TAFIa, продуцируемый комплексом тромбомодулин- α -тромбин, снижает уровень glu-плазминогена, активированного t-PA. TAFIa удаляет COOH-терминальные лизиновые остатки из фибрин/фибриновых фрагментов молекул, взаимодействуя тем самым с ассоциацией плазминогена и фибринового матрикса и снижая генерацию плазмина.

TAFI, однако, ответственен за профибринолитический эффект APC. В отсутствие APC конверсия протромбина в α -тромбин продолжается без какой-либо значительной ингибиции излишней генерации тромбина. Бесперывная генерация больших количеств α -тромбина ведет к повышению уровня TAFIa, который в свою очередь редуцирует фибринолитическую активность. Однако генерация α -тромбина значительно снижается в присутствии APC, что, в свою очередь, ведет к снижению активации TAFI. APC косвенно, таким образом, активирует фибринолиз через ингибицию активации TAFI.

Взаимодействие между α -тромбином, APC и TAFI непосредственно связывает процессы расширения, терминации и элиминации фибринового сгустка. Хотя процессы коагуляции условно подразделены на отдельные компоненты, ни один из этих процессов не является независимым.

Репарация

Репарация и регенерация поврежденной ткани является финальным этапом коагуляционного процесса. Этот процесс требует плазминовой активности в от-

ношении активации металлопротеиназ, которые расщепляют поврежденный экстрацеллюлярный матрикс и стимулируют миграцию клеток в области повреждения. α -тромбин, который играет множественную прокоагулянтную и антикоагулянтную роль, также выполняет ключевую функцию и в механизме репарации. α -тромбин является мощным фактором роста и хемо-аттрактантом с известными активирующими эффектами на фибробласты, макрофаги и гладкомышечные клетки. α -тромбин активирует тромбоциты, что ведет к освобождению вазоактивных субстанций и факторов роста: превращающий фактор роста β (transforming growth factor β TGF- β), тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor PDGF) и эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor EGF). Факторы роста стимулируют пролиферацию ряда типов клеток. α -тромбин также способствует синтезу факторов роста эндотелием. Действие первичного прокоагулянтного протеина является принципиальным компонентом процесса, позволяющего клеткам заместить поврежденную область с участием эндотелиальных и субэндотелиальных структур, что в дальнейшем обеспечивает антитромбогенное взаимодействие между поверхностями сосуд-кровь. Хотя коагуляционный цикл выше был представлен как линейная последовательность реакций, большинство этих процессов тесно переплетены между собой и могут происходить непоследовательно и одновременно, что и обуславливает тонкую регуляцию предупреждения кровопотери при повреждении, регенерацию и сохранение целостности сосудистой стенки.

Внешний путь свертывания крови

Важнейшим иницирующим путем свертывания крови *in vivo* является внешний путь, который включает как компоненты крови, так и сосудистые элементы. Основным компонентом внешнего пути свертывания является тканевый фактор TF, который функционирует как кофактор. TF является протеином внутренней мембраны, состоящим из одной полипептидной цепи. Являясь кофактором, он аналогичен тем самым высокомолекулярному кининогену ВМК контактной фазы, фактору VIII внутреннего пути и фактору V общего пути свертывания (рис. 1). Ингибитор внешнего пути свертывания TFPI является протеином, который в присутствии X фактора ингибирует комплекс TF/FVII. Синтез TF макрофагами и эндотелиальными клетками индуцируют эндотоксины и такие цитокины, как интерлейкин-1, IL-1 и тумор-некротический фактор (TNF).

Важным плазменным компонентом внешнего пути является FVII — один из витаминов К зависимых протеинов (помимо FIX, FX, протромбина, протеина С), которые синтезируются как прозимогены и превращаются (активируются) в сериновые протеазы путем ограниченного кливажа. Протеин S, также витамин К-зависимый протеин, является скорее кофактором, чем зимогеном. Общим для всех этих протеинов является наличие γ -глутамилкарбоксильных остатков (Gla) в N-терминальном конце молекулы, которые требуют наличия витамина К для синтеза их гепатоцитами (см. выше).

Коагулянтную активность FVII усиливает FXIIa контактной системы или FIXa (один из его субстратов), при этом необходимо наличие «тканевого тромбопластина».

Зимоген FVII сам по себе обладает минимальной, но весьма определенной протеазной активностью и способен к самоактивации. Фактор Xa при первом превращении фактора VII в фактор VIIa и инактивации его участвует как в обратной отрицательной так и в обратной положительной связи.

Энзимный комплекс фактор VIIa/TF, который формируется на активированных моноцитах или поврежденных эндотелиальных клетках, имеет 2 основных субстрата — фактор IX и фактор X — оба витамин К-зависимых протеина. При кливаже этих протеинов образуются сериновые протеазы — фактор IX или IXa, которые остаются связанными с мембранами. Их Gla-остатки облегчают дальнейшие ре-

акции в случае присутствия соответствующих кофакторов. Необходимым кофактором фактора IXa в ускорении превращения фактора X в Xa является фактор VIII.

Фактор VIII присутствует в плазме в основном в форме нековалентного комплекса с фактором фон Виллебранда (vWF), его коагулянтная функция — ускорение конверсии фактора X в Xa с участием FIXa.

Отсутствие фактора VIII или IX, лежащее в основе гемофилического синдрома, классических гемофилии А и гемофилии В, характеризуются идентичным геморагическим состоянием. Вполне может быть, что сходство геморагических проявлений как при дефиците FVIII, так и FIX объясняется недостаточностью в обоих случаях формирования внутреннего «теназного» комплекса, который является в полном смысле критическим по своей важности при активации фактора X. Выраженность клинических расстройств зависит от концентрации факторов VIII или IX; наиболее серьезные клинические проявления, манифестирующие спонтанными геморрагиями (гемартрозы) развиваются при уровне факторов VIII или IX от 0% до 1%. При уровне факторов от 5% до 30% симптомы могут быть средней выраженности или проявляются лишь при травме, хирургическом вмешательстве и пр., активность факторов выше 30% обычно достаточна для нормального гемостаза.

Прямая конверсия фактора X в Xa с участием комплекса FVIIa/TF может происходить в обход необходимых для «внутренней теназы» VIII или IX факторов.

Тем не менее, врожденный дефицит фактора VII или X вызывает подобные геморагические проявления. Клинически значимое снижение уровня тканевого фактора не описано.

Внутренний путь свертывания

Параллельно с внешним путем свертывания функционирует внутренний путь, который для инициации коагуляции использует всецело компоненты крови без вовлечения сосудистой системы. Этот путь ведет к активации фактора IX другой сериновой протеазой — фактором XI и не зависит от фактор VII-индуцированной коагуляции. Кроме того, внутренний и внешний пути отличаются и каскадом свертывания. Так, для активации фактора IX в IXa необходимо только присутствие ионов кальция Ca^{2+} , активация же фактора IX фактором VIIa требует как ионов Ca^{2+} , так и протеина-кофактора — тканевого фактора, фиксированного на клеточной мембране (липидный бислой). Конверсия XI в XIa осуществляется и в отсутствие кальция при условии наличия в крови анионных полимеров.

События, разворачивающиеся на активирующей поверхности, иллюстрируют большинство основных принципов, лежащих в основе рационального понимания протеолитического каскада плазмы. Тем не менее, роль протеинов контактной системы в инициации внутреннего пути свертывания в системе гемостаза является сомнительной, поскольку только дефицит фактора XI ассоциируется с геморагической тенденцией.

Протеины контактной системы участвуют в воспалительном ответе, активации комплемента, фибринолизе и образовании кинина. Контактная система выступает на передний план, когда кровь взаимодействует с инородными поверхностями, как в случае кардиопульмональных «bypass», искусственных клапанов сердца и пр. Зимоген фактор XII (фактор Хагемана) является первым протеином в серии тонко отрегулированных реакций и связывается с отрицательно заряженными поверхностями, такими как каолин, декстран-сульфат и сульфатиды. После связывания с этими активирующими поверхностями, инициация последующих реакций достигается путем аутоактивации в результате кливажа активированным фактором XII (XIIa) зимогена с разрывом одной из дисульфидных связей, что ведет к обнажению каталитического участка этой сериновой протеазы. Тяжелая цепь фактора XII связывается с поверхностью, что способствует увеличению локальной концентрации фермента и его действию на субстраты — прекалликреин и

фактор XI, с образованием калликреина и фактора XIa. Дальнейший кливаж ведет к освобождению фрагментов фактора Хагемана (XII), которые диффундируют в жидкую фазу. Хотя этот энзим способен превращать прекалликреин в калликреин, утерянное им сродство к поверхности предотвращает дальнейшее эффективное участие его в коагуляции.

Большинство коагуляционных энзимов обладают доменами, подобными фактору XIIa; например, его легкая цепь содержит активные участки остатков серина, гистидина и аспартата, гомологичные сериновой протеазе химотрипсину, в то время как тяжелая цепь фактора XIIa содержит «крингл» домен эпидермального фактора роста и фибриноген-подобный связывающий домен. Связывающие участки поверхностей фосфолипидов, клеточных мембран и соединительной ткани определяют уникальную роль всех коагуляционных протеолитических энзимов.

Два основных субстрата фактора XIIa, прекалликреин и фактор XI, образуют нековалентные бимолекулярные комплексы с высокомолекулярным кининогеном (ВМК), которые связываются с поверхностью и облегчают взаимодействие зимогенов и энзимов. Молекулярные комплексы кофакторов, энзимов и субстратов являются легко обратимыми, что ведет к максимальной эффективности и высокой скорости молекулярных реакций. В контактную систему вовлечены отрицательно заряженные поверхности, на этапе более поздних реакций коагуляционного каскада такие поверхности представлены фосфолипидами или клеточными мембранами.

Действие калликреина на его два субстрата иллюстрирует процесс положительной обратной связи, которая широко распространена в коагуляционной системе. Калликреин расщепляет фактор XII, превращая его в FXIIa, усиливая тем самым контактную активацию. Вдобавок к этому, калликреин расщепляет ВМК с высвобождением нонапептида брадикинина, который может быть вовлечен в механизм гипотензии при грам-негативном сепсисе. Оставшийся активированный ВМК связывается, по крайней мере, в 10 раз лучше с поверхностью, чем с интактным прокофактором, позволяя тем самым большему количеству прекалликреина (и фактору XI) связываться с активирующей поверхностью.

Регуляция по типу отрицательной обратной связи также характерна для коагуляционной системы. Одной из таких реакций является конверсия калликреином фактора XIIa в фактор XIIf, в ответ на выключение поверхность-зависимой коагуляции. Кроме того, FXIa отщепляет легкую цепь ВМК, которая обладает коагулянтной активностью; это лишает его кофакторной активности и позволяет фактору XIa удалиться с активирующей поверхности.

Протеины свертывающей системы

Определение аминокислотных последовательностей основных прокоагулянтных протеинов долгое время осложнялось тем, что они содержатся в плазме в очень низких концентрациях. Кроме того, они чрезвычайно неустойчивы, что также затрудняло задачу. Огромный шаг вперед был сделан при внедрении техники клонирования, что позволило изолировать гены, кодирующие факторы свертывания. Это дало информацию об аминокислотных последовательностях из клонированных сДНК, позволило охарактеризовать мутации, ответственные за наследственную патологию, дало возможность синтезировать рекомбинантные протеины для исследований и терапевтических целей, а также разработать модели заболеваний на животных с помощью трансгенных и генных технологий. Это в свою очередь сделало возможным появление нового подхода к лечению геморрагических диатезов — перенос генов.

На сегодняшний день уже известны аминокислотные последовательности и хромосомная локализация всех факторов свертывания (табл. 1), а для большинства полная геномная последовательность. Изучение генов, кодирующих факторы коагуляции, пролило свет на эволюцию свертывающей системы.

Хромосомная карта генов факторов коагуляции человека.

Фактор	Локализация в хромосоме	Ссылка
Фибриноген γ - α - β	4q23-q32	Kant, et al. 1985
Протромбин	11p11-q12	Royle et al. 1987
Фактор V	1q21-q25	Wang, et al., 1988
Фактор VIII	Xq28	Tantravahi, et al., 1986 Purello, et al., 1985
Фактор IX	Xq27,1	Camerino, et al., 1985 Purello, et al., 1985
Тканевой фактор	1p21-p22	Kao, et al., 1988
Фактор VII	13q34-qter	DeGrouchy, et al., 1984 Cox and Gedde-Dahl, 1985
Фактор X	13q34-qter	DeGrouchy, et al., 1984 Scambler and Williamson, 1985 Royle, et al., 1986
Фактор XI	4q32-q35	Kato, et al., 1989
Прекалликреин	4q35	Beaubien, et al., 1991
Фактор XII	5q33-qter	Royle, et al., 1986
Фактор XIII	A: 6p24-p25 B: 1q31-q32	A: Board, et al., 1988 A: Weisberg, et al., 1987 B: Webb, et al., 1989
Высокомолекулярный кининоген	3q26-qter	Cheung, et al., 1992

Эволюция коагуляции

Все организмы с замкнутой сосудистой системой обеспечены системой, благодаря которой любое повреждение сосудистого звена не приводит к кровотечению, а ответ на такое повреждение не вызывает тромбирование всей системы. Так, свертывающая система человека эволюционировала, отчасти для того, чтобы предотвратить потерю внутрисосудистой жидкости и форменных элементов крови после повреждения сосуда, поддерживая ее жидкое состояние. В более примитивных организмах без замкнутой сосудистой системы, коагуляция обеспечивает защиту от попадающих микроорганизмов. Анализируя молекулярную эволюцию свертывающей системы крови и системы комплемента, исследователи пришли к выводу, что они возникли из единой наследственной системы, которая обеспечивала двойную защиту против попадающих микроорганизмов и потери жидкостей организмом. Без полной характеристики систем коагуляции низших организмов современная модель эволюции системы свертывания является спорной; однако, определение кодирующих последовательностей протеинов коагуляции, их выравнивание и использование кодов позволило оценить порядок появления и возраст дивергенции этих протеинов.

Дулитл предположил, что система свертывания человека и высших млекопитающих представляет собой прогрессивное развитие и обработку примитивной системы, в которой нарушение системы циркуляции вызывает эффект «тканевого фактора». Этот фактор развился из цитокинового рецептора (основываясь на

гомологии человеческого тканевого фактора и рецепторов интерферона), и мог активировать циркулирующий протеин — примитивный протромбин. До активации протромбин-подобный протеин образовывал лиганд рецептора (как тромбиновый рецептор) на эффекторной клетке в циркуляторном русле. «Оккупация» этого рецептора делала эффекторную клетку способной образовывать группы с другими «палочкоядерными лейкоцитами». Эта простая система блокировала потерю жидкостей организмом и привлекала эффекторные клетки к местам инвазии микробов. Такой вид гемостаза существует и у современных организмов, например, у гидры. Добавление ступеней и модификаций к этой основной реакции привело к образованию системы гемостаза, которая включает в себя образование протеинового геля, локализацию реакций на поверхности активированных мембран, и увеличение регуляции коагуляции как дополнительной активацией прокоагулянтных и антикоагулянтных протеаз, так и кофакторами протеинов. Система комплемента обеспечивает защиту против клеточных патогенов. Система фибринолиза, вероятно, развивалась отдельно и раньше, что очевидно из ее готовности отвечать на протеазы бактерий.

Образование белкового геля является общим условием коагуляции у позвоночных и некоторых беспозвоночных. У рако- и паукообразных белковый гель образуется как сосудистая пробка. В систему гемостаза ракообразных не вовлечен протеолиз; образование «перекрестного фибриногена» происходит в результате транслугтаминазной реакции.

У паукообразных каскадная активация сериновых протеаз вызывает расщепление определенного протеина, коагулогена, который затем образует полимер коагулин. Эта система имеет и другие сходства с системой позвоночных: расщепление связи аргинин-глицин в коагулогене с помощью конечного энзима каскада (тромбин катализирует расщепление аргинин-глициновой связи в альфа- и бета-цепях фибриногена); действие транслугтаминазы на коагулин схоже с действием фактора XIIIa. Однако система паукообразных заметно отличается от коагуляционной системы позвоночных, она активируется в ответ на действие бактериального эндотоксина; некаталитические домены сериновых протеаз не похожи на сериновые протеазы позвоночных, а коагулоген не гомологичен фибриногену.

Появление зимогена в системе коагуляции подковообразных крабов стало новым этапом развития коагуляции из наследственной системы с компонентами, как системы комплемента, так и коагуляции. Эндотоксин-чувствительный фактор С подковообразного краба имеет некаталитическую часть, содержащую пять комплемент-В-подобных единиц, домен фактора роста и домен лектина. Каталитический домен схож с таковым протромбина. Вероятно, система комплемента развивалась из лектин-содержащей распознавательной системы, и до появления иммуноглобулинов роль распознавания внедряющихся микроорганизмов выполняют лектины, связываясь с полисахаридными компонентами клеточной стенки микроорганизма. Существование распознающей функции у человека доказывает тот факт, что они способны активировать систему комплемента, а также то, что лектины на поверхности клеток ретикулоэндотелиальной системы необходимы для распознавания стареющих эритроцитов. Схожесть последовательностей между сериновыми протеазами комплемента человека C1r и C1s и гаптоглобином (некаталитическим «мусорщиком» свободного гемоглобина) предполагает, что примитивная система комплемента состояла из трех частей, которые распознавали, лизировали и удаляли токсические остатки клеток-мишеней.

Основываясь на 40-летнем экспериментальном опыте сравнительной энзимологии, можно сделать вывод, что протеазы коагуляции у позвоночных произошли из трипсин-подобных пищевых ферментов путем серии дупликаций гена. Такая генеалогия частично получена путем анализа появления похожих функциональных доменов, использования кодонов для активных сериновых участков и

через определение расположения интрона в гомологичных генах, как, например три цепи фибриногена и витамин-К зависимых протеаз. Разнородная активность родительской пищевой протеазы стала ограниченной в ферментах коагуляции вследствие точечной мутации и появление новых доменов. Такая специализация вызвала появление ферментов, способных к ограниченному протеолизу, при котором субстраты протеинов не разрушаются, а вместо этого модифицируются, чтобы иметь больше сложных функций физиологической регуляции.

Важность приобретения домена как эволюционного механизма была осознана, когда выяснилось, что большинство регуляторных протеаз сконструированы из модулей, общих с другими протеинами. Например, отличительная особенность коагуляции позвоночных — локализация реакций на отрицательно заряженных поверхностях. Эта локализация является следствием появления кальций связывающего домена (Gla домен) на витамин-К-зависимых протеазах и липид — связывающего домена на их кофакторах. Также эти протеазы приобретают одну или более молекулу, подобных эпидермальному фактору роста (EGF); EGF-домены вовлечены в соединение с другими макромолекулами, такими как кофакторы, активаторы или субстраты. По сравнению с точечной мутацией, приобретение дополнительных модулей немедленно придает новые свойства протеинам, не отменяя их изначальную специфичность и функцию. Вследствие приобретения модулей многие из протеинов коагуляции включают некаталитические домены, становясь более специфичными в отношении активации и активности. В случае факторов IX, X дальнейшая специфичность и каталитическая эффективность достигается взаимодействием с некаталитическими мозаичными кофакторами протеина (фактор V, VIII).

Примитивный фибриноген, вероятно, произошел из адгезивной молекулы. Цитотактин, внеклеточная адгезивная молекула, и второй протеин, специфичный к цитотоксическим Т-лимфоцитам (хотя и служит клеточным «клеем» для клеток-мишеней) — оба имеют последовательность, гомологичную фибриногену. Адгезивная молекула, формирующая гемостатическую пробку, также скорее всего произошла из примитивной системы защиты против микробной инвазии, в которой адгезивный протеин, вероятно, иммобилизует бактерию или паразита, повышая адгезию эффекторных клеток в местах повреждений.

Человеческий фибриноген состоит из трех гомологичных цепей: AA, Вβ и γ. Гены, кодирующие A, β и γ цепи тесно связаны друг с другом на хромосоме 4, и, вероятнее всего, они являются результатом дупликации гена примитивного адгезивного протеина. Трехцепочечный фибриноген представлен у большинства примитивных позвоночных, таких как миноги, но гомологичная фибриногену молекула не идентифицирована у беспозвоночных. В результате сравнения аминокислотной структуры трех цепей появилось предположение, что трипликация гена произошла во время дивергенции растений и животных.

Без лучшей характеристики систем гемостаза и комплемента низших позвоночных и беспозвоночных временная шкала эволюции систем человека остается невыясненной. Оценка появления протеинов в коагуляции человека основана на анализе гомологичных последовательностей. Самые ранние протеины — фибриноген, протромбин и тканевой фактор — были, по всей вероятности, представлены уже 600 миллионов лет назад. Приобретение Gla и EGF-подобного доменов и дубликаций генов вызвало появление витамин К-зависимых факторов VII и X приблизительно 500 миллионов лет назад. В это же время появились факторы V и XII. F VIII, FIX и FXI появились 450 миллионов лет назад, и самая последняя дивергенция прекалликреина из фактора XI — 124 миллионов лет назад.

Прокоагуляционные протеины — факторы контакта и фактор XI

Фактор XII (фактор Хагемана)

Фактор XII, фактор Хагемана, является одним из ключевых компонентов интеграции основных защитных свойств систем крови, включающей фибринолиз,

систему комплемента и воспаление. Фактор XII называется также фактором контакта, поскольку играет важную роль в инициации коагуляции при контакте крови или плазмы со стеклом или каолином. Эти вещества используются обычно при лабораторном определении активированного частичного тромбопластинного времени (АЧТВ) — глобального скрининг-теста определения фактора XII и других факторов внутреннего пути свертывания. Концентрация FXII в плазме составляет 29—40 мкг/мл; исследования *in vitro* свидетельствуют о повышении концентрации FXII под действием эстрогенов.

Хотя фактор XII не является критическим в инициации коагуляции *in vivo*, какую роль он играет в гемостазе, окончательно до сих пор еще не ясно. Доказано, что активация FXII у приматов инициирует фибринолиз, систему комплемента и кининовый путь.

Ген/экспрессия гена

Ген фактора XII локализован на 5 хромосоме и состоит из 14 экзонов и 13 интронов. Промотор гена содержит 2 трансляционных элемента, характерных для генов со способностью к гепатоцит-специфической экспрессии, как и другие элементы, зависимые от уровня эстрогенов.

Биохимия

Человеческий FXII синтезируется в форме протеин-предшественник с 19 остатками сигнальных пептидов. «Зрелый» фактор XII ($M_r = 76000$) представляет собой одноцепочечный гликопротеин из 596 аминокислот. NH₂-концевая половина молекулы содержит несколько типов доменов: домен фибронектина типа II, домен, подобный эпидермальному фактору роста (EGF-домен), домен фибронектина типа I, второй EGF-домен и крингл-домен. С-концевая половина молекулы представляет собой домен — сериновую протеазу (SP-домен) гомологичную В-цепи плазмина.

FXII содержит около 17% углеводов, которые распределены в каждом домене. FXII связывается с Zn²⁺, что вызывает конформационные изменения молекулы и усиливает активацию фактора XII калликреином и фактором XIIa.

Активация

FXII активируется вследствие его связывания с отрицательно заряженными поверхностями, как эллаговая кислота, каолин, стекло, декстран-сульфат, которые обычно применяются *in vitro*. Физиологическими активаторами FXII могут являться гепарин, сульфатиды, отрицательно заряженные фосфолипиды, неэтерифицированные жирные кислоты (как стеариновая кислота), липопротеиновые частицы, эндотоксин и кристаллы уратов. FXII подвержен «реципрокной» активации, когда фактор XIIa активирует прекалликреин в калликреин, который в свою очередь активирует фактор XII в XIIa. Вероятно, аутоактивация FXII является менее важной. В процессе активации фактора XII происходит кливаж между Arg353-Val354, в результате чего образуется сериновая протеаза α -фактор XIIa, которая состоит из двух цепей, связанных дисульфидной связью между Cys340-Cys467. Два последующих кливажа могут произойти в участке Arg334-Asn335 (вне дисульфидной связи) и в участке Arg343-Leu344 (внутри дисульфидной связи) с образованием β -фактора XIIa, иначе называемым фрагментом фактора Хагемана (HFL).

β -FXIIa ($M_r = 30000$) состоит из короткой легкой цепи (Asn335-Arg343) дисульфидно связанной с тяжелой цепью. В отличие от α -фактора XIIa, SP-домен β -фактора XIIa в большей степени ковалентно связан с участком из 334 остатков NH₂-концевого отдела молекулы. Исследования, связанные с мутировавшим фактором XII Locarno (замена Arg353 на Pro), показали, что кливаж в области Arg353 является необходимым условием для экспозиции активного участка фактора XII. Было отмечено, что активация фактора XII ингибируется субстанциями эндотелиальных клеток, катионными протеинами эозинофилов и амилоидными предшественниками протеинов.

Функция и регуляция

Фактор XIIa, являясь сериновой протеазой, активирует фактор XII и прекалликреин в реакциях, многократно ускоряющихся в присутствии анионных поверхностей и высокомолекулярного кининогена (ВМК). β -фактор XIIa уже не активирует фактор XI, но поддерживает способность активировать прекалликреин. FXIIa также активирует C1-компонент системы комплемента. Недавно было обнаружено, что фактор XIIa усиливает освобождение воспалительных цитокинов (IL-1) мононуклеарными клетками. Активация фактора XII, равно как и других факторов контакта, происходит при контакте крови с инородными материалами (искусственные органы или протеазы), а также при фармакологическом тромболизе, малярии, под воздействием эндотоксина и при бактериальном сепсисе. Многочисленные исследования показали, что активация FXII имеет место при летальной бактериемии и способствует активации системы комплемента и фибринолиза, освобождению нейтрофильных эластаз и интерлейкина-6 (IL-6), а также развитию необратимой гипотензии; тем не менее, этот механизм не ответственен за активацию внутрисосудистого свертывания крови (ДВС): в этом смысле «ответственность» несет тканевой фактор TF. FXIIa регулируется ингибитором протеиназ плазмы — C1-эстеразным ингибитором (C1INH).

Прекалликреин (фактор Флетчера)

Прекалликреин плазмы участвует в контактной фазе коагуляции, образовании вазоактивных кининов, фибринолизе, активации системы комплемента и воспалении. Концентрация прекалликреина в плазме составляет 35—45 мкг/мл; он циркулирует в плазме в форме нековалентного комплекса с высокомолекулярным кининогеном (ВМК).

Характерно, что дефицит прекалликреина является редкостью, и, как правило, не сопровождается клинически выраженными аномалиями гемостаза.

Ген/экспрессия гена

Хотя печень является одним из основных органов, синтезирующих прекалликреин, м-РНК находят также в почках, надпочечниках и плаценте.

Биохимия

Прекалликреин плазмы синтезируется в форме предшественника — с сигнальным пептидом из 19 аминокислот. «Зрелая» форма его представляет собой одноцепочечный гликопротеин (Mr = 85—88 000), состоящий из 619 аминокислот и 5 связанных с N-концом углеводных цепей. NH₂-концевой участок состоит из четырех последовательностей, называемых «apple»-доменами, каждый из которых состоит примерно из 90 остатков, включающих 6 или 8 цистеинов, которые имеют особую дисульфидно-фиксированную структуру. «Apple»-домены высоко гомологичны таковым XI фактора и в своем роде уникальны для этих протеинов. C-концевой участок прекалликреина представлен CP-доменом, гомологичным семейству трипсиновых ферментов.

Активация

Прекалликреин активируется фактором XIIa в реакции, которая для максимальной эффективности нуждается в наличии отрицательно заряженных поверхностей и кофакторном протеине — ВМК. Фактор XIIa расщепляет одну пептидную связь между Arg³⁷¹-Ile³⁷². В результате прекалликреин превращается в калликреин, который содержит NH₂-концевую тяжелую цепь (Mr = 52 000), состоящую из четырех «apple»-доменов, дисульфидно связанных с C-концевой легкой цепью (Mr = 36 000 или 33 000), содержащей каталитический домен. Тяжелая цепь калликреина связывает высокомолекулярный кининоген, который необходим для поверхности-зависимой активации коагуляции.

Функция

Калликреин является сериновой протеазой, которая участвует в различных защитных механизмах крови. В присутствии соответствующей поверхности и про-

теина-кофактора ВМК, калликреин участвует в контактной фазе коагуляции, активируя фактор XII с образованием α -фактора XIIa, который, в свою очередь, активирует фактор XI. Под действием калликреина возможно, как уже указывалось, превращение α -фактора XIIa в β -фактор XIIa. Калликреин способствует образованию вазоактивного нанопептида брадикинина из высокомолекулярного кининогена путем кливажа двух внутренних пептидных связей. Брадикинин, являясь мощным вазодилататором, осуществляет свою функцию как непосредственно через взаимодействие с рецепторами гладкомышечных клеток, так и непрямым образом — через стимуляцию сосудистых эндотелиальных клеток с последующим освобождением оксида азота NO (эндотелиальный релаксирующий фактор) и простаглицлина, что в конечном результате ведет к гипотензии, повышению проницаемости сосудистой стенки и боли. Помимо этого, калликреин участвует в фибринолизе: он способен превращать плазминоген в плазмин, а также тромбоцит-связанную проурокиназу — в фибринолитический энзим урокиназу.

Одним из важных свойств калликреина также является способность активировать нейтрофилы с освобождением эластазы в процессах свертывания и воспаления.

Регуляция

C1-INH является основным ингибитором калликреина в человеческой плазме, формируя ковалентный 1:1 комплекс ($M_r = 185000$). α 2-макрोगлобулин (α 2-m) также является ингибитором калликреина, но играет значительно меньшую роль. Антитромбин III (AT III) является слабым ингибитором калликреина, однако в присутствии гепарина и ВМК AT III является более эффективным ингибитором, чем C1INH или α 2-m.

Высокомолекулярный кининоген (ВМК; фактор Фитцджеральда)

ВМК, или фактор Фитцджеральда, является важным кофактором, необходимым для эффективной активации контактной фазы коагуляции. ВМК является также предшественником вазоактивного пептида брадикинина. Другая форма кининогена в человеческой плазме, низкомолекулярный кининоген, также может служить источником брадикинина, но не обладает прокоагулянтной активностью. Концентрация ВМК в плазме составляет 80 мкг/мл. Дефицит ВМК является редким явлением и наследуется аутосомно-рецессивно. Дефицит ВМК не связан с клинически выраженными гемостатическими отклонениями.

Ген/экспрессия гена

Ген кининогена состоит из 11 экзонов и 10 интронов. Экспрессия гена проявляется синтезом в печени 2 продуктов — ВМК и низкомолекулярного кининогена при альтернативном сплайсинге. Первичная структура обеих форм кининогена идентична брадикининовой последовательности, за исключением их С-концевых участков.

Биохимия

ВМК синтезируется в форме предшественника, содержащего сигнальный пептид. Зрелая форма ВМК ($M_r = 120\ 000$) представляет собой одноцепочечный протеин из 626 остатков, составляющих 6 доменов, последовательно обозначаемых как D1-D6, считая от NH2-конца.

D2 и D3 домены содержат реактивный участок, ответственный за ингибиторную активность кининогенов. ВМК циркулирует в форме нековалентного 1:1 комплекса с прекалликреином или фактором XI. ВМК, равно как и его комплекс с соответствующим зимогеном, связывается с отрицательно заряженной (анионной) поверхностью. Такая множественная возможность взаимодействий через связывание с протеинами и анионными поверхностями является основной для усиления активации факторов контактной фазы.

Протеолиз

Калликреин отщепляет D4-домен от ВМК с освобождением нанопептида брадикинина. В результате образуется свободная от кинина 2-цепочечная форма ВМК, содержащая NH₂-концевую тяжелую цепь из 362 аминокислотных остатков (M_r = 65 000), заключающих в себе D1, D2 и D3 домены, дисульфидно связанную с C-концевой легкой цепью из 255 остатков, содержащих D5 и D6 домены (M_r = 45 000). Прокоагулянтную активность двухцепочечной формы ВМК обеспечивает легкая цепь, которая связывает прекалликреин, фактор XI, и отрицательно заряженные поверхности. Связующие участки для фактора XI и прекалликреина локализованы у C-концевого отдела легкой цепи на протяжении 30 аминокислотных остатков. D5, который имеет положительный заряд за счет остатков гистидина и лизина, обеспечивает связь с анионными поверхностями. Гликозилированные участки легкой цепи, содержащие 40% углеводов, не обладают биологической активностью.

Функция

Долгое время ВМК рассматривали как субстанцию, недостаток которой в плазме у некоторых может вызвать нарушения коагуляции, инициированной контактными факторами, а также нарушения в процессе фибринолиза и образования кинина. Последующие исследования показали, что ВМК функционирует как неэнзиматический кофактор. ВМК связывает прекалликреин и фактор XI и обеспечивает вместе с анионной поверхностью ускорение их активации фактором XII_a, связанным с поверхностью. В результате калликреин, равно как и фактор XI_a, становится способным превращать плазминоген в фибрин-расщепляющий энзим-плазмин, что является основой ВМК-обусловленной фибринолитической активности.

Возникает резонный вопрос: чем представлены физиологические поверхности, необходимые для связывания с ВМК с целью дальнейшей активации контактных факторов коагуляции? Подобными субстанциями *in vitro* являются стекло и каолин, которые, как известно, *in vivo* не присутствуют.

Предполагается, что субэндотелиальный матрикс, обнажающийся при повреждении эндотелиального слоя, представляет собой соответствующую поверхность. Возможно, поверхность различных типов клеток может служить для активации контактных факторов, поскольку ВМК связывается с поверхностью эндотелиальных клеток в культуре тканей и *in situ*, а также с нейтрофилами и тромбоцитами. Связанный с клеточной поверхностью ВМК представляет собой функциональную форму и поддерживает активацию контактных факторов с освобождением брадикинина. Участками молекулы ВМК, ответственными за связывание с клеточными поверхностями, являются домены как тяжелой цепи (D3), так и легкой цепи (D5). ВМК-связывающим протеином на поверхности эндотелиальных клеток является недавно идентифицированный рецептор для глобулярных компонентов компонента C1q(qC1qR). ВМК связывается также с моноцит/миелоид-специфическим рецептором Mac-1 нейтрофилов, связанных с фибриногеном.

Фактор XI (предшественник тромбопластина плазмы)

Последние годы роль FXI в коагуляции была пересмотрена. Эта подвергшаяся ревизии модель коагуляции была сформулирована отчасти в связи с отсутствием кровотечений при изолированном дефиците контактных факторов (фактор XII, ВМК, прекалликреин), в то время как у пациентов с дефицитом фактора XI наблюдаются кровотечения. Концентрация фактора XI в нормальной плазме составляет 4—6 мкг/мл. Дефицит фактора XI является редким в общей популяции и составляет 1 на 100 000. Тем не менее, дефицит фактора XI относительно часто встречается среди евреев-ашкенази (евреи Европы) и составляет примерно 1 на 200 в популяции. В этой популяции выделяют 3 независимые точечные мутации фактора XI, ведущие к его дефициту. Время биологической полужизни фактора XI после его инфузии пациентам с дефицитом FXI составляет 52 часа.

Ген человеческого фактора XI состоит из 15 экзонов и 14 интронов.

Биохимия

Фактор XI ($M_r = 125\ 000$) — гликопротеин, содержащий 5% углеводов, является гомодимером из 2 идентичных полипептидных цепей ($M_r = 60\ 000$), связанных дисульфидной связью. Каждый полипептид состоит из 607 аминокислот. Фактор XI циркулирует в связанной с ВМК форме, что необходимо для взаимодействия фактора XI с анионной поверхностью и активации в фактор XIa. Связующие участки для ВМК, фактора IX и фактора XIa локализованы в «apple»-доменах 1, 2 и 4 фактора XI.

«Apple»-4 домен обеспечивает нековалентную связь между двумя половинами гомодимера фактора XI.

Активация

Фактор XI, являясь аналогом прекалликреина, активируется фактором XIa в реакции, требующей наличия отрицательно заряженной поверхности и ВМК для максимальной ее эффективности. Фактор XIa расщепляет связь между Arg369 и Ile370 каждой из 2 идентичных цепей гомодимера фактора XI. Это ведет к образованию NH₂-концевой тяжелой цепи ($M_r = 35\ 000$), состоящей из четырех «apple»-доменов, связанных одной дисульфидной связью с С-концевой легкой цепью ($M_r = 25\ 000$), состоящей из SP-домена для каждой половины гомодимера.

Первые данные о том, что тромбин может активировать фактор XI, явились основой для новой пересмотренной модели коагуляции, согласно которой тромбин, образуемый посредством фактор VIIa-TF пути, активирует фактор XI, иницируя тем самым внутренний путь свертывания, что поддерживает постоянный процесс самоактивации и базальный уровень тромбина. Тем не менее, физиологическое значение активации фактора XI тромбином в плазме остается сомнительным и исследования активации фактора XI другими активаторами (помимо контактных факторов) продолжается. Фактор XI связывается через «apple»-3-домен с активированными тромбоцитами, которые могут служить источником мембранных поверхностей, необходимых для активации фактора XI. В этом случае, Zn²⁺-обусловленное связывание ВМК с клеточной поверхностью обеспечивает наличие высокоафинных связывающих участков для фактора XI, который подвергается фактор-XIa-опосредованному превращению в фактор XIa, который в свою очередь активирует фактор IX.

Функция

Фактор XIa является сериновой протеазой, которая превращает фактор IX в фактор IXa в Ca²⁺-зависимой реакции. Активация фактором XIa фактора IX и последующие реакции внутреннего пути важны для поддержания генерации достаточных количеств фактора Xa и тромбина, как только коагуляция инициирована фактор VII-TF-путем.

Регуляция

Фактор XIa ингибируется в плазме несколькими протеиназными ингибиторами. Основным ингибитором является C1INH, хотя α 1-протеиназа (α 1-PI) и α 2-антиплазмин (α 2-AP) также играют важную роль. В присутствии гепарина, ингибция фактора XIa антитромбином III также принадлежит значительная роль. Кроме того, выделены два ингибитора фактора XIa из тромбоцитов — протеаза нексин-2 (Альцгеймер-амилоид- β -протеин-предшественник (PN-2) APP) и неидентифицированный низкомолекулярный ингибитор, физиологическое значение которого еще не ясно.

Прокоагулянтные витамин К-зависимые протеины

Витамин К является жирорастворимым витамином, широко распространенным в составе растений, известных своими протромботическими свойствами. В 1930—40-х годах в сладком клевере был обнаружен токсический агент бис-гидроксикумарин (дикумарол), который явился причиной геморрагичес-

ких проявлений у крупного рогатого скота, действуя как антагонист витамина К. Витамин К необходим для модификации с участием витамин К-карбоксилазы специфических остатков глутаминовой кислоты (glu) витамин К-зависимых протеинов, а также нормального биосинтеза, секреции и обеспечения полной биологической активности зрелых форм ВКЗ-протеинов в циркулирующей крови. ВКЗ-протеины плазмы включают 2 группы — прокоагулянтные протеины (факторы IX, X, VII и протромбин) и антикоагулянты (протеины С и S). Факторы IX, X и протромбин играют ключевую роль во внутреннем пути свертывания, фактор VII — во внешнем пути свертывания. Изолированные врожденные дефициты факторов IX, X, VII или протромбина проявляются кровотечениями. В противоположность этому дефициты протеинов С или S связаны с склонностью к тромбозам. За исключением протеина S, все ВКЗ-протеины являются зимогенами сериновых протеаз, относящихся к семейству трипсин/химотрипсин. ВКЗ-протеины имеют мозаичную структуру, образованную несколькими доменами различных типов. Каждый домен представляет собой полипептид, кодируемый отдельным экзоном. Структура доменов факторов VII, IX, X и протеина С очень схожа. Каждый протеин синтезируется в форме предшественника, содержащего сигнальную последовательность и пропептидный участок, которые удаляются во время секреторного процесса. Зрелые формы циркулирующих ВКЗ-протеинов состоят из (начиная от NH₂-конца): домен из γ -карбоксиглутаминовой кислоты (gl_a-домен), короткого ароматического участка аминокислот (гидрофобный домен), 2 доменов, представленных субстанциями, подобными эпидермальному фактору роста (EGF-домены), активационного пептидного участка; домена, представленного сериновой протеазой (SP-домен). Лишь в молекуле протромбина 2 EGF-домена замещены двумя крингл-доменами. Протеин S является протеином плазмы, но не зимогеном. Он содержит gl_a-домен, тромбин-сенситивный участок, четыре EGF-домена и домен, гомологичный глобулину, связывающему стероидные гормоны.

ВКЗ-протеины первично синтезируются в печени, откуда попадают в кровоток. Концентрация их в плазме колеблется в широком диапазоне — от 0,5 мкг/мл для фактора VII до 100 мкг/мл для протромбина. Концентрация ВКЗ-протеинов в плазме коррелирует с уровнем холестерина, триглицеридов, а также меняется от уровня насыщенных жирных кислот в пищевом рационе. Уровень ВКЗ-протеинов повышен у молодых людей с риском ишемической болезни сердца. Время полужизни циркулирующих ВКЗ-протеинов колеблется от нескольких часов до нескольких дней. Хотя в основном катаболизм ВКЗ-протеинов также происходит в печени, детально путь удаления их из организма не ясен. Во время коагуляционного ответа, ВКЗ-протеины «потребляются» при активации сериновых протеаз, которые нейтрализуют их путем формирования комплексов с ними. Образующиеся комплексы немедленно выводятся из кровотока. Однако степень «потребления» ВКЗ-протеинов в процессе нормального оборота факторов в базальном состоянии (т.е. в норме) до сих пор не известна.

Гепатоциты печени являются основным местом синтеза ВКЗ-протеинов. Так, снижение уровня циркулирующих ВКЗ-протеинов является одним из основных проявлений дисфункции печени; кроме того, трансплантация печени ликвидирует врожденный дефицит протеина С.

На сегодняшний день идентифицированы все гены, кодирующие ВКЗ-протеины, и ведется интенсивное изучение их регуляторных участков.

Посттрансляционный процессинг

ВКЗ-протеины проходят целую серию превращений при посттрансляционном процессинге в гепатоцитах. Эти превращения включают: эндопротеолиз, γ -карбоксилирование glu в gl_a, β -гидроксилирование аспарагиновой кислоты и аспарагина в эритро- β -гидроксиаспарагин (Нуп) соответственно и гликозилирование.

Протеолиз

ВКЗ-протеины синтезируются в форме одноцепочечных предшественников, содержащих пре-про-последовательность на протяжении полипептидной цепи молекулы. Протеин с гидрофобным пре-пептидом (сигнальный пептид) синтезируется в эндоплазматической сети. Здесь полипептид проникает через липидный бислой в просвет эндоплазматической сети, где сигнальный пептид удаляется сигнальной пептидазой. После карбоксилирования *glu*-домена витамин-К-зависимой карбоксилазой, пропептид, играющий важную роль в укорочении витамин-К-зависимой карбоксилазы, удаляется эндопротеазой. Помимо этого, так называемый фурин- Ca^{2+} -зависимая эндопротеаза, локализованная в комплексе Гольджи, может также быть ответственна за удаление про-пептида, равно как и за процессинг одноцепочечной формы ВКЗ-протеинов в двухцепочечную.

Карбоксилирование и витамин К-зависимая карбоксилаза

ВКЗ-протеины подвергаются γ -карбоксилированию с превращением первых 9—12 *glu*-остатков в *glu*, что соответствует концевым участкам зрелых форм протеинов. Такая модификация с участием витамина К необходима для нормальной секреции и биологической активности ВКЗ-протеинов. Реакция происходит с участием фермента витамин-К-зависимой карбоксилазы (γ -глутамил-карбоксилаза) — ферментом, связанным с мембраной внутренней поверхности эндоплазматической сети. Недавно ДНК этого энзима была клонирована и исследована. Витамин К-зависимая карбоксилаза ($M_r = 94\ 000$) представляет из себя гликопротеин из 758 остатков. NH_2 -концевая половина молекулы содержит три гидрофобных участка, в то время как С-концевая половина является гидрофильной. В процессе энзим-катализируемой реакции с участием соответствующего *glu*-содержащего протеина (или пептида), молекулярного кислорода, витамина К-гидрохинона (витамин KH_2) и CO_2 витамин KH_2 окисляется до витамина К2,3-эноксида с образованием в стехиометрических количествах *glu* и воды. Витамин К-зависимая карбоксилаза необратимо ингибируется N-этилмалеимидом, содержащим 1 или более тиоловых групп.

Как уже указывалось выше, витамин К-зависимая карбоксилаза не может восстанавливать окисленную форму витамина К. Скорее, другие микросомальные энзимы восстанавливают К2,3-эноксид до витамина К, который затем снова восстанавливается до витамина KH_2 . Обе эти реакции ингибируются дикумаролом и варфаринном, тем самым предотвращается регенерация витамина KH_2 -активной формы витамина К, необходимой для витамин К-зависимой карбоксилазы. Ингибция цикла восстановления витамина К кумариноподобными препаратами (непрямые антикоагулянты) лежит в основе их антикоагулянтного действия и применения в клинической практике. Цикл витамина К представлен на рис. 4.

Дефицит витамина К, как результат естественных причин или лечения кумариновыми антикоагулянтами, ведет к появлению аномальных форм ВКЗ-протеинов в кровотоке — это так называемые PIVKA (протеины, индуцируемые антагонистами витамина К). PIVKA являются *glu*-дефицитными и обладают значительно более низкой биологической активностью. В дополнение к этому, лечение непрямыми (оральными) антикоагулянтами является причиной значительного снижения концентрации ВКЗ-протеиновых антигенов в плазме.

Недавно было обнаружено, что специфические антитела могут образовываться лишь к нормальному γ -карбоксилированному протромбину. Это является основой для разработки новых лабораторных тестов, имеющих преимущества в сравнении с традиционным протромбиновым временем, используемым при мониторинге оральной антикоагулянтной терапии.

Редким осложнением при терапии оральными антикоагулянтами является кумарин-индуцированный некроз кожи — результат капиллярных тромбозов и интерстициальных кровотечений. Эти проявления связаны с кумарин-индуцирован-

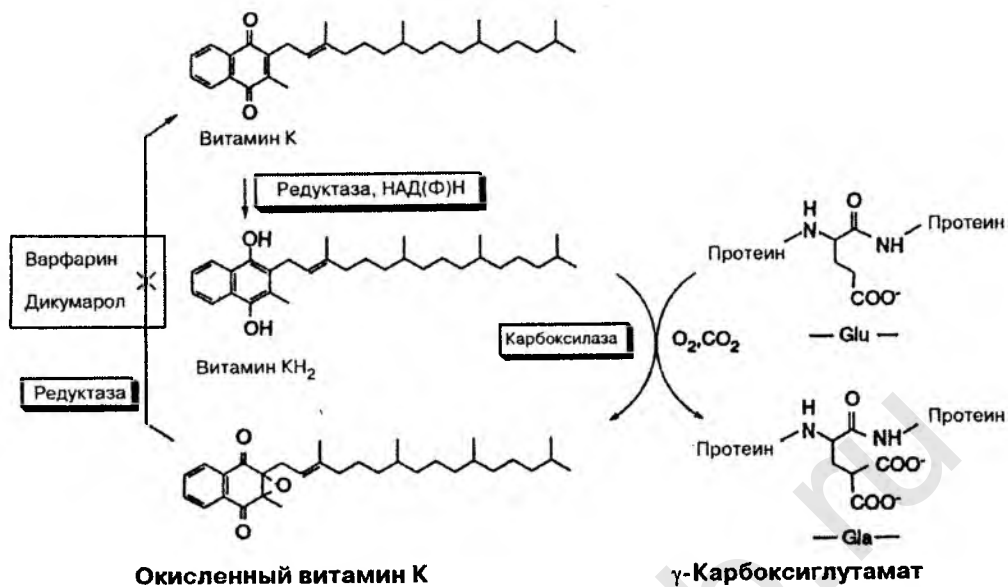


Рис. 4. Цикл витамина К

Витамин К-зависимое карбоксилирование ВКЗ — протеинов, катализируемое карбоксилазой, требует наличия гидрохинона витамина К (витамин К₂), молекулярного кислорода, углекислого газа и пропептид — содержащей формы протеина. Карбоксилаза окисляет витамин К₂ до эпоксида, при этом стехиометрические количества глутаминовой кислоты карбоксилируется в *gla* (γ-карбоксиглутамат). Для повторения цикла должна происходить регенерация К₂ под действием редуктаз, которые могут быть ингибированы дикумаролом и варфарином, что лежит в основе терапевтического эффекта этих оральных антикоагулянтов.

ным дисбалансом между прокоагулянтными и антикоагулянтными ВКЗ-протеинами: время полужизни прокоагулянтных ВКЗ-протеинов относительно больше, чем антикоагулянтных в кровотоке. Такое парадоксальное гиперкоагуляционное состояние обычно развивается у пациентов с исходным дефицитом протеина С или S.

Некарбоксилированные формы протромбина (дез-γ-карбоксипротромбин) также обнаруживаются в плазме больных с раком печени и являются одним из маркеров гепатоцеллюлярной карциномы. Это может быть связано с дефицитом витамина К при опухоли.

Биосинтез и секреция ВКЗ-протеинов изучается в культурах ткани печени и почек. Было выявлено, что витамин К повышает секрецию ВКЗ-протеинов. В присутствии варфарина некарбоксилированные формы протеинов накапливаются в эндоплазматической сети клеток, где селективно расщепляются путем протеолиза. Вышеизложенное объясняет, почему при терапии непрямыми антикоагулянтами обнаруживаются не только некарбоксилированные формы, но и сниженное количество циркулирующих ВКЗ-протеинов.

Gla-домен

Первые почти 50 остатков ВКЗ-протеинов образуют *gla*-домен, который содержит от 9 до 12 *glu*-остатков, карбоксилирующихся в *gla*, находящихся вблизи короткого участка из 3 последующих ароматических аминокислот. *Gla*-домен вступает во множественную связь с Ca²⁺, что ведет к конформационным изменениям и способности связываться с отрицательно заряженными фосфолипидными мембранами. Эти события необходимы для проявления биологической активности *gla*-доменом. Множественные исследования показали, что *gla*-домен/ароматический аминокислотный участок необходим для связывания с мембраной.

Долгое время существовало мнение, что Ca^{2+} образует «мостики» между карбоксильными группами glu -остатков и отрицательно заряженными фосфатными группами фосфолипидных мембран. Однако трехмерная структура Ca^{2+} -связанного glu -домена делает эту теорию «мостика» несостоятельной. Так, в молекуле фрагмента 1 протромбина, содержащей Ca^{2+} -связанный glu , множественные ионы Ca^{2+} находятся в области карбоксильных остатков glu , формируя, таким образом, внутренний ряд молекулы, что делает неспособной эту молекулу растворяться, а, следовательно, и неспособной к образованию мостиков с фосфолипидной мембраной. Подобным же образом, NH_2 -концевые glu -остатки расположены на внутренней поверхности Ca^{2+} -связанного glu -домена фактора IX.

Предполагается, что Ca^{2+} индуцирует экспозицию гидрофобных остатков glu -домена, что является важным для связывания с фосфолипидами. Вдобавок к функции связывания с мембранами, glu -домен играет доминирующую роль в специфическом связывании факторов IX, X и протеина C с уникальными рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток.

EGF-домены

Факторы IX, X, VII и протеин C содержат по 2 EGF-домена; протеин S — 4 EGF-домена. NH_2 -концевые EGF (EGF1) домены факторов IX, X, протеина C и протеина S содержат один высокоаффинный Ca^{2+} -связывающий участок. Ca^{2+} -связывающие участки функционально важны, так как BK3-протеины подвергаются мутации в EGF1 с разрушением Ca^{2+} -связывающих участков, обладают низкой биологической активностью. Связывание с Ca^{2+} вызывает локальные конформационные изменения в EGF1-домене и частично в NH_2 -конце. Ca^{2+} -связанный EGF1 играет важную роль во взаимодействии протеин-протеин между BK3-протеинами. C-концевой EGF (EGF2) домен осуществляет множество межмолекулярных взаимодействий со смежным SP-доменом. EGF2-домены BK3-протеинов вовлечены в процесс их связывания с соответствующими кофакторами.

Серин-протеазный домен (SP-домен)

SP-домен BK3-протеинов имеет в своем составе последовательность гомологичную трипсину и химотрипсину. Гомологичность особенно прослеживается в участках, смежных с Asp-His-Ser остатками, заключающих в себе каталитическую триаду. Это предохраняет соответствующее локальное окружение от активного гидролиза пептидных связей.

Кливаж одной или двух связей в активационном участке является решающим событием при превращении зимогена в активный фермент. В процессе активационного кливажа образуется новая α -аминогруппа, которая формирует водородную связь с карбоксильной группой аспарагиновой кислоты, локализирующаяся обычно в NH_2 -концевой области активного участка серина. Эта связь необходима для стабилизации активной конформации фермента. SP-домен фактора IX, X, VII и протеина C содержит Ca^{2+} связывающий участок гомологичный таковому в молекуле трипсина. Этот Ca^{2+} -связывающий участок функционально важен, однако его роль различна у разных протеинов.

Фактор IX (тромбопластиновый компонент плазмы, PTC; фактор Кристмасса)

Фактор IX, называемый также фактором Кристмасса или гемофилии В, является пунктом конвергенции двух путей коагуляции и активируется соответственно обоими путями — как внешним, так и внутренним. Средняя концентрация фактора IX в плазме составляет 5 мкг/мл; активность фактора IX и уровень его антигена с возрастом также возрастает. Врожденный дефицит фактора IX является причиной гемофилии В — одного из наиболее распространенных врожденных заболеваний, проявляющихся кровотечением. Время циркуляции фактора IX —

24 часа. В отличие от других ВКЗ-протеинов только 30—50% фактора IX восстанавливается сразу после инфузии плазмы, так как часть фактора IX связывается с сосудистым эндотелием из-за высокой связывающей активности эндотелиальных клеток по отношению к фактору IX.

Ген/экспрессия гена

Ген, кодирующий фактор IX человека локализован в десятой хромосоме, недалеко от гена фактора VIII. Он содержит 8 экзонов и 7 интронов.

В настоящее время идентифицирован подтип гемофилии В, называемый гемофилией В Leiden; при этом уровень фактора IX постепенно начинает увеличиваться в постпубертатном возрасте или после назначения тестостерона, что способствует уменьшению кровотечений. Гемофилия В Leiden возникает в результате точечной мутации в начале транскрибируемого участка гена и вызывает выраженный или средний дефицит фактора IX-антигена и снижение активности. Предполагается, что причиной постпубертатного улучшения состояния и выздоровления при гемофилии В Leiden является наличие андроген-чувствительного элемента в гене, кодирующем фактор IX.

Биохимия

Фактор IX ($M_r = 57\ 000$) является одноцепочечным гликопротеином из 415 остатков, содержащим *gla*-домен, два *EGF*-домена и *SP*-домен. 17% веса молекулы составляют углеводы, содержащие *O*-связанный сахар у Ser53 и Ser61 в *EGF1*-домене, и *N*-связанный и *O*-связанный олигосахариды в активационном участке пептида у Asn157, Asn167, Thr159 и Thr169. Оба фактора — IX, XIa — обратимо связываются с отрицательно заряженными фосфолипидными мембранами в присутствии Ca^{2+} . Связывание с фосфолипидами обеспечивают *gla*-домен/гидрофобный участок, которые подвергаются Ca^{2+} -индуцированным конформационным изменениям, необходимым для связывания с мембраной.

Активация

Фактор IX активируется в результате последовательного протеолиза двух внутренних пептидных связей. Физиологический активатор в первую очередь расщепляет связь Arg145-Arg146, что ведет к образованию транзиторной промежуточной формы — фактора IX α , не обладающего свертывающей активностью и состоящего из NH₂-концевой легкой цепи и C-концевой тяжелой цепи, связанных дисульфидной связью. Последующий кливаж между Arg180-Val181 у NH₂-конца тяжелой цепи ведет к образованию фактора IX α b и активационного пептида из 35 остатков. Оба кливажа необходимы для генерации полной активности фактора IX α , а единичная мутация Arg145 или Arg180 связана с гемофилией В. Кливаж у Arg180 необходим для формирования каталитически активного участка, в то время как кливаж у Arg145 связан с повышением аффинности к своему кофактору VIIIa. Остатки *gla*-, *EGF1*-, *EGF2*- и *SP*-доменов фактора IX α b обеспечивают тесную связь с фактором VIIIa. *EGF1*-домен фактора IX α b обеспечивает связывание с фактором X. Физиологические активаторы по-разному действуют на фактор IX, так как его *EGF1*-домен вовлечен в процесс активации факторами VIIIa-TF, но не участвует в активации фактором IX α .

Функции фактора IX α и регуляция

Фактор IX α активирует фактор X в реакции, которая ускоряется в присутствии Ca^{2+} , анионных фосфолипидных мембран и кофакторного протеина — фактора VIIIa. Фактор IX α образует Ca^{2+} -зависимый комплекс с мембран-связанным фактором VIIIa, способствуя образованию теназного комплекса, который активирует фактор X в 10^7 раз быстрее, чем фактор IX α сам по себе.

На сегодняшний день существует следующая модель образования теназного комплекса (рис.5). Фактор IX α , наоборот имеет дугообразную выпуклую форму, связывается с мембран-связанным фактором VIIIa, имеющим вогнутую форму в

области участка, взаимодействующего с фактором IX α β , содержащим gla-, EGF1- и EGF2-домены легкой цепи, что обеспечивает тесное межмолекулярное взаимодействие. Фактор X, имеющий подобную же дугообразную форму также сверху покрывает мембран-связанный фактор VIIIa, который заставляет активироваться участок фактора IX α β , ответственный за активацию фактора X, после чего образование теназного комплекса считается завершенным.



Рис. 5. Образование теназного комплекса (X-аза).

Энзим фактора IX α β и субстрат фактора X связываются через gla-домен с поверхностью мембраны. Фактор IX, имея дугообразную выпуклую форму, связывается с мембран-связанным фактором VIIIa, имеющим аналогичную форму в области участка, взаимодействующего с фактором IX, содержащим gla-, EGF1- и EGF2 — домены легкой цепи, что обеспечивает тесное межмолекулярное взаимодействие. Фактор X, имеющий подобную же дугообразную форму также сверху покрывает мембран-связанный фактор VIIIa, который заставляет активироваться участок фактора IX, ответственный за активацию фактора X, после чего образование теназного комплекса считается завершенным.

Основным ингибитором фактора IXa в плазме является антитромбин III.

Факторы IX и IXa образуют насыщенные и обратимые связи с активированными тромбоцитами и эндотелиальными клетками, что обусловлено, в частности, gla-доменом. Связанный с клеткой фактор IXa участвует вместе с фактором VIIIa в активации фактора X (внутренняя теназа). Теназная активность на поверхности эндотелиальных клеток является «конституционально» обусловленной и не повреждается при клеточной активации.

Хотя фактор IXa связывается с рецепторами независимо от фактора VIII, их структура до сих пор не идентифицирована.

Фактор X (фактор Стюарта-Прауэра)

Фактор X, известный также как фактор Стюарта или фактор Стюарта-Прауэра, подобно фактору IX, активируется как внутренним, так и внешним путем свертывания. Концентрация его в плазме в норме составляет в среднем 10 мкг/мл. Дефицит фактора X является очень редким расстройством, сопровождающимся геморрагиями. Период биологической полужизни фактора X 30—50 часов.

Ген/экспрессия гена

Ген фактора X находится на 13 паре хромосом и связан 3'-концом с геном фактора VII. Проксимальный элемент связывается с так называемым «печень-специфическим» фактором транскрипции HNF4. Он представлен последовательностью CTTTGC и присутствует также в аналогичных элементах промоторов факторов VII и IX, являясь частью комплекса распознающего участка для HNF4. Следующий элемент содержит последовательность CCAAT, которая связывает фактор транскрипции NF- γ . Наличие как фактора HNF4, так и NF γ является решающим в регуляции экспрессии фактора X.

Биохимия

Фактор X ($M_r = 56\ 000$) циркулирует в форме дисульфидно-связанного двух-цепочечного гликопротеина. NH₂-концевая легкая цепь из 139 остатков ($M_r = 17\ 000$) содержит gla-домен и два EGF-домена. С-концевая тяжелая цепь из 306 остатков ($M_r = 42\ 000$) содержит участок активационного пептида и SP-домен. Фактор X содержит 15% углеводов, которые локализованы исключительно в области активационного пептида и связаны O-гликозидной связью с Thr17 и Thr29, а также N-гликозидной связью с Asn39 и Asn49. Ca²⁺-связанный gla-домен осуществляет важные внутримолекулярные взаимодействия с EGF1, EGF2 и SP-доменами.

Активация

Фактор X активируется как внешним, так и внутренним путями. В обоих случаях реакция катализируется Ca²⁺-зависимым мембран-связанным макромолекулярным комплексом, состоящим из факторов IXa и VIIIa (внутренняя теназа) и/или из факторов VIIa и TF (внешняя теназа). Оба активатора расщепляют фактор X между Arg52 и Ile53 у NH₂-конца его тяжелой цепи с образованием фактора Xa и активационного пептида из 52 остатков. Фактор X связывается с мембраной до его взаимодействия с обоими активирующими комплексами. Сахарные остатки в активационном участке усиливают активацию фактора X как внешними, так и внутренними теназными комплексами.

Функция

Фактор Xa активирует протромбин в реакции подобной активации фактора X фактором IXαβ. Фактор Xa в присутствии Ca²⁺ и анионных фосфолипидов образует 1:1 стехиометрический комплекс с фактором Va. Образованный протромбиназный комплекс активирует протромбин почти в 10⁵ раз быстрее, чем только фактор Xa сам по себе.

Функционирующий протромбиназный комплекс, собранный на поверхности фосфолипидов, эндотелиальных клеток, активированных тромбоцитов, моноцитов и нейтрофилов и микрочастиц, выделяемых из тромбоцитов и эндотелиальных клеток, экспонирует тромбин или протеин комплемента C5b-9.

Относительное значение сборки протромбиназного комплекса на различных поверхностях в зависимости от патологических процессов остается важным вопросом, на который еще не дан ответ.

Клеточные взаимодействия факторов X/Xa

Хотя мембран-связанные факторы V/Va являются высокоаффинными лигандами для фактора Xa на поверхности различных клеток, факторы X и Xa обладают способностью дополнительно связываться непосредственно с макромолекулами клеточных поверхностей. Интересен тот факт, что фактор Xa является триггером внутриклеточных сигнальных процессов, как повышение уровня цитозольного Ca²⁺ в эндотелиальных клетках, стимуляция гладкомышечных клеток и пролиферация лимфоцитов. Идентифицированы 2 дополнительных лиганда для факторов X и Xa. Фактор X (но не Xa) связывается с АДФ-стимулированными моноцитами через моноцит/миелоидный специфический адгезивный рецептор Mac-1, который превращает фактор X в Xa независимо от фактор VII-TF комплекса в результате клеточно-опосредованной прокоагулянтной активности. Недавно был идентифицирован и рецептор фактора Xa, названный протеазным рецептором-1 эффекторных клеток (EPR-1), который был обнаружен на поверхности моноцитов и других эффекторных клетках иммунной системы. Фактор Xa, связываясь с EPR-1, участвует в активации протромбина (независимо от экзогенного фактора V/Va), а также функционирует как костимулятор пролиферации лимфоцитов, что обусловлено двумя разными доменами EPR-1 молекулы.

Регуляция фактора Ха

AT III и α 1-PI являются основными ингибиторами фактора Ха в плазме. Однако фактор Ха защищен от действия AT III, когда связан в протромбиназном комплексе на мембранной поверхности. TFPI также нейтрализует фактор Ха-активность, а комплекс Ха-TFPI расщепляется клетками различных типов.

Протромбин (фактор II)

Протромбин является предшественником тромбина. Случаи выраженного врожденного дефицита этого фактора еще не описаны и, вероятно, такой дефицит несовместим с жизнью. Концентрация протромбина в плазме составляет 100 мкг/мл, время полужизни — 96 часов. Протромбин синтезируется не только в печени, но и в мозге. Помимо прокоагулянтной функции, протромбин оказывает значительный эффект на нервные клетки, участвуя в дифференцировке и поддержании структуры нервной сети в мозге.

Биохимия

Ген протромбина человека располагается на 11 паре хромосом и состоит из 14 экзонов и 13 интронов. Основной регуляторный участок гена находится в области стартового участка транскрипции, который связан с соседним участком транскрипции печеночного ядерного фактора 1 (HNF1).

Молекула протромбина ($M_r = 72\ 000$) представляет собой одноцепочечный гликопротеин из 579 аминокислот и 8% углеводов. Структура доменов его молекулы отличается от таковой других ВКЗ-протеинов: NH₂-концевая половина состоит из gla-домена и двух крингл-доменов, С-концевая половина — SP-домен. Из трех N-связанных сахарных цепей, 2 находятся в области крингл-доменов и 1 — в области SP-домена.

Подобно другим ВКЗ-протеинам, Ca²⁺-зависимое связывание протромбина с анионными поверхностями опосредовано gla-доменом и гидрофобным участком его молекулы. Второй крингл-домен опосредует связывание протромбина с фактором Va и Ха, что, в свою очередь, способствует активации протромбина с образованием протромбиназы. (Фактор Ха-фактор Va-фосфолипид-Ca²⁺).

Активация и функция

Протромбиназа превращает протромбин в тромбин путем последовательного кливажа двух связей. В первую очередь фактор Ха расщепляет связь между Arg320-Ile321 с образованием промежуточной дисульфидно связанной двухцепочечной формы — меизотромбина. Последующий протеолиз между Arg271-Thr272 ведет к отщеплению NH₂-концевой половины молекулы, состоящей из gla- и двух крингл-доменов (фрагмента F1+2 протромбина) и образованию α -тромбина, состоящего из короткой А-цепи, дисульфидно-связанной с В-цепью, содержащей активный участок из остатков His, Asp, Ser. Оба кливажа (у Arg 320 и Arg271) необходимы для формирования полного спектра тромбиновой активности.

Меизотромбин может проявлять определенную антикоагулянтную активность, участвуя в активации протеина С; однако прокоагулянтная функция его значительно страдает (образование фибриногена, активация фактора V, активация тромбоцитов). Фрагмент F1+2 — маркер образования тромбина — с успехом применяется в мониторинге гиперкоагуляционных состояний.

Фактор VII (проконвертин; конвертин)

Фактор VII является стержневым в инициации коагуляции вместе с кофактором TF. Концентрация FVII в плазме составляет 0,5 мкг/мл. Повышенный уровень фактора VII коррелирует с высоким содержанием жиров в диете. Многочисленные эпидемиологические исследования показали, что повышенный уровень FVII в плазме является независимым фактором риска возникновения ише-

мических кардиоваскулярных проявлений. Период полужизни FVII составляет всего 5 часов. Плазма здоровых индивидуумов содержит небольшие количества активированного фактора VII (FVIIa). Время полужизни FVIIa — 2,4 часа. Изолированный врожденный дефицит FVII довольно редкое явление, проявляется кровотечениями.

Экспрессия гена и биохимия

Ген фактора VII располагается на 13 паре хромосом, рядом с геном фактора X. Экспрессия м-РНК фактора VII ограничена печенью и превосходит таковую фактора X.

FVII человека ($M_r = 50\ 000$) является одноцепочечным гликопротеином из 406 аминокислот. Он состоит из NH₂-концевого gla-домена, двух EGF-доменов, участка активационного пептида и SP-домена. Специфический участок C-концевой половины молекулы обеспечивает взаимодействие с фактором X, в то время как gla-, EGF-, SP-домены — взаимодействие с TF.

Активация

Фактор VII активируется в фактор VIIa путем кливажа одной связи между Arg 152 и Ile 153, с образованием NH₂-концевой легкой цепи из 152 аминокислот ($M_r = 30\ 000$). Фактор VII может активировать несколько энзимов *in vitro*, включая факторы XIIa, IXa, Xa, а также аутоактивацию фактором VIIa. Аутоактивация в высокой степени зависит от TF и требует его фиксации на мембранном участке.

Важность всех активаторов фактора VII еще не выяснена, однако известно, что при дефиците фактора IX снижается уровень фактора VII. Это свидетельствует о роли FIX в активации FVII, по крайней мере, в базальном состоянии. Кроме того, FIX (но не факторы XII и XI) вовлекаются в активацию FVII после приема пищи с высоким содержанием жиров.

FVII может быть активирован также недавно открытой сериновой мембран-связанной протеазой, гепсином, который возможно вовлечен в процессы формирования фибрина и тромбообразования при злокачественных новообразованиях.

Функция

Фактор VII является сериновой протеазой, которая активирует факторы IX и X. Эти реакции требуют наличия анионных фосфолипидов и Ca²⁺ и ускоряются тканевым фактором TF. Подобно внутреннему комплексу активации фактора X (внутренняя тененаза), фактор VII связывается в соотношении 1:1 с мембран-связанным TF, формируя высокоэффективный комплекс, активирующий факторы IX и X.

Регуляция

Хотя большинство коагуляционных энзимов ингибируются ATIII в присутствии гепарина, фактор VIIa ингибируется в этих условиях незначительно. Однако недавно было обнаружено, что ATIII-гепарин может в достаточной степени ингибировать FVIIa, когда последний связан с TF. Вторым механизмом, регулирующим фактор VIIa/TF-путь, является ингибция TFPI процесса активации фактора X комплексом VIIa-TF, как только образуются небольшие количества фактора X.

Прокоагулянтные кофакторы

Тканевой фактор (TF; тканевой тромбопластин)

TF является интегральным мембранным рецептором для факторов VII и VIIa и принадлежит семейству интерферон/цитокиновых рецепторов. В нормальных условиях TF не экспрессирован на поверхности клеток, контактирующих с кровью, на эндотелиальных клетках или лейкоцитах периферической крови, однако TF экспрессирован на фибробластах и пероцитах под эндотелиальной поверхностью сосудов и вступает во взаимодействие с кровью при повреждении эндотелия. TF также обнаружен в кератиноцитах эпидермиса кожи, фибробластах капсул внутренних органов и эпителиальных клетках гастроинтестинального и респираторного трактов. Высокий уровень TF-экспрессии имеет место в мозге, кардиальных

миоцитах и почечных клубочках. Таким образом, TF обеспечивает как бы «гемостатическую обертку» кровеносных сосудов и внутренних органов, а также кожи. Хотя в норме эндотелиоциты и макрофаги не экспрессируют TF, экспрессия TF ими может быть индуцирована под действием различных агонистов, как бактериальный эндотоксин, цитокины (IL-1, TNF- α и др.). Моноциты экспрессируют TF *In vivo* в таких клинических ситуациях как менингококцемия, перитонит, рак и пр. TF-экспрессия обнаружена в атеросклеротических бляшках и индуцируется артериальными гладкомышечными клетками при повреждении баллонным катетером. Таким образом, TF вовлекается во многие патологические процессы, связанные с нарушениями коагуляции и тромбозами.

TF совместно с FVII составляет внешний путь свертывания, «ответственный» за активацию факторов IX и X, с образованием небольших количеств активированных их форм в базальном состоянии. В то же время активация внешнего пути становится критической в условиях грамотрицательного сепсиса и ведет к коагулопатии.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген, кодирующий TF, состоит из 7 экзонов и 5 интронов. TF (Mr = 45000) является одноцепочечным гликопротеином, содержащим 263 аминокислотных остатка. Молекула имеет особую структуру, содержащую участки-модули. NH₂-концевой участок молекулы (с 1 по 219 остаток) содержит экстрацеллюлярный домен, который имеет две дисульфидные петли и N-связанную углеводную цепь у аспарагиновых остатков в позициях 11, 124 и 137. С-концевая дисульфидная петля необходима для осуществления TF-активности, но для этого нет необходимости в конформационных изменениях углеводной цепи. Трехмерная структура экстрацеллюлярного домена недавно была расшифрована. Он состоит из двух модулей (N-модуль и C-модуль), которые располагаются под углом 125° друг к другу. Два модуля имеют относительно широкую поверхность раздела, состоящую из тесно укомплектованных гидрофобных «ядер», включая почти 12 остатков. TF-остатки составляют обширный участок экстрацеллюлярного домена, который обеспечивает связь и противостояние «сторон угла» молекулы.

Функция

TF образует Ca²⁺-зависимый мембрано-связанный 1:1 комплекс с факторами VII/VIIa, который активирует факторы IX и X. TF связывается с фактором VII или VIIa с высокой avidностью. Связываясь с фактором VII, TF повышает степень активации фактора VII различными энзимами. В данном случае TF выступает в роли аллостерического регулятора, повышая каталитическую активность энзимов как в отношении небольших пептидов, так и макромолекулярных субстратов.

Регуляция

TF играет важнейшую, если не основную роль как в генерации фактора VIIa, так и его функционировании. Однако регуляция степени экспрессии тканевого фактора является в то же время и проявлением контроля внешнего пути свертывания. Первый уровень регуляции связан с наличием TF, обусловленным степенью экспозиции TF в результате эндотелиального повреждения. Как уже указывалось выше, экспрессия TF индуцируется также и агонистами стимуляции моноцитов и эндотелиальных клеток. Липополисахарид грамотрицательных микробов (ЛПС) и воспалительные цитокины являются важнейшими индукторами TF-экспрессии. В противоположность двум другим цитокинам (IL-1 и TNF- α) интерлейкин-4 (IL-4) и интерлейкин-13 (IL-13) оказывают защитное действие и препятствуют TF-индукции липополисахаридом (ЛПС) и IL-1. Второй уровень регуляции — это модуляция активности комплекса FVII/VIIa-TF, который повреждается в условиях фосфолипидного окружения. Хотя этот комплекс формируется на нейтральных фосфолипидных мембранах, он является относительно нефункционирующим по сравнению с комплексом, фиксированным на анионных мембранах, содержа-

щих фосфатидилсерин, которые экспонируются после стимуляции агонистами. Отсюда следует, что TF-путь является более мощным инициатором коагуляции на поверхности стимулированных клеток по сравнению с поверхностями, экспонирующимися при повреждении тканей.

Третьим уровнем контроля является ингибция активности комплекса VIIa-TF ингибиторами протеаз, где важную роль играют TFP1 и комплекс ATIII-гепарин.

Фактор VIII (коагуляционный фактор VIII — фактор VIII:C; антигемофильный фактор, АНФ).

Фактор VIII и фактор фон Виллебранда (vWF) циркулируют в форме нековалентного комплекса (фактор VIII-vWF), 2% веса которого составляет фактор VIII. Долгое время этот комплекс считали одним белком, что внесло номенклатурную путаницу. Так, часть молекулы, ответственную за коагуляционную активность, аномальную у больных гемофилией А называли коагуляционной частью фактора VIII (VIII:C), а фактор VIII-связанный антиген (FVIII:Rag) — фактором фон Виллебранда (vWF). В настоящее время установлено, что и фактор VIII:C и vWF — два самостоятельных протеина, кодируемых разными генами и обладающих уникальной биологической активностью. FVIII функционирует как кофактор, усиливающий активацию фактора X. vWF выполняет транспортную функцию в отношении фактора VIII и играет важную роль в функции тромбоцитов. Концентрация фактора VIII в плазме 0,1мкг/мл, однако она может повышаться при назначении вазопрессина. Время полужизни фактора VIII составляет 15 часов в присутствии vWF и соответственно уменьшается в его отсутствие. Врожденный изолированный дефицит фактора VIII является причиной гемофилии А, которая наследуется сцеплено с X-хромосомой и проявляется кровотечениями; заболеваемость ее составляет 2—3 мужчины на 10000.

Ген/экспрессия гена

Ген, кодирующий фактор VIII локализован на 10 хромосоме, занимая 0,1% ее. Он состоит из 26 экзонов и 25 интронов. м-РНК фактора VIII обнаружена в различных типах клеток и тканей. Она относительно избыточно представлена в клетках печени, селезенки, лимфатических узлов и не выявляется в клетках циркулирующей крови и эндотелиальных клетках. Хотя гепатоциты считаются основным местом синтеза, вероятно, существуют и другие источники фактора VIII.

FVIII (Mr = 330 000) является одноцепочечным гликопротеином из 2332 аминокислот, синтезируемым в форме предшественника с 12-аминокислотным сигнальным пептидом. Аминокислотная последовательность фактора VIII гомологична таковой фактора V. Посттрансляционная модификация FVIII включает присоединение углеводов к аспарагину, серину и треонину, и сульфатирование тирозиновых остатков. FVIII состоит из 3 типов доменов, расположенных в следующей последовательности от NH₂-конца: A1-A2-B-A3-C1-C2 (рис. 3). Каждый A-домен включает до 350 аминокислотных остатков, около 30% которых гомологичны друг другу и медь-связывающему белку церрулоплазмину. В-домен содержит 983 аминокислоты и 18 N-связанных гликозилированных участков. В-домен считается связующим участком. Он удаляется во время протеолитического процессинга фактора VIII в активную форму (FVIIIa). С-домены включают до 150 остатков, из которых 20% гомологичны друг другу.

FVIII, полученный из плазмы или супернатантов клеточных культур, является гетеродимером, включающим тяжелую и легкую цепи, нековалентно связанные с участием иона металла (рис. 3). Гетерогенная тяжелая цепь от NH₂-конца содержит домены A1, A2 и варианты B-домена. Легкая цепь (Mr = 30 000) от C-конца молекулы FVIII содержит короткий кислотный участок из доменов A3, C1 и C2.

Уже идентифицированы участки фактора VIII, отвечающие за связь с различными макромолекулами. Участок, ответственный за связь с vWF локализован на протяжении 14 остатков в кислотном NH₂-концевом регионе легкой цепи FVIII. Сульфатирование Tyr1680 в этом регионе важно для связывания с vWF.

Участки тяжелой (A2-домен) и легкой цепей фактора VIII участвуют в связывании с FIXa. FVIII и FVIIIa связываются с фосфолипидами. Связь FVIII с фосфатидилсодержащими мембранами обеспечивает C2-домен.

Активация

Воздействие фактора Ха или протромбина в каталитических количествах на комплекс фактор VIII-vWF ведет к активации FVIII до FVIIIa. Это происходит по принципу положительной обратной связи, так как FVIIIa усиливает активацию фактора X почти в 10 000 раз, в то время как фактор VIII самостоятельно таким эффектом не обладает. Максимальная активация FVIII происходит при кливаже трех пептидных связей: 2 связей в тяжелой цепи после Arg740 у C-конца A2-домена и Arg372 между A1 и A2-доменами, а также 1 кливажа в легкой цепи после Arg1689.

Важность этих кливажей подтверждается у больных гемофилией A с мутацией остатков 372 или 1689; при этом имеет место нормальный уровень FVIII в плазме, однако активность его отсутствует. Активационный кливаж у Arg1689, в результате которого происходит отделение кислотного участка NH₂-конца легкой цепи, препятствует связыванию FVIII с vWF. Активность FVIII чрезвычайно лабильна и может спонтанно исчезать, что коррелирует с диссоциацией молекулы с образованием субъединицы с M_r = 43 000 и имеет место в физиологических условиях.

Функция

FVIII является кофактором, который повышает степень фактор IXa-катализируемой активации фактора X. FVIIIa, связываясь с отрицательно заряженной мембраной, функционирует как высокоаффинный рецептор для фактора IX, формируя с ним комплекс 1:1. Эта связь почти в 100 раз прочнее, нежели только между фактором IXa и отрицательно заряженным фосфолипидом.

Регуляция

Важным аспектом регуляции FVIII является его взаимодействие с vWF, который пролонгирует время его полужизни, стабилизирует активность FVIII, повышает его восприимчивость к активации тромбином, ингибирует протеолитическую деградацию активированным протеином C (APC), а также предотвращает связывание с отрицательно заряженными фосфолипидными пузырьками и активированными тромбоцитами.

Кофакторная активность диссоциированного фактора VIIIa регулируется несколькими различными путями. Активность FVIIIa быстро падает при диссоциации одной из его субъединиц, если не вовлечен в теназный комплекс, который обладает стабилизирующим эффектом. Этот комплекс регулируется путем инактивации APC, который осуществляет кливаж после Arg336 (в A1-домене) и Arg562 (в A2-домене); более поздний кливаж в большей степени корригирует с инактивацией. Таким образом, FVIIIa может также инактивироваться тромбином, фактором Ха и плазмином, хотя физиологическая значимость этих реакций до сих пор окончательно не ясна.

Фактор V

FV является одноцепочечным гликопротеином, который присутствует в плазме и α-гранулах тромбоцитов. FV представляет собой кофактор, структурно и функционально гомологичный фактору VIII. Его активность повышается при ограниченном протеолизе тромбином, а также фактором Ха. Инактивируется же фактор Va в процессе APC-катализируемого протеолиза. Средняя концентрация FV в нормальной плазме 7 мкг/мл. Примерно 18—25% фактора в крови связаны с тромбоцитами. Время полужизни биологически активного FV — от 15 до 36 часов.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген FV состоит из 25 экзонов и 24 интронов и локализован на 1 хромосоме. Структура его весьма схожа со структурой гена FVIII. FV синтезируется гепатоцитами, лимфоцитами и мегакариоцитами.

FV (Mr = 330 000) является одноцепочечным гликопротеином из 2196 аминокислотных остатков и 13% углеводов, содержащих O-связанные и N-связанные олигосахариды. Отдельные тирозиновые остатки сульфатированы, что важно для активации FV тромбином. FV будучи гомологичным фактору VIII, состоит из следующих доменов: A1-A2-B-A3-C1-C2. FV и FVa проявляют высокую аффинность и связываются с анионными фосфолипидными мембранами в присутствии ионов металлов. Связь с фосфолипидами обеспечивается NH₂-концевым участком C2-домена.

Активация

FV активируется фактором Ха или тромбином в Ca²⁺-и фосфолипид-зависимой реакции. Тромбин вызывает протеолиз молекулы FV после Arg709, Arg1018 и Arg1545 кливажа. Все три кливажа необходимы для полной экспрессии фактором Va кофакторной активности. FVa является гетеродимером, содержащим NH₂-концевую тяжелую цепь (Mr = 104000) и C-концевую легкую цепь (Mr = 74/71 000), которые ассоциированы в нековалентный, бивалентно-катионно-зависимый комплекс.

Функция

FV является предшественником фактора Va и кофактором для активации FXa протромбина. Мембран-связанный FVa функционирует как «рецептор» для фактора Ха, который обратимо связывается с ним в присутствии Ca²⁺ с образованием 1:1 стехиометрического комплекса, называемого протромбиназным комплексом (см. выше в подглаве «Фактор X»).

Регуляция фактора Va и фактор V Leiden

Фактор Va инактивируется активированным протеином С (APC) в реакции с обязательным участием Ca²⁺ и отрицательно заряженных мембранных поверхностей и включает кливаж тяжелой цепи фактора Va после Arg306, Arg506 и Arg679. Будучи ассоциированным с фактором Ха в протромбиназном комплексе, фактор Va защищен от инактивации APC. Протеин S (кофактор APC) обладает небольшим эффектом в отношении инактивации фактора Va активированным протеином С. Однако протеин S повышает инактивацию фактора Va активированным протеином С в присутствии фактора Ха.

В 1993 г Dahlbaeck и соавт. обнаружили, что добавление APC к плазме пациентов с врожденной тромбофилией не вызывает ожидаемого удлинения времени свертывания. Такая резистентность к активированному протеину С («APC-resistance») оказалась связанной с точечной мутацией гена, кодирующего фактор V, в результате чего Arg506 в молекуле фактора V замещается на Gln с образованием так называемого фактора V Leiden. FV Leiden обладает нормальной прокоагулянтной активностью, однако значительно слабее инактивируется APC по сравнению с нормальным фактором V. Частота фактор V Leiden мутации составляет около 5% среди Кавказской расы и весьма вариабельна среди других этнических групп.

Фактор V Leiden является наиболее частым врожденным фактором риска тромбозов, как свидетельствуют последние исследования.

Фактор фон Виллебранда (vWF)

vWF — гликопротеин плазмы, который принимает участие как в процессе коагуляции, так и адгезии и агрегации тромбоцитов. vWF необходим также для агрегации тромбоцитов в присутствии антибиотика ристомицина, в связи с чем его еще называют ристомициновым кофактором (фактор VIII:RCo). Концентрация vWF в плазме составляет около 10 мкг/мл. Врожденный дефицит vWF, «визитной карточкой» которого является удлинение времени кровотечения, относится к наиболее часто встречаемому генетически обусловленному расстройству гемостаза геморрагического характера. Заболеваемость болезнью Виллебранда наблюдается от 125 до 8000 на миллион в общей популяции.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген, кодирующий vWF локализован на 12 хромосоме. Регуляторный участок его содержит типичную последовательность оснований TATA и CCAAT-последовательность для инициации транскрипции. Экспрессия vWF ограничена эндотелиальными клетками и мегакариоцитами — предшественниками тромбоцитов, в связи с чем vWF относят к эндотелий-специфическим маркерам. vWF находится внутри эндотелиальных клеток в высоко специализированных органеллах, называемых тельцами Weibel-Palade, а также внутри α -гранул тромбоцитов. vWF также обнаружен в субэндотелиальной соединительной ткани.

Воздействие на эндотелий различных субстанций, включая тромбин, фибрин, гистамин, вазопрессин и протеин комплемента C5b-9 ведет к освобождению vWF из телец Weibel-Palade. Освобожденный vWF включает довольно большие мультимеры (M_r от 10 до 20x10⁶), которые обладают высокой биологической активностью в отношении адгезии тромбоцитов.

vWF является адгезивным гликопротеином, который циркулирует в крови в форме гетерогенного дисульфидно-связанного мультимера из субъединиц с молекулярной массой \approx 250 000, начиная от димера (массой \approx 500 000) вплоть до полимера из 80 субъединиц (M_r \approx 20x10⁶). vWF человека синтезируется в форме prepro vWF (M_r \approx 350 000) включающего сигнальную последовательность из 22 остатков, полипептид из 741 остатка и полипептид из 2050 остатков, который и представляет основную субъединицу зрелого протеина. Prepro vWF состоит из 4 типов доменов в следующей последовательности: D1-D2-D'-D3-A1-A2-A3-D4-B1-B2-C1-C2. Prepro vWF подвергается посттрансляционному процессингу, включающему протеолитическое удаление сигнального пептида и пропептида от NH₂-конца. Пропептид (M_r \approx 100000) состоит из D1-D2-доменов и присутствует в тельцах Weibel-Palade, где играет важную роль в мультимеризации димера vWF. vWF-пропептид был выделен из плазмы в комплексе с фактором VIII (VIII-vWF) и назван фон-Виллебранд-антигеном II.

Адгезивные свойства vWF обуславливают адгезию тромбоцитов в участке повреждения сосуда или в условиях сильного стресса. Адгезивные свойства vWF обусловлены наличием отдельных связывающих комплексов участков молекулы для компонентов субэндотелия (как коллаген) и для мембранных протеинов гликопротеина Ib и гликопротеина IIb/IIIa.

Функция

vWF осуществляет несколько функций в системе гемостаза. vWF является прокоагулянтным протеином, который функционирует как транспортёр фактора VIII и удлинняет время его полужизни в плазме. vWF также защищает FVIII от инактивации активированным протеином C и изменяет другие свойства FVIII. Кроме того, vWF является адгезивным протеином, который содействует образованию первичного тромбоцитарного сгустка, выступая в роли «моста» между тромбоцитами и макромолекулами субэндотелия. Хотя vWF в первую очередь связывается с коллагеном типа I субэндотелиального экстрацеллюлярного матрикса, связывание с другими молекулами, включая фибронектин и коллаген типа IV, также может быть весьма важным.

Тромбин (фактор IIa)

Тромбин является мультифункциональным энзимом, образующимся из протромбина в участке сосудистого повреждения. Он является конечным продуктом коагуляционного каскада, ответственным за образование и стабилизацию фибринового сгустка. Кроме того, тромбин способствует усилению коагуляционного пути через feed-back-(обратная связь) — активацию кофакторных протеинов, а также через активацию тромбоцитов. В то же время тромбин обладает отдельными эффектами на эндотелиальные клетки, препятствуя распространению сгус-

тка от поврежденных участков на интактный эндотелий. Эти эффекты включают способность тромбина усиливать антикоагулянтные и профибринолитические свойства поверхности эндотелиальных клеток, а также стимуляцию синтеза эндотелиальными клетками и освобождение субстанций, обладающих способностью к вазодилатации и ингибции тромбоцитов. Помимо основной роли в процессе коагуляции, тромбин участвует в воспалительной и пролиферативной фазах клеточного ответа на повреждение, и, таким образом, в заживлении тканей. Генерация и функция тромбина являются высоко отрегулированными процессами. В случае повреждения контролирующих процесс образования тромбина механизмов возрастает риск возникновения венозных и артериальных тромбозов. Вдобавок к этому, недавние исследования подтвердили, что тромбин вовлечен в процесс сосудистого повреждения при рестенозе после ангиопластики и при атеросклерозе.

Эффекты на коагуляцию

Тромбин является высокоспецифичным энзимом, биологическая активность которого зависит от функционально активных участков. Тромбин последовательно расщепляет связи между Arg16-Gly17 и Arg14-Gly15 в A α и B β -цепях фибриногена с освобождением фибринопептидов A и B из мономера фибрина. В результате происходит экспозиция участка мономера, необходимого для его спонтанной ассоциации с образованием сети для сгустка. С другой стороны, тромбин расщепляет одинарную связь в α -субъединице FXIII, который активизирует после этого трансглутаминазу. FXIIIa катализирует образование γ -глутамил- ϵ -лизил пептида, образующего перекрестные связи между соседними фибрин-мономерами и между фибрином и α 2-антиплазмином, фибронектином и другими молекулами экстрацеллюлярного матрикса, что механически укрепляет и защищает сгусток от диссоциации. Тромбин катализирует несколько реакций, ускоряя тем самым и потенцируя коагуляционный каскад, к которым относятся feed back активация кофакторных протеинов (факторы V, VIII), а также активация тромбоцитов. Тромбин является одним из самых сильных агонистов тромбоцитов, вызывающих секреторный ответ тромбоцитов с последующей их агрегацией. При этом происходит высвобождение содержимого гранул тромбоцитов, транслокация анионных фосфолипидов на поверхности тромбоцитов и генерация микрочастиц-дериватов тромбоцитов. Освобождение агониста аденозин дифосфата (АДФ) из α -гранул и экспозиция отрицательно заряженных фосфолипидов на поверхности тромбоцитов, адгезированных в области сосудистого повреждения, способствуют усилению коагуляционного ответа. Более того, тромбин вызывает секрецию vWF из эндотелиальных клеток, который способствует адгезии тромбоцитов и повышает активность FVIII, способствуя усилению коагуляционного каскада локально.

Тромбин также оказывает разнообразные эффекты в отношении эндотелиальных клеток, модулируя коагуляционный ответ. Это особенно важно в отношении участков, соседних с поврежденным эндотелием, где эндотелий остается интактным. Тромбин стимулирует синтез эндотелиальными клетками ингибитора тромбоцитов — простациклина (PGI₂), который синтезируется как эндогенно, так и активированными тромбоцитами из арахидоновой кислоты. Тромбин также стимулирует освобождение эндотелиальными клетками профибринолитического протеина — активатора плазминогена тканевого типа (t-PA), равно как и его основного ингибитора — ингибитора активатора плазминогена типа 1 (PAI-1), которые модулируют деградацию (расщепление) фибрина на поверхности клеток. Тромбин-стимулированные эндотелиальные клетки также продуцируют повышенное количество оксида азота NO (эндотелиальный релаксирующий фактор) — мощного вазодилатора и ингибитора тромбоцитов. Тромбин связывает на эндотелиальных клетках трансмембранный протеин тромбомодулин (TM), «включающий» способность тромбина активировать протеин C с образованием активированного протеина C (APC) — важнейшего антикоагулянта и противовоспалительного энзима (см. раздел «Протеин C»).

Эффекты, связанные с репарацией ткани

Сразу же после повреждения сосудистой стенки немедленно включается локализованный, интегрированный ответ тромбоцитов и коагуляционной системы, направленный на минимизацию кровопотери и повреждения ткани в короткий срок. Однако процессы заживления и репарации ткани длятся дольше и включают несколько фаз. Эти фазы включают:

- 1) повышенную сосудистую проницаемость и аккумуляцию клеток воспаления в области повреждения;
- 2) миграцию в область раны и пролиферацию гладкомышечных клеток, фибробластов и эндотелиальных клеток;
- 3) дифференцировку клеток и ремоделирование экстрацеллюлярного матрикса с целью восстановления тканевого повреждения.

Тромбин обладает множеством эффектов в отношении различных видов клеток, которые ответственны за нормальную репарацию тканей в ответ на повреждение. В считанные минуты тромбин вызывает усиление сосудистой проницаемости и индукцию эндотелиальными клетками адгезивных субстанций для лейкоцитов. Последнее обусловлено тромбин-индуцированной экспрессией протеина адгезии — Р-селектина (GMP-140, PADGEM-протеин, CD-62) — из секреторных гранул на поверхности эндотелиальных клеток, а также синтез фактора, активирующего тромбоциты (PAF) и проадгезивный фосфолипид. Тромбин индуцирует моноцитарный и нейтрофильный хемотаксис, который может быть индуцирован как хемотаксическим доменом молекулы самого тромбина, так и способностью тромбина индуцировать синтез и освобождение из эндотелиальных клеток MCP-1-хемотаксического фактора моноцитов. Тромбин также стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток, гладкомышечных клеток и фибробластов, а также стимулирует синтез и освобождение тромбоцитарного фактора роста — митогена гладкомышечных клеток — эндотелиальными и гладкомышечными клетками.

Роль тромбинового рецептора

Тромбиновый рецептор (TR) идентифицирован в тромбоцитах, эндотелиальных клетках, гладкомышечных клетках и фибробластах и опосредует многие клеточные эффекты тромбина. Тромбин-опосредованная активация клеток включает кливаж одинарной связи экстрацеллюлярного домена TR. В результате обнажается новый NH₂-концевой лиганд, который инициирует внутриклеточный сигнал. TR может быть активирован синтетическим пептидным миметиком этого лиганда (TR активирующий пептид или TRAP), который обуславливает полноценный TR-опосредованный клеточный ответ. После тромбиновой активации TR, клетка остается временно рефрактерной или десенситизированной к последующей стимуляции. Активированный TR интернализируется (обращается внутрь клетки) или восстанавливается на поверхности в различных соотношениях, в зависимости от типа клетки. TRAP способен воспроизводить полный спектр клеточного ответа, характерного для тромбина. Большинство ответных реакций эндотелиальных клеток на тромбин также воспроизводит и TRAP, включая повышение трансэндотелиальной проницаемости, NO-опосредованную релаксацию сосудов, экспрессию селектина и адгезию лейкоцитов, продукцию простаглицлина и высвобождение vWF. Возникает ли клеточный ответ непосредственно на действие тромбина или является следствием вторичного сигнала, инициированного агонистами, освобожденными из активированных клеток, в настоящее время не известно. Тем не менее, вторичный ответ важен в процессе пролиферации тромбин-стимулированных клеток, где помимо TR-активации, необходим также сигнал, индуцированный аутокринным фактором роста.

Структура и функции тромбина

α -тромбин состоит из 36 остатков А-цепи, дисульфидно связанной с β -цепью из 259 остатков. β -цепь содержит каталитический участок, гомологичный панк-

реатической сериновой протеазе. АВЕ-энзимный участок молекулы тромбина важен для связывания тромбина с ТМ, TR и гирудином — специфическим ингибитором тромбина. Оккупация АВЕ вызывает конформационные изменения в каталитическом участке, тем самым, изменяя тромбиновую специфичность. Тромбиновая хемотаксическая активность для моноцитов осуществляется участком молекулы между 334 и 399 остатками. Эта последовательность обладает активностью фактора роста. Тесная связь тромбина с гепарином осуществляется положительно заряженным участком молекулы, содержащим множество аргининовых остатков, расположенных перпендикулярно энзиматической поверхности.

Регуляция тромбина

Ингибитор сериновых протеаз (серпин) АТIII является основным ингибитором тромбина, однако $\alpha 2$ -м также играет определенную роль. Комплекс АТIII с тромбином быстро элиминируется из кровотока, как и другие серпин-энзимные комплексы (SEC) через печеночный рецептор-опосредованный путь. Протеаза нексин-1 (PN1), обнаруженная на поверхности фибробластов и других экстравазкулярных клеток, является мощным ингибитором тромбина, особенно в экстравазкулярной среде. Степень ингибиции тромбина серпинами (АТIII, PN1) значительно увеличивается в присутствии кислых гликозаминогликанов (GAGs) как гепарин и гепаран сульфат. Ингибиция тромбина антитромбином III потенцируется также тромбомодулином (ТМ). Кроме того, ТМ участвует и в удалении тромбина путем интернализации комплекса тромбин-ТМ. С другой стороны, связывается с экстрацеллюлярным матриксом и фибрином, которые служат своего рода резервуаром функционально активного тромбина, где он защищен от инактивации антитромбином III.

Таким образом, поскольку тромбин является ключевым ферментом, необходимым для тромбообразования, то одной из основных целей противотромботической терапии является либо ингибиция его эффектов, либо торможение образования тромбина за счет ингибирования других факторов свертывания, образование которых предшествует формированию тромбина.

Антикоагулянтные протеины — протеины системы протеина С

Протеин С

Протеин С совместно с протеином S и тромбомодулином являются составляющими тромбин-иницируемого пути протеина С, важного регулятора коагуляционного каскада, функционирующего по принципу отрицательной обратной связи. Концентрация протеина С в плазме составляет 4 мкг/мл. Время полужизни 8—10 часов, что относительно мало по сравнению с ВКЗ-прокоагулянтными протеинами. Это несоответствие во времени жизни лежит в основе транзитного гиперкоагуляционного состояния, индуцированного непрямыми антикоагулянтами (см. главу «ВКЗ-протеины»).

Гомозиготный дефицит протеина С, будучи довольно редким явлением, в отсутствие лечения является фатальным и проявляется неонатальной фульминантной пурпурой и ДВС. Гетерозиготный дефицит протеина С встречается относительно чаще (1 на 200—300 человек) и проявляется венозными тромбозами. Физиологическая важность системы протеина С подтверждается уже тем, что более 50% генетических форм тромбофилии у пациентов в возрасте до 45 лет с рецидивирующими тромбозами обусловлены дефектами в системе протеина С. Наиболее частым нарушением в системе протеина С является фактор V мутация Leiden, влекущая развитие состояния резистентности к активированному протеину С (APC-R) (см. раздел «Регуляция фактора V»).

Ген/экспрессия гена

Ген протеина С состоит из 9 экзонов и 8 интронов и локализован на 2 хромосоме.

Протеин С синтезируется в печени в форме одноцепочечного предшественника с последующим превращением в зрелую двухцепочечную форму, которая преобладает в плазме. Человеческий протеин С является гликопротеином (содержит около 23% углеводов), состоящим из NH₂-концевой легкой цепи из 155 остатков (Mr = 21000), дисульфидно связанной с тяжелой цепью из 262 остатков (Mr = 41/38 000). Легкая цепь состоит из gla-домен/гидрофобного участка и двух EGF-доменов. Тяжелая цепь включает участок активационного пептида и SP-домен. Две формы протеина С, обозначаемые как а и b являются вариантами гликозилирования: α-протеин С гликозилируется у Asn97 в легкой цепи, и у Asn234, Asn299 и Asn315 в тяжелой цепи. У β-протеина С отсутствует углевод у Asn315, в остальном же он полностью идентичен α-протеину С. Оба протеина С и APC образуются связываются с фосфолипидными мембранами в присутствии Ca²⁺, что вызывает конформационные изменения в gla-домен/гидрофобном участке.

Активация

Протеин С может активироваться тромбином, фактором Ха, активатором фактора X из яда гадюки Рассела (RVV) и некоторыми ядами других рептилий. В процессе активации протеина С происходит кливаж между Arg167-Ile168 с освобождением додекапептида из NH₂-концевого участка тяжелой цепи. Как уже указывалось выше, ТМ, присутствующий на поверхности эндотелия, повышает способность тромбина активировать протеин С с образованием APC.

Функция

APC является сериновой протеазой, обладающей антитромботическими и противовоспалительными свойствами. APC инактивирует факторы VIIIa, Va путем ограниченного протеолиза, ингибируя тем самым генерацию двух ключевых энзимов — фактора Ха и тромбина. Эти реакции усиливаются в присутствии Ca²⁺, анионных мембран и протеина S. APC также усиливает лизис сгустка, что является также проявлением его антитромботических свойств. Такой профибринолитический эффект может быть связан со способностью APC нейтрализовать ингибитор активатора плазминогена типа I (PAI-1) — ингибитора t-PA. Профибринолитический эффект APC может быть и непрямым — в результате способности APC ингибировать продукцию тромбина, который активирует прокарбокисептидазу плазмы — ингибитор фибринолиза. Кроме того, APC проявляет противовоспалительный эффект, блокируя эндотоксин-индуцированную коагулопатию, шок и лейкоцитарную аккумуляцию в легких в экспериментах *in vivo*. Противовоспалительный эффект APC обусловлен функциональной активностью участка, независимо от антикоагулянтной активности. Хотя этот механизм еще не выяснен, противовоспалительный эффект может быть связан со способностью APC ингибировать продукцию моноцитами воспалительного цитокина TNFα и ингибировать E-селектин-опосредованную адгезию лейкоцитов к стимулированным эндотелиальным клеткам. Недавно был идентифицирован и клонирован новый эндотелиальный рецептор для протеинов (EPCR), который связывает с высокой аффинностью как APC, так и протеин С. Второй рецептор, отличный от EPCR, присутствует на поверхности мононуклеарных фагоцитов и может быть вовлечен в ингибиторный эффект APC в отношении моноцитов.

В норме активность протеин С системы для обеспечения нормального гемостаза довольно невысока. Активация протеина С является важнейшим защитным механизмом в ответ на тромбогенный стимул, что подтверждено в экспериментах с использованием анти-протеин С моноклональных антител на модели животных.

Регуляция

Система протеина С может контролироваться по принципу отрицательного *feed-back* механизма, включая как регуляцию активации протеина С, так и ингибцию APC-активности. Как уже указывалось (см. раздел «Тромбомодулин»), активация протеина С может регулироваться ТМ-активностью на поверхности эн-

дотелиальных клеток, которая в свою очередь, также модулируется различными механизмами. Кроме того, APC-активность (время полужизни в плазме около 20 минут) нейтрализуется путем образования комплексов с несколькими протеинами ингибиторами и удаляется из кровотока, минуя печень. APC в первую очередь ингибируется ингибитором протеина С (PAI-1), а также α 1-PI и α 2-m во вторую очередь.

Протеин S

Протеин S, являясь ВКЗ-протеином плазмы, в то же время не является зимогеном. Врожденный дефицит протеина S, подобно дефициту протеина С, характеризуется тромботическими клиническими проявлениями. *In vitro*, протеин S функционирует как кофактор, повышающий инактивацию APC факторов VIIIa, Va. Тем не менее, антитромботическая функция протеина S этим не ограничивается и изучение его функции продолжается. Концентрация протеина S в плазме составляет 20—25 мкг/мл, а время полужизни — 42 часа. Уровень протеина S снижается во время беременности и при приеме оральных контрацептивов. До 60% протеина S в нормальной плазме находится в связанном состоянии с С4в-связывающим протеином (С4вр) — протеином острой фазы, являющимся отрицательным регулятором пути комплемента.

Ген/экспрессия гена

Протеин S кодируется двумя генами, локализованными на 3-й хромосоме. Ген, отвечающий за экспрессию α -протеина S содержит 15 экзонов и 14 интронов. Ген протеина S гомологичен экзонам II—VIII и 3'-нетранслируемому участку. Протеин S синтезируется гепатоцитами и клетками невральнoй опухоли. Протеин S (Mr = 69000) является одноцепочечным гликопротеином, содержащим 7% углеводов. Он синтезируется в форме предшественника, содержащего сигнальный пептид, пропептид и полипептид из 635 остатков, соответствующий зрелой форме молекулы. Протеин S состоит из gla-домена, тромбин-сенситивного участка, четырех EGF-доменов и С-терминального домена, гомологичного человеческому секс-гормон-связывающему глобулину. Связывание протеина С с С4вр опосредуют два дискретных участка в С-концевой половине молекулы протеина S.

Функция

Протеин S повышает степень инактивации факторов VIIIa, Va активированным протеином С путем связывания APC с этим мембран-связанным кофактором. Кроме того, последние исследования *In vitro* показали, что протеин S ингибирует теназу и протромбиназу независимо от APC, хотя физиологическое значение этой находки неясно. Вдобавок к антикоагулянтным свойствам протеин S обладает митогенной активностью и стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток аорты в культуре клеток. Это послужило основой гипотезы, что протеин S может участвовать в пролиферации интимальных гладкомышечных клеток при атерогенезе и после ангиопластики.

Регуляция

Существует, по крайней мере, два механизма регуляции протеина S. Как уже отмечалось, около 60% протеина S плазмы находится в связанном состоянии с С4вр с образованием комплекса 1:1. Хотя это взаимодействие не влияет на эффект С4вр, последний нейтрализует антикоагулянтную активность протеина S и тем самым способствует провоспалительной и прокоагулянтной активности. С другой стороны, тромбин множественно расщепляет протеин S внутри дисульфидной петли, инактивируя тем самым его APC-кофакторную активность.

Тромбомодулин (ТМ)

ТМ является трансмембранным протеином, локализованным на поверхности эндотелиальных клеток, выполняющим антикоагулянтную функцию и участвующим в нормальной тромборезистентности сосудистой стенки. ТМ является вы-

сокоаффинной рецептором для тромбина. Комплекс ТМ-тромбин инициирует протеин С-антикоагулянтный путь. Кроме того, ТМ снижает прокоагулянтные свойства тромбина и может участвовать в его «эндоцитозном катаболизме». ТМ-активность на поверхности эндотелиальных клеток снижается под действием воспалительных цитокинов, которые могут участвовать в прокоагулянтном изменении состояния эндотелия, характерного для воспаления. Интересен тот факт, что ТМ-экспрессия широко представлена в процессе развития плода, а делеция ТМ-гена обеих аллелей ведет к внутриутробной гибели плода у мышей еще до развития у него сердечно-сосудистой системы. Это указывает на возможную роль ТМ в развитии млекопитающих.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген ТМ локализован на 20-й хромосоме и характеризуется отсутствием интронов. Экспрессия ТМ ограничена эндотелиальными клетками сосудов, кроме того ТМ экспрессируется на нейтрофилах, тромбоцитах и экстравакулярных клетках, включая синовиальные клетки, чешуйчатые эпителиальные клетки нормального эпителия. ТМ-активность на поверхности эндотелиальных клеток снижают IL-1 β и TNF- α и повышает ее дибутирил-с-АМФ и некоторые другие субстанции.

ТМ синтезируется в форме предшественника, состоящего из сигнального пептида (18 остатков) и полипептидной цепи (575 остатков), соответствующей зрелой форме ТМ. ТМ состоит из 5 типов доменов, в следующей последовательности от NH₂-конца: лектин-подобный домен, шесть EGF-доменов, серин/треониновый домен, мембран-связующий участок и короткий цитоплазматический хвост. Существует две формы ТМ, которые отличаются локализацией хондроитин-сульфатных цепей в серин/треониновом участке. Домены EGF4-EGF6 совместно с хондроитин-сульфатными участками необходимы для оптимального связывания тромбина и усиления катализируемой тромбином активации протеина С. Для связывания с тромбином необходим минимум структуры тромбомодулина — дисульфидная петля в пятом EGF-домене.

ТМ вызывает, по крайней мере, два конформационных изменения в молекуле тромбина. Мембран-связанный комплекс ТМ-тромбин взаимодействует с несколькими участками молекулы протеина С, включая его gla- и EGF-домены, кластер из трех основных остатков вблизи активационной связи, и Ca²⁺-связывающую петлю в SP-домене.

Функция

ТМ функционирует как высокоаффинный рецептор для тромбина, связываясь с ним в стехиометрическом соотношении 1:1. Тромбин, связанный с ТМ обладает измененными функциональными свойствами, включая снижение способности удалять фибринопептидов из фибриногена, активировать фактор V, тромбоциты и повышение способности превращать протеин с в APC Ca²⁺-зависимым способом, а также повышение восприимчивости его к ингибции антитромбином III. Таким образом, ТМ служит своеобразным «переключателем», который превращает тромбин из прокоагулянтного энзима в антикоагулянтный. Молекулярный базис этого ТМ-индуцированного «переключения» специфичности тромбина обеспечивают стерический и аллостерический эффекты. ТМ ингибирует прокоагулянтную активность тромбина, оккупировав его ABE-участок, блокируя тем самым доступ его к тромбиновым рецепторам TR фибриногена и тромбоцитов. Способность ТМ повышать тромбин-индуцированную активацию протеина С и ингибцию антитромбином III тромбина, является результатом ТМ-индуцированных конформационных изменений в активном участке тромбина. ТМ, равно как и его комплекс с тромбином, не является статическим компонентом мембраны эндотелиальной клетки и подвергается эндоцитозу. Этот процесс не зависит от цитоплазматического домена и может участвовать в удалении тромбина из кровотока.

Регуляция

Существует несколько возможных механизмов регуляции ТМ-активности на поверхности клеток, хотя их значение *in vivo* до конца не выяснено. Как уже отмечалось, ТМ экспрессия снижается под действием эндотоксина и воспалительных цитокинов. При воспалении продукты активации нейтрофилов также могут инактивировать ТМ различными путями, включая окисление метионинового остатков и протеолитическую деградацию эластазой. Действительно, растворимый ТМ обнаружен в плазме и моче человека, куда он попадает в результате протеолитической деградаци ТМ на сосудистом эндотелии. Растворимый ТМ, уровень которого повышается при различных патологических состояниях, расцениваются как маркер эндотелиального повреждения и ассоциированного с ним тромбоза, а также в последние годы как маркер (доклинический) гестоза.

Антикоагулянтный путь протеина С

Инициация антикоагулянтного пути протеина С начинается с момента, когда тромбин связывается с тромбомодулином (ТМ) на поверхности эндотелиальной клетки. Этот комплекс способствует образованию активированного протеина С (АПС) из плазменного предшественника — протеина С. При этом активация протеина С опосредуется эндотелиальным рецептором протеина С (ЕРСR), который связывает протеин С или АПС. АПС способен инактивировать FVa или FVIIIa на мембранной поверхности. Этот процесс требует наличия кофактора — протеина S. Будучи связанным с ЕРСR, АПС не инактивирует FVa и преимущественно действует на другую, пока не идентифицированную мишень-субстрат. Высокоотрегулированная система протеина С «выдает» антикоагулянтный ответ «по требованию» в зависимости от изменения концентрации тромбина.

Вообще следует заметить, что все естественные антикоагулянты функционируют через различные, но комплементарные механизмы.

Так, ингибитор пути тканевого фактора (или, иначе ингибитор внешнего пути свертывания), TFPI, ингибирует FXa, а комплекс FXa-ингибитор затем через обратную связь инактивирует комплекс TF-FVIIa, тем самым ингибируя инициацию коагуляции через внешний путь.

Механизм антикоагулянтного действия комплекса гепарин-АТIII осуществляется через ингибицию тромбина, фактора Ха, IXa и FVIIa, в то же время основной мишенью являются FXa и тромбин.

Таким образом, антикоагулянтный механизм комплекса АТIII-гепарин в первую очередь ответственен за контроль амплификации реакций свертывания и концентрацию конечного фермента коагуляционного каскада — тромбина.

Путь протеина С играет двойную роль, регулируя, с одной стороны, активность тромбина, и с другой стороны, инактивируя два ключевых кофактора, FVa и FVIIIa.

Поскольку *in vivo* в условиях физиологической нормы функционирование одновременно всех основных противосвертывающих механизмов обеспечивает равновесие в системе гемостаза, нарушения в более чем одном противосвертывающем пути значительно повышают риск тромбозов.

Каждый компонент пути протеина С обладает уникальным механизмом действия, а потому и терапевтические подходы при тех или иных нарушениях различны. В связи с этим два основных комплекса: протеин С-активационный и АПС-антикоагулянтный комплексы.

Протеин С-активационный комплекс

Активация протеина С является ключевым моментом в функционировании антикоагулянтного пути протеина С. В процессе активации протеина С взаимодействие ТМ с протеином С происходит через связывание с анион-связывающим сайтом, опосредуемое белок-содержащим участком ТМ. Второе взаимо-

действие с тромбином опосредуется хондроитин-сульфат содержащим участком молекулы ТМ. Наличие этого участка в молекуле ТМ имеет крайне важное значение при активации протеина С. Эндотелий представляет собой основную поверхность, на которой происходит активация протеина С. Тромбин может прямо активировать протеин С (без связывания с ТМ), однако степень активации чрезвычайно слабая и физиологически малозначительная.

На поверхности эндотелия тромбин взаимодействует с ТМ, а уже этот комплекс немедленно активирует протеин С. Активацию протеина С усиливает EPCR, присутствующий на поверхности эндотелиальных клеток, почти в 4—5 раз.

Наряду с EPCR, FVa также может взаимодействовать с эндотелием и почти в 3 раза увеличивать активацию протеина С. Таким образом, FVa может выступать как в роли субстрата для APC, так и способствовать образованию APC. ТМ обнаруживается в высоких концентрациях на эндотелии практически всех сосудов, за исключением капилляров мозга и эндотелия печеночных синусов; в малых количествах ТМ присутствует в тромбоцитах, а также в форме растворимых продуктов протеолитической деградации, которые циркулируют в нормальной плазме. Некоторое количество этих продуктов деградации способно образовывать комплексы с тромбином и активировать протеин С.

EPCR, другой интегральный компонент мембраны эндотелиальной клетки, участвующий в активации протеина С, по другому представлен в сосудах. В основном, EPCR в больших количествах присутствует на эндотелии артерий, вен, артериол и отчасти посткапиллярных вещи, но в то же время отсутствует или присутствует в малой концентрации на капиллярном эндотелии, включая vasa recta мозгового слоя почек, эндотелий печеночных синусов и субкапсулярные тубулы коры надпочечников. Такое различие в «распределении» свидетельствует, что функциональные свойства протеин С-активационного комплекса неодинаковы в сосудах большого калибра и капиллярах.

Согласно существующей ныне гипотезе, в капиллярах активационный комплекс обладает меньшей аффинностью к протеину С, по-видимому, вследствие низкой концентрации EPCR на эндотелии; при этом концентрация ТМ достаточно высокая. В то же время в сосудах крупного калибра активационный комплекс обладает высокой аффинностью к протеину С: здесь, наоборот, концентрация EPCR достаточно высокая, а ТМ — относительно низкая. Поэтому на этот комплекс в сосудах крупного калибра из-за высокой аффинности к протеину С изменения концентрации протеина С в плазме влияют в меньшей степени в отличие от капилляров.

Важно отметить, что в капиллярах эффективная поверхность эндотелия по отношению к объему крови в них составляет более $1000 \text{ см}^2/\text{мл}$, это соответственно увеличивает концентрацию ТМ (более 10 нмоль) — около 50000 молекул ТМ на эндотелиальную клетку. Клинический дефицит протеина С часто ассоциируется с микрососудистыми тромбозами, что свидетельствует о более значимой роли протеина С в контроле микрососудистого тромбообразования, нежели в сосудах крупного калибра.

Дополнительно к участию в процессе активации протеина С, ТМ обладает другими антикоагулянтными эффектами: связываясь с тромбином, тромбомодулин блокирует тромбогенные свойства тромбина: способность превращать фибриноген в фибрин, активировать тромбоциты или активировать факторы V или XIII. Этот феномен имеет чисто механистическое объяснение: все указанные выше субстраты и их рецепторы взаимодействуют с анион-связывающим экзосайтом тромбина, который, увы, уже связан тромбомодулином. Таким образом, ТМ блокирует связывание тромбина с другими альтернативными субстратами тромбина.

На степень аффинности ТМ к тромбину влияет присутствие хондроитин-сульфатных участков в молекуле ТМ, чем их больше, тем выше аффинность.

В этом смысле весьма интересно, что ТМ, изолированный из плаценты содержит небольшое количество хондроитин-сульфатных участков.

Содержащий хондроитин-сульфат ТМ способен стимулировать инактивацию тромбина антитромбином. При этом комплекс тромбин-антитромбин немедленно диссоциирует от тромбомодулина. Кроме того, ТМ усиливает инактивацию тромбина ингибитором протеина С, независимо от наличия или отсутствия хондроитин-сульфата в молекуле ТМ. Тем не менее, в присутствии хондроитин-сульфата это реакция происходит в 2 раза быстрее.

Таким образом, ТМ осуществляет антикоагулянтный эффект, по крайней мере, посредством 3 механизмов: а) акцелерация тромбин-зависимой активации протеина С; б) прямая ингибция свертывающей активности тромбина; в) усиление ингибции связанного с ТМ тромбина плазменными ингибиторами протеиназ.

Однако ТМ обладает не только противотромботической активностью, но и потенциально прокоагулянтной активностью. Например, ТМ повышает активацию фактора XI тромбином почти в 20 раз. Но, если учесть, что ТМ усиливает ингибцию тромбина более чем в 20 раз, то суммарный эффект ТМ на систему коагуляции может быть нейтральным.

ТМ также способен усиливать ингибцию про-урокиназы тромбином. Растворимый ТМ также усиливает активацию TAFI, который в свою очередь, является действенным тромбин-активируемым ингибитором фибринолиза.

APC-антикоагулянтный комплекс

Как только протеин С активируется, образуя APC, последний может образовывать комплекс с протеином S с тем, чтобы инактивировать FVa или FVIIIa. Функции протеина S в составе антикоагулянтного комплекса включают: а) повышение аффинности APC к мембранной поверхности; б) повышение степени инактивации FVa и FVIIIa (в 3 раза); в) предотвращение комплексообразования коагуляционных энзимов с FVa или FVIIIa. Фактор V также способен усиливать APC-обусловленную инактивацию FVIII, действуя синергично с протеином S. В то же время FVa не обладает подобной активностью. Соответственно в условиях, когда большая часть циркулирующего в плазме фактора V активирована, APC антикоагулянтная активность APC в определенной степени снижается (так как снижается концентрация неактивированного FV, обладающего в данной ситуации антикоагулянтной активностью). В плазме APC-антикоагулянтный ответ повышается протеином S почти в 10 раз. О важной роли протеина S в ингибции свертывания свидетельствует также тот факт, что у пациентов с гомозиготным дефицитом протеина S развиваются тромботические осложнения, включая кожные проявления (purpura fulmitans).

Как уже указывалось, протеин S циркулирует в плазме в 2 формах: свободной и связанной с C4BP-регуляторным протеином каскада системы комплемента. Только свободная форма протеина S может функционировать как кофактор для APC. In vivo, введение в избыточных количествах C4BP бабуинам ведет к выраженному повышению коагуляционного ответа на инфузию низких доз E.Coll, в то же время этот ответ может быть блокирован ко-инфузией избыточных количеств протеина S.

По сей день полностью не ясно, какова роль образования комплекса S-C4BP в регуляции биологических процессов. Было отмечено, что C4BP может взаимодействовать клетками воспаления протеин S-зависимым способом, возможно, играя роль в защите клеток от комплемент-опосредованного повреждения.

Кроме того, что протеин S повышает APC-активность, он также способен ингибировать прокоагулянтные реакции в «очищенных» системах. Физиологическое значение этой находки еще не совсем ясно, поскольку иммуноадсорбция протеина С из плазмы существенно не влияет на реакции свертывания (по крайней мере, по данным времен свертывания).

Ингибция антикоагулянтного комплекса

Основным отличием APC от большинства других сериновых протеаз является относительная резистентность к инактивации плазменными ингибиторами про-

теиназ. Время полужизни APC составляет около 15—20 минут по сравнению с секундами для тромбина.

К основным ингибиторам относятся ингибитор протеина С, ингибитор α 1-антитрипсина и α 2-макроглобулин.

В заключение следует отметить, что на функционирование антикоагулянтного пути протеина С могут оказывать влияние различные заболевания и патологические состояния, и в первую очередь воспаление, атерогенез, а также нарушение синтеза протеина С в печени. Центральную роль при этом играет снижение концентрации ТМ на эндотелии, снижение концентрации свободного протеина S и снижение клеток воспаления в области сосудистой стенки; система протеина С ингибируется как вследствие протеолиза тромбомодулина, так и высвобождения цитокинов, то есть в условиях повреждения эндотелия или эндотелиоза. Не следует также забывать, что и протеин С и протеин S являются витамин К-зависимыми факторами, а потому при терапии антагонистами витамина К (варфарин, фенилин и пр.) их уровень также снижается и система протеина С соответственно подавляется. Это важно учитывать, если терапия антагонистами витамина К назначается лицам с изначальным повреждением в системе протеина С (АФС, дефициты протеина С и/или S). Интересно, что согласно экспериментальным *in vivo* данным, угнетение функции ТМ (снижение свободного ТМ) может предотвращаться некоторыми субстанциями, в частности II-и.

Антикоагулянтные протеины — ингибиторы протеиназ

α 2-макроглобулин (α 2-м)

α 2-м ингибирует широкий спектр протеиназ, обладающих различными субстратными особенностями и каталитическими механизмами.

Процесс ингибиции происходит, образно говоря, путем «заманивания» протеиназ на «наживку». Область «наживки» в молекуле α 2-м состоит из кливажных участков для различных протеиназ. Протеолиз в области «наживки» ведет к образованию физической и химической «ловушки» для протеиназ, которые, тем не менее, сохраняют функционально активный участок с ограниченной доступностью. Таким образом, в отличие от серпиновых ингибиторов, которые прямым образом инактивируют протеиназу — мишень, в данном случае процесс ингибиции происходит сложнее.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген α 2-м включает 36 экзонов и 35 интронов и локализован на 12-й хромосоме. α 2-м синтезируется в печени в форме про- α 2-м, который содержит сигнальный пептид из 23 остатков и полипептид, соответствующий зрелой форме α 2-м. α 2-м ($M_r = 735\,000$) является тетрамером, состоящим из 4 идентичных субъединиц ($M_r = 180\,000$), каждая из которых — одноцепочечный гликопротеин из 1451 аминокислоты. α 2-м образует нековалентную связь с двумя дисульфидно-связанными димерами ($M_r = 360\,000$). Каждая субъединица содержит область «наживки» («bait»-участок) из 45 остатков, которая экспонирована на их поверхности и внутреннего тиол-эстер связи между Cys949 и Glu952. Протеолитический кливаж «bait»-участка ведет к активации тиол-эфирной-связи и конформационному изменению молекулы. В итоге, эти процессы ведут к стерическому присоединению протеиназы, и в большинстве случаев, к ковалентному связыванию с α 2-м через ϵ -lysyl- γ -глутамил изопептидную связь.

В результате «пойманная в ловушку» протеиназа становится недоступной для макромолекулярных субстратов, ингибиторов и антител, однако сохраняет способность реагировать с небольшими субстратами и ингибиторами. В результате конформационных изменений в α 2-м также экспонируется рецептор-распознаваемый участок в С-концевом домене, который распознается рецепторами различных клеток, включая фибробласты, макрофаги и гепатоциты.

Функция

Хотя $\alpha 2$ -m *in vitro* ингибирует все классы протеиназ, физиологические мишени $\alpha 2$ -m до конца не выяснены. До сих пор не наблюдалось ни одного клинического проявления, связанного с выраженным дефицитом $\alpha 2$ -m. В основном $\alpha 2$ -m играет роль в совместной ингибции с серпинами (см. ниже) тромбина, калликреина и плазмина. Полагают, что $\alpha 2$ -m является ингибитором «в запасе», поскольку его взаимодействие с различными протеинами и важность возрастают при врожденном или приобретенном дефицитах основных ингибиторов обеих протеиназ. Комплекс $\alpha 2$ -m быстро удаляется из кровотока эндцитным протеином, связанным с $\alpha 2$ -m рецептором и рецептором липопротеина низкой плотности ($\alpha 2$ -mR/LRP-протеин). Активированный $\alpha 2$ -m также взаимодействует с различными факторами роста и цитокинами, включая трансформирующий фактор роста- β , интерлейкин- 1β , интерлейкин-6, кислотный фактор роста фибробластов, основной фактор роста фибробластов, тумор-некротический фактор- α и интерлейкин-2. Хотя молекулярные детали и физиологическое значение этих взаимодействий находятся в стадии изучения, возможно $\alpha 2$ -m играет дополнительную роль в модуляции иммунной системы.

Семейство ингибиторов сериновых протеиназ (серпины)

Большинство ингибиторов, регулирующих протеиназную активность, как в крови, так и окружающих тканях, относятся к семейству ингибиторов сериновых протеаз (серпинам), которые произошли от общего гена путем дивергенций еще 500 миллионов лет назад. Серпины связываются с мишенями — различными сериновыми протеазами, вовлеченными в процесс коагуляции, фибринолиза, комплемента, воспаления и регенерации тканей.

Серпины циркулируют в плазме в форме одноцепочечных гликопротеинов с молекулярной массой (Mr) до 60 000. Хотя концентрация их в плазме весьма вариабельна, в сумме они составляют около 10% всех протеинов плазмы. $\alpha 1$ -PI является, по-видимому, одним из самых филогенетически ранних представителей серпинов. Другие представители семейства схожи по структуре с $\alpha 1$ -PI, однако, содержат дополнительные последовательности у NH2- (AT III, HC II, C1INH) или C-($\alpha 2$ -антиплазмин) концов. Пять серпинов (AT III, HC II, ингибитор протеина C, PAI-1 и PN-1) связывают сульфатированные гликозаминогликаны (GAG) как гепарин, гепаран-сульфат, которые значительно усиливают ингибцию протеиназ-мишеней. $\alpha 1$ -PI и PAI являются также и реактантами острой фазы, уровень которых возрастает при остром воспалении.

$\alpha 1$ -ингибитор протеиназ ($\alpha 1$ -PI)

$\alpha 1$ -PI, или $\alpha 1$ -антитрипсин, является наиболее широко представленным в плазме серпином, концентрация его составляет от 1,5 до 3,5 мкг/мл. $\alpha 1$ -PI в основном синтезируется гепатоцитами и в меньшей степени моноцитами и макрофагами. $\alpha 1$ -PI является реактантом острой фазы: в острую фазу воспаления его концентрация возрастает в 2—4 раза. Время полужизни $\alpha 1$ -PI в кровотоке — 6 дней.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген, кодирующий $\alpha 1$ -PI расположен на длинном плече 14-й хромосомы и состоит из 7 экзонов и 6 интронов. Транскрипция гена происходит в макрофагах и гепатоцитах. Интерлейкин-6 повышает экспрессию $\alpha 1$ -PI в мононуклеарных фагоцитах и клетках гепатомы и является, таким образом, основным медиатором $\alpha 1$ -PI в острую фазу воспаления. $\alpha 1$ -PI является одноцепочечным гликопротеином (Mr = 53 000), из 354 остатков и содержит 12% углеводов. $\alpha 1$ -PI содержит незначительное количество дисульфидных связей и его единственный цистеин обычно связывается с сульфгидрильным соединением — цистеином или глутамином. Связь реактивного участка Met358-Ser359 подвергается действию сериновых протеаз-мишеней. Тем не менее, гораздо чаще инактивация происходит не за счет кливажа этой связи, а за счет образования стабильного 1:1 комп-

лекса между $\alpha 2$ -m и протеиназой, в котором инактивируются оба участка. Связь реактивного участка является критической детерминантой серпиновой специфичности. Это хорошо демонстрируется на примере мутации $\alpha 2$ -m-Pittsburg, где метионин заменяется на аргинин. В результате образуется более эффективный ингибитор тромбина, что ведет к фатальным кровотечениям.

Структура $\alpha 1$ -PI, подвергшегося кливажу, была впервые изучена в 1984 г и использована в качестве модели структуры других серпинов. Было установлено, что кливаж молекулы $\alpha 1$ -PI с образованием реактивного участка ведет к конформационным изменениям. Серпины, подвергшиеся кливажу, обладают более стабильной структурой, чем их нативные (не кливированные) формы.

Функция и регуляция

Основную физиологическую роль $\alpha 1$ -PI проявляет в легочной ткани, где ингибирует протеиназы эластазу и катепсин G, высвобождающиеся из азурофильных гранул активированных нейтрофилов. Это защищает эластичные волокна легочных альвеол от избыточной деградации. Врожденный или приобретенный дефицит $\alpha 1$ -PI сопровождается легочной эмфиземой. $\alpha 1$ -PI инактивируется химическими оксидантами, а также реактивным кислородом фагоцитарного происхождения, в результате чего метионин реактивного участка окисляется в метионин—сульфоксид. $\alpha 1$ -PI инактивируется также некоторыми несериновыми протеазами, как тиоловая протеиназа, катепсин B и металлопротеиназа, выделяемая *Pseudomonas aeruginosa*; которые расщепляют связь реактивного участка ингибитора, который в данной ситуации является субстратом. $\alpha 1$ -PI ингибирует факторы XIa, Xa и APC, особенно в условиях, когда уровень основных ингибиторов этих факторов снижается.

Антитромбин III (AT III)

AT III является важным ингибитором тромбина и некоторых других коагуляционных энзимов. Степень ингибиции энзимов антитромбином III в высокой степени зависит от наличия анионных гликозаминогликанов (GAG), как гепарин и гепаран сульфат, который представлен на сосудистом эндотелии. Поэтому AT III также обозначают как антитромбиновый кофактор гепарина или кофактор гепарина. Концентрация AT III в плазме около 125 мг/мл, время полужизни от 61 до 72 часов. Кроме того, AT III обнаружен на микрососудистом эндотелии, где он связан с GAG. Врожденный дефицит AT III является редким аутосомно-доминантным расстройством, с которым связаны рецидивирующие венозные тромбозы и легочная эмболия. Заболеваемость AT III-дефицитом в общей популяции колеблется от 1:50 до 1:5000.

Ген/экспрессия гена

Ген, кодирующий AT III состоит из 7 экзонов и 6 интронов и локализован на 1 хромосоме. AT III синтезируется в печени в форме предшественника, состоящего из сигнального пептида (32 аминокислотных гидрофобных остатка) и полипептида, соответствующего зрелой форме.

AT III является одноцепочечным гликопротеином (Mr = 58 000) из 432 остатков и 9% углеводов. Существует два варианта гликозилирования AT III в плазме. Основная форма, обозначаемая как AT III α , имеет олигосахаридную цепь у каждого из четырех N-гликозилиционных участков. AT III β , который составляет 5—10% от всего AT III плазмы, имеет лишь одну олигосахаридную цепь у Asn135 и обладает большой аффинностью к гепарину по сравнению с AT III α . Протеиназы «атакуют» AT III в реактивном участке связь Arg393-Ser394) вблизи C-конца. Трехмерная структура молекулы как AT III α , так и AT III β при этом испытывает конформационные изменения. Гепарин при этом связывается с положительно заряженными участками лизиновых и аргининовых остатков в области NH₂-конца AT III. Гепарин усиливает ингибицию AT III протеиназ, выступая в роли катализатора. Механизм этого взаимодействия интенсивно изучается в настоящее время. Важными аспектами механизма действия гепарина являются способность гепарина вызы-

вать конформационные изменения в реактивном участке AT III, а также способность связываться с протеиназой-мишенью, и тем самым усиливать образование комплекса протеиназа-гепарин-AT III.

Функция

AT III является основным физиологическим ингибитором большинства коагуляционных энзимов, включая факторы IXa, Xa и тромбин. Гепарин повышает степень ингибиции AT III этих энзимов в несколько тысяч раз, кроме того, в присутствии гепарина ингибиция калликреина и фактора XI антитромбином III становится значительной. Комплекс AT III с различными протеиназами быстро удаляется из кровотока (см. «Регуляция тромбина») через печеночный рецептор-опосредованный путь, в котором задействованы SEC- и LPR-рецепторы. Кроме того, комплекс AT III-тромбин связывает витронектин с экспозицией гепарин-связывающего участка, который способствует образованию комплекса витронектин-AT III-тромбин с эндотелиальными клетками, где происходит транслокация его и депозиция в интактной форме в экстрацеллюлярном матриксе.

C1 ингибитор эстеразы (C1 INH)

Сериновый C1INH является важным модулятором воспалительного процесса наряду с ингибицией энзимов коагуляции и пути комплемента. Концентрация C1INH в нормальной плазме составляет 100 мкг/мл. Изолированный врожденный дефицит C1INH проявляется ангиоотеком.

Ген/экспрессия гена

Ген C1INH локализован на 11 хромосоме. Основным местом синтеза C1INH является печень, хотя в достаточном количестве плазменная концентрация C1INH пополняется и за счет синтеза его в других местах. Так, тканевые макрофаги (Купфферовы клетки) способны экспрессировать C1INH, что регулируется γ -интерфероном.

Биохимия и функция

C1INH является одноцепочечным высокогликозилированным гликопротеином ($M_r = 104\,000$), содержащим 35% углеводов. C1INH является основным ингибитором активированных контактных факторов, включая фактор XIIa, фрагмент фактора XIIa и калликреин. Только в случае, когда фактор XIIa связан с активирующей поверхностью, он защищен от ингибиции C1INH. На активность C1INH гепарин не влияет. Однако, хотя C1INH является основным ингибитором фактора XIa в плазме, в присутствии гепарина увеличивается инактивация фактора XIa антитромбином III. C1INH является единственным ингибитором C1 и C1s- активных субкомпонентов классического пути комплемента. В модели эндотоксического шока у собак, C1INH предотвращает активацию контактной системы и легочной дисфункции.

Ингибитор протеина C (PCI)

PCI также называется ингибитором активатора плазминогена-3 и является относительно неспецифическим серпином и основным ингибитором антикоагулянта APC. PCI ингибирует также некоторые другие прокоагулянтные энзимы, равно как и фибринолитический энзим урокиназу. Концентрация PCI в плазме составляет 5 мкг/мл. PCI обнаружен в относительно высоких концентрациях в семенной жидкости, где может быть вовлечен в регуляцию активности протеазы спермы — акрозина. Время полужизни PCI около 23,4 часа, в то время как время полужизни комплекса PCI-APC намного меньше и составляет 20 минут, после чего последний удаляется из кровотока.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген, кодирующий PCI состоит из 5 экзонов и 4 интронов. Он физически связан с генами, кодирующими 3 других серина (включая α 1-Pi) на 14 хромосоме.

PCI синтезируется печенью, а также цилиндрическими клетками почек и клетками мужской репродуктивной системы.

PCI является одноцепочечным гликопротеином ($M_r = 57\ 000$) из 387 аминокислотных остатков. Он содержит один цистеиновый остаток и пять потенциальных N-связанных гликозилированных участков. Подобно другим серпинам, PCI «атакуется» протеиназами в своем реактивном участке (связь Arg354-Ser355) с образованием стабильного 1:1 комплекса. Ингибиторная активность PCI усиливается гепарином, хотя в его присутствии PCI-ингибция APC явно уступает другим сериновым ингибиторным реакциям в присутствии гепарина, например, ингибция тромбина AT III.

Функция

PCI является основным ингибитором APC в плазме. Характерно, что сниженный уровень PCI и повышенный уровень комплексов PCI-APC обнаруживается в плазме больных с тромботическими проявлениями, что подтверждает важность PCI как физиологического ингибитора APC. PCI ингибирует, кроме того, калликреин, фактор XIa, фактор Xa и тромбин *in vitro*, хотя физиологическая важность этих реакций еще не известна. PCI является также и ингибитором комплекса тромбин-ТМ.

Кофактор гепарина II (HC II)

HC II является относительно недавно открытым членом семейства серпинов. Подобно своему «родственнику» AT III, HC II ингибирует тромбин в реакции, которая в присутствии гепарина активируется в 100 раз. Однако уникальность HC II в том, что он стимулируется также и дерматан сульфатом. Концентрация HC II в плазме составляет от 0,5 до 1,4 ммоль. Физиологическая роль HC II до конца еще не ясна. Хотя врожденный дефицит HC II долгое время ассоциировался с тромбозами, они не всегда имеют место при дефиците HC II. Тромбоэмболизм у пациентов с HC II-дефицитом встречается практически с такой же частотой, как и в нормальной популяции.

Ген/экспрессия гена и биохимия

Ген, кодирующий HC II состоит из 5 экзонов и 4 интронов и расположен на 22 хромосоме. HC II ген экспрессируется исключительно клетками печени и гепатомы.

HC II ($M_r = 66\ 000$) является одноцепочечным гликопротеином из 480 остатков и содержит 10% углеводов. Тромбин атакует HC II вблизи его C-конца в области пептидной связи Leu444-Ser445 реактивного участка. Это необычный механизм, так как обычно тромбин «предпочитает» субстрат с аргинином, нежели с лейцином. Дерматан-сульфат и гепарин связывают HC II в неидентичных, но соседних участках катионной области молекулы, заключающей в себе около 20 остатков, которые составляют гликозаминогликан (GAG)-связывающий участок. NH₂-концевая область содержит кластер кислых остатков, которые взаимодействуют с положительно заряженными GAG-связывающими участками. В присутствии GAG, кислый участок замещается в результате связывания с ABE-участком тромбина.

Функция

Единственным коагуляционным энзимом, ингибируемым HC II, является тромбин. Тем не менее, степень ингибции тромбина HC II в отсутствие или присутствии GAG значительно ниже, чем AT III в тех же условиях. Учитывая, что концентрация в плазме HC II составляет 25—50% от концентрации AT III, и что снижение уровня HC II не вызывает ожидаемых, казалось бы, тромбозов, физиологическая роль HC II как системного ингибитора тромбина весьма сомнительна. *In vitro* HC II ингибция тромбина стимулируется дерматан-сульфатными протеогликанами, синтезируемыми фибробластами или гладкомышечными клетками. Таким образом, HC II является уникальным экстравазкулярным регулятором тромбина в области сосудистого эндотелиального повреждения, где HC II может эксклюзивно стимулироваться дерматан-сульфатом субэндотелиального слоя. Кроме того,

НС II может участвовать в регуляции острого воспаления и репарации тканей путем сдерживания хемотаксических пептидов нейтрофилов и моноцитов, высвобождаемых при лейкоцитарном протеолизе.

Протеин Z

Протеин Z был впервые описан в 1977 году Prowse и Esnout, как дополнительный витамин K-зависимый протеин, циркулирующий в бычьей плазме. Человеческий протеин Z (PZ) был идентифицирован только в 1984 году. Организация гена PZ, расположенного на хромосоме 13q34, и структура его молекулы обладает большим сходством с таковыми других витамин K-зависимых протеинов — факторов свертывания VII, IX, X и протеина C. Однако в противоположность к этим сериновым протеазам-зимогенам, область типичного «активационного сайта» отсутствует (гистидиновые и сериновые остатки «законной» каталитической триады также отсутствуют). Таким образом, PZ, подобно протеину S, не обладает протеолитической функцией.

Человеческий PZ является гликопротеином с молекулярной массой 62000. Время полужизни около 2,5 дней. Уровень PZ в плазме колеблется в пределах 0,6—5,7 мкг/мл, средняя концентрация составляет $2,9 \pm 1,0$ мкг/мл.

Согласно предварительным данным, PZ является «отрицательным» реактантом острой фазы, что, возможно, и обуславливает широкий диапазон колебаний концентрации уровня PZ в плазме.

Подобно другим витамин K-зависимым факторам свертывания, уровень его у новорожденных (особенно недоношенных) низкий. Кроме того, у пациентов с ДВС, заболеваниями печени, амилоидозом уровень PZ в плазме также снижается. В то же время у пациентов на хроническом гемодиализе и с идиопатической тромбоцитопенической пурпурой отмечаются высокие уровни PZ в плазме.

Терапия антагонистами витамина K (варфарин, маркумар, фенилин и пр.) снижает как антигенный уровень PZ (1—16%), так и γ -карбоксилирование гораздо в большей степени, чем другие витамин K-зависимых факторов. Иммунореактивный PZ обнаруживается в атеросклеротических бляшках.

Для PZ характерны значительно более низкие константы диссоциации и ассоциации, чем таковые у протромбина. Человеческий PZ в отличие от бычьего слабо связывается с тромбином и минимально влияет на ассоциацию тромбина с фосфолипидами.

PZ как кофактор ингибиции фактора Ха

Совсем недавно было обнаружено с помощью одноэтапного исследования коагуляции, что прокоагулянтная активность фактора Ха снижается, если фактор Ха предварительно инкубировался с PZ. Такой ингибиторный эффект требует присутствия в «системе» фосфолипидов и ионов Ca^{2+} и зависит от времени (max 120с), что отражает слабую ассоциацию PZ с фосфолипидами.

В экспериментальных условиях PZ, у которого путем кливажа удален Arg43 (то есть удален Gla-домен), не проявляет ингибиторной активности в отношении FXa. Это, в свою очередь, свидетельствует, что взаимодействие между фактором Ха и PZ происходит на фосфолипидной поверхности. Соответственно степень ингибиции фактора Ха антитромбином снижается в присутствии PZ, фосфолипидов и Ca^{2+} .

Для объяснения ингибиторного эффекта PZ в отношении фактора Ха в условиях одноэтапного исследования коагуляции была выдвинута гипотеза, согласно которой комплекс FXa-PZ на фосфолипидной поверхности распознается, по крайней мере, одним протеазным ингибитором. И действительно, недавно был выделен прежде неидентифицируемый одноцепочечный гликопротеин с молекулярной массой 72000 из человеческой плазмы, который получил название PZ-зависимо-

го ингибитора протеаз (ZPI). ZPI быстро ингибирует фактор Ха (>95% в минуту при коагуляционных методах исследования) и также требует присутствия PZ, фосфолипидов, Ca^{2+} . Косвенные данные свидетельствуют о формировании в процессе ингибиции стехиометрического комплекса FХа-ZPI-PZ на фосфолипидной поверхности.

Основным местом синтеза ZPI является печень. Последовательность из 423 аминокислотных остатков зрелого ZPI-протеина на 25—35% гомологична ингибиторам протеаз семейства серпинов. В присутствии фосфолипидов и Ca^{2+} , степень ингибиции фактора Ха ZPI повышается более чем в 1000 раз ($t_{1/2} < 10$ сек вместо 210мин) протеином Z. Гепарин (0,25 Ед/мл) не влияет на ZPI-опосредованную ингибицию фактора Ха в присутствии PZ, однако в отсутствие PZ очень незначительно усиливает ZPI-обусловленную ингибицию фактора Ха.

Комбинация PZ и ZPI в значительной степени предотвращает инициацию и редуцирует генерацию тромбина в «смеси», состоящей из протромбина, FV, фосфолипидов и Ca^{2+} . В той же смеси, содержащей вместо FV фактор FVa, тем не менее, PZ и ZPI не ингибируют генерацию тромбина. Таким образом, антикоагулянтное действие, вероятно, основано на предотвращении активации FV и дальнейшего образования протромбиназного комплекса или, возможно, связано с потреблением протромбина (путем локального связывания сайта).

ZPI не вызывает значительной ингибиции тромбина, мейзотромбина FVIIa, FIXa, FXIIa, калликреина, APC, t-PA, u-PA, плазмина, трипсина, лейкоцитарной эластазы, химотрипсина или катексина G как в присутствии, так и в отсутствие PZ, фосфолипидов и Ca^{2+} . Тем не менее, FXIa инактивируется ZPI в реакции, которая не требует присутствия PZ, фосфолипидов или Ca^{2+} , и не «реагирует» на наличие или отсутствие высокомолекулярного кининогена (ВМК). Гепарин (0,2Ед/мл) ускоряет эту реакцию ($t_{1/2}$ 25сек вместо 50сек) и усиливает ингибицию (99% вместо 93%) PZ-зависимым ингибитором протеаз (ZPI).

Точный механизм такой ингибиции еще не ясен. Однако важно отметить, что ZPI-опосредованная ингибиция FXIa «выявлена» лишь в тех случаях, когда в тест-системе присутствует FXIa в относительно большом количестве (например, при каолин-индуцированной активации свертывания). Возможно, в таких *in vitro*-условиях ZPI эффективно взаимодействует с другими ингибиторами FXIa (например, a1-антитрипсин, C1-эстеразный ингибитор) и/или с субстратом фактора XIa — фактором IX в области активного сайта для FXIa.

Подобно другим сериновым ингибиторам протеаз, ZPI в процессе ингибиции FХа и FXIa протеолитически расщепляется с уменьшением молекулярной массы с 72кДа до 68кДа. По «отщепляемому» фрагменту молекулы в процессе ингибиции FХа и FXIa удалось установить «реактивный центр» ZPI: им оказался участок Y387-Ser388. Ингибиторные комплексы FХа-ZPI и FXIa-ZPI, тем не менее, гораздо менее стабильны, чем другие энзим-сериновые комплексы. Диссоциация комплекса тромбин-антитромбин очень мала и происходит исключительно при кливаже антитромбина. Диссоциация комплекса FХа-ZPI происходит значительно быстрее и видимо также происходит при кливаже ZPI. В этом смысле ZPI выступает в роли субстрата для комплекса FХа-ZP-фосфолипиды.

Сыворотка, образующаяся из плазмы при индукции коагуляция каолином, фосфолипидами и Ca^{2+} или тканевым фактором и Ca^{2+} проявляет незначительную ZPI-функциональную активность. Блоттинговый анализ показывает, что в процессе коагуляции ZPI протеолитически расщепляется в области С-конца с уменьшением молекулярной массы, как уже указывалось, до 68 кДа. Последующие исследования показали, что FХа (в присутствии PZ) ответственен за потребление ZPI в процессе TF-индуцированной коагуляции. FXIa также способствует потреблению ZPI, однако в случаях, когда коагуляция инициирована прямой контактной активацией (например, каолином) и образуются высокие концентрации FXIa.

Поскольку взаимодействие FXIa с ZPI способствует продукции расщепленного и соответственно инактивированного ZPI, это в свою очередь, снижает PZ-обусловленную ингибицию FХа.

Однако уровни FXIa, продуцируемые в условиях нормы *in vivo* (в отличие от каолин-индуцированной коагуляции *in vitro*) невелики, исходя из чего, можно сделать заключение, что потенциальное снижение ZPI-активности, обусловленное FXIa может быть физиологически важным в локальном участке коагуляции. С другой стороны, потребление ZPI, обусловленное фактором Ха и PZ в процессе TF-иницированной коагуляции предотвращает последующую ZPI-ингибицию FXIa.

PZ и ZPI циркулируют в плазме в форме комплекса PZ-ZPI, что определяется с помощью гель-фильтрационной хроматографии. Это взаимодействие не нуждается в наличии Ca^{2+} или фосфолипидов и снижает уровень ингибиции FXIa. Время полужизни комплекса не известно.

PZ как серпиновый кофактор

PZ является протеином и демонстрирует функции кофактора, повышая ингибиторную активность серина в отношении энзимов. Известно, что тромбомодулин повышает степень ингибиции тромбина протеином С примерно в 140 раз. Этот эффект тромбомодулина зависит в первую очередь от взаимодействия между тромбином и тромбомодулином. Вибронектин повышает степень ингибиции тромбина через ингибитор активации плазминогена (PAI-1) почти в 200 раз. Вибронектин способствует этому эффекту как через повышение связывания PAI-1 (индуцируя конформационные изменения в реактивном центре PAI-1), так и через взаимодействия типа протеин-протеин с тромбином.

Подобным же образом кофакторное действие PZ заключается в его способности как связывать, так и доставлять ZPI на фосфолипидную поверхность, равно как и в способности взаимодействовать с FXa на этой поверхности.

На рис. 6 представлены два потенциальных пути PZ-зависимой ингибиции FXa с участием ZPI:

А) PZ и FXa вначале образуют комплекс на фосфолипидной поверхности, после чего этот комплекс распознается ZPI.

Б) Предварительно сформированный комплекс PZ-ZPI направляется к фосфолипидной поверхности благодаря свойствам PZ, после чего связывается с FXa. Финальным результатом обоих путей является образование Ca^{2+} -зависимого комплекса на фосфолипидной поверхности, который содержит PZ, FXa и ZPI.

PZ/ZPI и тромбозы

Как *in vitro*, так и *in vivo* исследования свидетельствуют, что PZ играет важную роль в функционировании системы гемостаза. Хотя кофакторный эффект PZ в отношении инактивации фактора Ха через ZPI является одной из основных, если не главной его функцией, не исключена возможность дополнительных, ZPI-независимых эффектов PZ.

В отличие от гомозиготных дефицитов протеина С или TFPI, которые сопровождаются развитием летального ДВС, гомозиготный дефицит PZ не вызывает столь драматичных последствий. Кроме того, у мышей с гомозиготным дефицитом PZ отмечается нормальный фенотип. Тем не менее, при условии сочетания дефицита PZ с гетерозиготным дефицитом TFPI (+/-) или Leiden (+/- или +/+) значительно возрастает риск тромбозов. Vasse et al. в своем исследовании отмечают значительную ассоциацию между ишемическими инсультами и PZ-дефицитом (<1,0 мкг/мл). В то же время не было обнаружено связи с венозными тромбозами.

Исследование Vasse et al. интересно тем, что в исследуемую группу селективно были подобраны молодые пациенты (средний возраст 33 года) с тем, чтобы исключить такой возможный фактор атеросклероза и инсульта, как возраст. 65% обследованных составили женщины и у 9% была выявлена гипертензия или дислипидемия. Исследование было ретроспективным, и уровень PZ исследовался после установления диагноза инсульта. Важно отметить, что ни один пациент не

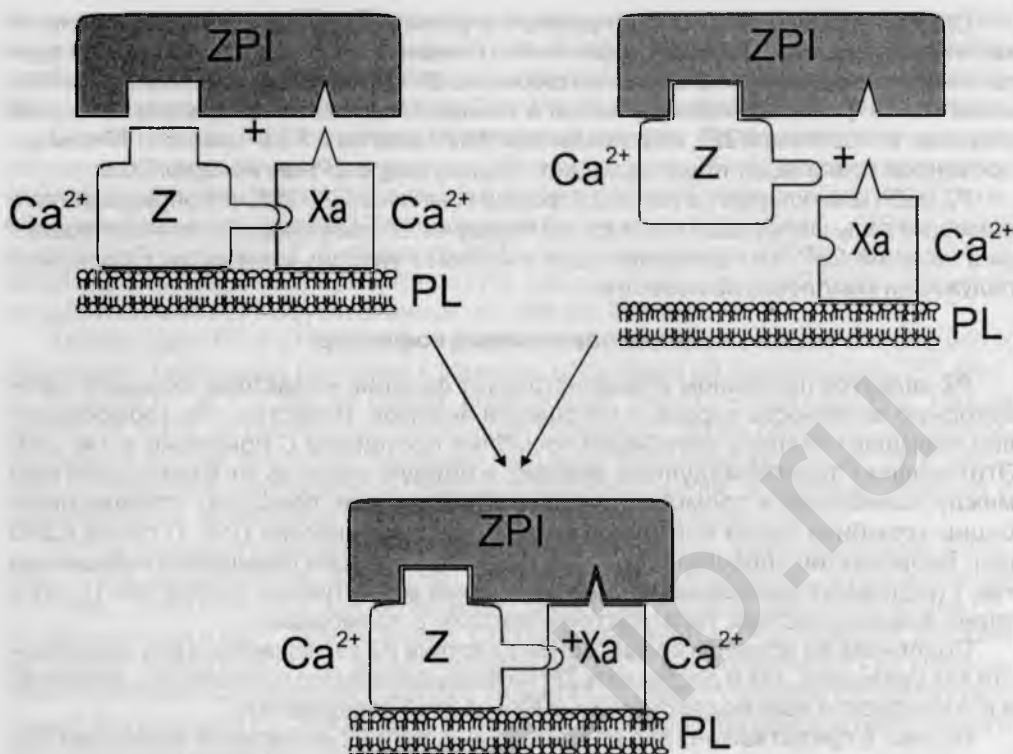


Рис. 6. Протеин Z – опосредованная ингибция FXa ингибитором протеина Z.

ZPI	Ингибитор протеина Z
PL	фосфолипиды
Z	протеин Z
Xa	активированный FX
Ca^{2+}	ионы кальция

Возможны два пути, ведущие в финале к образованию ингибиторного комплекса PZ-FXa-ZPI на фосфолипидной поверхности.

Слева: PZ и FXa образуют комплекс на фосфолипидной поверхности, после чего ZPI взаимодействует с этим комплексом.

Справа: циркулирующий PZ-ZPI-комплексы связываются с фосфолипидной поверхностью и взаимодействуют с FXa.

получал варфарин или другие антагонисты витамина K (терапия проводилась аспирином), поэтому сниженный уровень PZ у пациентов, перенесших инсульт, не был связан с проводимой терапией. По данным этого исследования, частота инсультов у пациентов с дефицитом PZ была в 4 раза выше, чем в контрольной группе.

Безусловно, отобранные в исследуемую группу пациенты составляют лишь небольшую часть всех пациентов с инсультами, и вероятно, относительный риск развития инсультов, ассоциированный с дефицитом PZ, может быть ниже, в особенности у пациентов пожилого возраста с сосудистыми заболеваниями и другими факторами риска.

Хотя в исследовании Vasse et al. не отмечалось ассоциации между дефицитом PZ и венозными тромбозами, тем не менее, по предварительным данным при сочетании с мутацией FV Leiden или с дефицитом протеина C повышается частота венозных тромбозов.

В заключение следует отметить, что все сведения об эффектах дефицита PZ требуют подтверждения. Необходимы дальнейшие клинические исследования

для выяснения потенциальной роли как PZ, так и ZPI в патогенезе тромбоэмболических заболеваний у человека.

Ингибитор внешнего пути свертывания (ингибитор пути тканевого фактора TFPI)

TFPI, называемый также ингибитором внешнего пути (EPI), или липопротеин-ассоциированным ингибитором коагуляции (LACI), является важнейшим ингибитором комплекса VIIa-TF. TFPI является также эффективным ингибитором фактора Ха и может быть вовлечен в катаболизм последнего. Концентрация TFPI в нормальной плазме составляет 100 нг/мл, около 90% которого ассоциировано с липопротеинами, в основном с ЛНП. Меньшая часть TFPI (10% от общего TFPI в крови) связана с тромбоцитами, которые высвобождают его после стимуляции тромбином [40]. Довольно значительные количества TFPI быстро высвобождаются в кровоток после назначения гепарина, который в 2—10 раз повышает уровень циркулирующего TFPI. Парентерально TFPI удаляется из кровотока печенью и обладает необычно коротким периодом полужизни (минуты) в сравнении с другими ингибиторами протеаз. Физиологическая роль TFPI как антикоагулянта заключается в его способности, в том числе ингибировать E. Coll- и TF-индуцированное внутрисосудистое свертывание крови и летальный шок, что было подтверждено в экспериментальных моделях на животных.

Ген/экспрессия гена и биохимия

TFPI-ген человека локализован на 2 хромосоме. Больше половины гена состоит из 5'-некодирующего участка. TFPI экспрессируется культурой эндотелиальных клеток, однако при стимуляции клеток эндотоксином или воспалительными цитокинами экспрессия TFPI снижается. TFPI не экспрессируют гепатоциты. Иммуногистохимические исследования показали, что TFPI локализован на поверхности микрососудистого эндотелия, где он нековалентно связан с гепарино-подобными молекулами на поверхности.

Биохимия

TFPI (Mr = 43 000) — одноцепочечный гликопротеин из 276 аминокислот, является членом Kunitz-семейства ингибиторов протеиназ. Апротинин (кишечный ингибитор панкреатического трипсина) также принадлежит к этому семейству. TFPI состоит из трех последовательных Kunitz-ингибитор подобных доменов, расположенных у отрицательно заряженного NH₂-конца и положительно заряженного C-конца молекулы. TFPI содержит 3 N-связанных потенциальных гликозилированных участка, один или более из которых сульфатируются при экспрессии в культуре эндотелиальных клеток. Первый и второй Кунитц-домены связывают и ингибируют фактор VIIa и фактор Ха, в то время как третий домен не принимает особого участия в ингибции комплекса FVIIa-TF. Ингибиторная активность TFPI усиливается гепарином. TFPI содержит 2 гепарин-связывающих участка — высокоаффинный участок в C-концевом основном регионе и низкоаффинный участок между Gly212 и Phe243 в третьем Кунитц-домене.

Функция

TFPI является эффективным ингибитором фактора X, в особенности, когда последний участвует в протромбиназном комплексе. Для осуществления фактор X а — ингибиторной активности необходимо наличие основного C-концевого региона TFPI дополнительно ко второму Кунитц-домену. Фактор IXa также может ингибироваться TFPI, однако для этого необходима концентрация TFPI в 50 раз больше, чем для ингибции фактора Ха. TFPI ингибирует FVIIa-TF и другим путем, при этом необходимо наличие фактора Ха. Эти молекулы формируют мембран-связанный четвертичный комплекс (TF-FVIIa-FXa-TFPI), который ведет к ингибции фактора VIIa.

Регуляция

TFPI, внутривенно вводимый крысам и мышам, быстро удаляется из кровотока печеночными гепатоцитами, которые распознают его С-концевой участок (третий Кунитц-домен и основной С-конец). TFPI удаляется эндоцитным рецептором печени — рецептором липопротеина низкой плотности (LRP). Катаболизму TFPI этим рецептором предшествует связывание TFPI с гепарино-подобными участками клеточной поверхности. Кроме того, TFPI важен и для катаболизма фактора Ха. Комплекс TFPI-FXa удаляет печеночным рецептором, отличным от LRP (см. «Регуляция фактора X»).

Эндотелий

Имея огромную поверхность (общая масса у взрослых около 1,5—2 кг) и занимая «стратегическое» положение между кровью и тканями сосудов, эндотелий взаимодействует и влияет на множество клеток и молекул. Долгое время эндотелий рассматривали как пассивную, атромбогенную разделительную поверхность между циркулирующей в сосудах кровью и тканями сосудов, однако последние 50 лет этот подход был полностью пересмотрен. Эндотелиальные клетки принимают участие во множестве физиологических процессов, включая контроль кровяного давления, регуляцию сосудистого тонуса, рост сосудистых гладкомышечных клеток, адгезию и инфильтрацию лейкоцитов в воспаленные ткани, сигнальную трансдукцию, регуляцию коагуляции и тромбообразования, а также высоко отрегулированный метаболизм и транспорт множества субстанций крови в субэндотелиальные ткани. Кроме того, эндотелий может вовлекаться в патологические процессы, участвуя в патогенезе гипертензии и атеросклероза, и взаимодействовать с иммунной системой и системой комплемента. Таким образом, важность эндотелия в гомеостазе трудно переоценить.

В последние годы благодаря использованию новых техник, от метода культуры клеток до высокоэффективных молекулярно-биологических методик, удалось достичь прогресса в понимании комплекса функций эндотелиальных клеток.

Эндотелиальный барьер и его морфология

Структурная организация эндотелия обеспечивает поддержание целостности сосудистой стенки и избирательную проницаемость для различных субстанций, включая лейкоциты. Многочисленные исследования свидетельствуют, что различные ферменты локализуются на эндотелиальных клетках для взаимодействия с различными субстратами крови. Благодаря электронной микрографии эндотелиальных клеток легочной артерии были обнаружены пальцевидные вдавления на эндотелиальной поверхности. Эти структуры повышают поверхность взаимодействия ферментов, локализованных на эндотелиоцитах, и растворенных в крови субстанций. Другими эндотелиальными структурами, увеличивающими площадь поверхности эндотелия, являются кавеолы. Кавеолы прямо соединяются с просветом: такая локализация позволяет быстро поставлять в кровоток продукты специфических метаболических реакций. Такая своего рода стома, образованная кавеолой, покрыта тонкой диафрагмой, которая создает специфическую микросреду для образования и транспорта вазоактивных субстанций. Как пальцевидные вдавления, так и кавеолы, в местах выступов взаимодействуют с ангиотензин-превращающим ферментом, и участвуют в образовании адениновых нуклеотидов, брадикинина и ангиотензина I.

Во всех органах эндотелий регулирует транспорт растворов, питательных веществ, липидов и гормонов в интерстициальные ткани через внутриклеточный путь или межклеточные соединения. Этот комплекс органелл формируется трансмембранными протеинами, связанными с протеинами цитоплазмы и цитоскелета.

Существует 4 типа соединений между эндотелиальными клетками: плотное (непроницаемое соединение), адгерентное соединение, щелеобразное соединение и синдесмос.

На протяжении эндотелиального монослоя преобладают щелеобразные соединения между эндотелиоцитами, однако, в регенерирующем эндотелии их количество снижено, так же как и плотных соединений. Напротив, плотные (окклюзирующие) соединения преобладают в сосудах мозга и сетчатки, где препятствуют развитию отека. Тесная связь эндотелия с гладкомышечными клетками способствует двунаправленному движению ионов и небольших молекул через клеточные соединения. В этом случае цитоплазматические «мостики» гладкомышечных клеток проникают через фенестры (поры) внутренней эластической мембраны, контактируя, таким образом, с эндотелием. Кроме того, некоторые молекулы эндотелиальных факторов могут свободно пенетрировать в гладкомышечные клетки, независимо от клеточных соединений. Другие молекулы связываются с поверхностными рецепторами и вызывают сигнальную трансдукцию с участием вторичных мессенджеров (переносчиков). Передача стресс-индуцированных сигналов связана с протеинами цитоскелета. Так, филламенты актина совместно со множеством протеинов, включая интегрины, актинин, талин, винкулин и др., обеспечивают связь между гемодинамическими проявлениями и биохимическими сигналами. Таким образом, эндотелий обладает способностью превращать молекулярные стимулы в механический ответ.

Функции эндотелия в системе гемостаза

Эндотелий, обладая плюрипотентной функцией, проявляет как антикоагулянтные свойства, так и прокоагулянтные — в активированном состоянии, принимая участие в прокоагулянтном ответе (см. табл. 2). Биохимические процессы, обеспечивающие как ингибицию, так и образование тромба *in vivo*, включают взаимодействие множества различных агонистов и их рецепторов или специфических ингибиторов систем коагуляции, фибринолиза, комплемента и др. систем.

Таблица 2.

Функции эндотелия.

Барьерно-транспортная	Обмен регулируется различными путями. Транспорт снижается пропорционально увеличению размеров молекул. Проницаемость эндотелия в разных органах различная. Транспорт анионных молекул обычно ограничен (за исключением легких). Особый барьер в мозге.
Синтез компонентов соединительной ткани	Коллаген, фибронектин, тромбоспондин, ламинин, хондроитин-, дерматан- и гепаран-сульфаты, возможно, гепарин. Также ферменты, повреждающие компоненты соединительной ткани, как эластаза, коллагеназа, эластин.
Метаболические свойства	Связывает липазы липопротеинов. Рецепторы для ЛНП, ЛВП, жиров, ацетил-ЛНП. Модифицирует ЛНП. Связывает инсулин. Содержит АПФ, который превращает ангиотензин I в ангиотензин II. Инактивирует брадикинин, адреналин, аденозин. Модулирует эффект ацетилхолина. Содержит ксантин-оксидазу. Образование эйкозаноидов (циклооксигеназный и липооксигеназный пути арахидоновой кислоты). Мишень для эйкозаноидов. В легких карбоангидраза эндотелиоцитов повышает высвобождение диоксида углерода. Воспалительные эффекты: гистаминаза — интерстициальные эндотелиоциты. Супероксид-дисмутаза — поверхность эндотелиальных клеток.

Прокоагулянтные свойства	Синтез vWF, фактора V, активация фактора XII, поверхность для формирования протромбиназного комплекса. Секреция тканевого фактора. Эффекты IL-1. Связывает факторы IXa, VIIa, VMK. Синтез фактора VIII.
Антикоагулянтные свойства	Синтез гепарин-подобного гепаран-сульфата, тромбомодулина, протеина S, PGI ₂ . Активация протеина C. Инактивация тромбина антитромбином III (на эндотелии). Внутриклеточное содержание активатора фактора V. Ингибция прокоагулянтной активности моноцитов. Синтез AT III.
Фибринолиз	Секреция t-PA и u-PA. Секреция ингибитора активатора плазминогена.
Реакции с клетками крови	Адгезия ПМЯ-лейкоцитов и моноцитов. Генерация ингибитора адгезии лейкоцитов. Участие в эффектах IL-1, комплемента.
Сосудистый тонус	Секреция релаксирующего фактора (EDRF или NO). Контрактильные протеины эндотелиоцитов: тромбин может вызывать контракцию при повреждении эндотелия. PGI ₂ (вазодилатор), АПФ (вазоконстриктор).
Факторы роста	Ингибция роста гладкомышечных клеток через секрецию гепаран-сульфата. Секреция фактора роста эндотелиальных клеток ECGF. Ангиогенез. Эндотелизация сосудистых протезов, трансплантатов, заживление повреждений интимы.
Иммунологические свойства	Содержит HLA-A и -B антигены. Синтезирует аллоантигены тромбоцитов (GP1b и IIIa). Повышает продукцию IL-2 Т-клетками.

Антитромботическая активность эндотелия

Антитромботическое состояние эндотелия обеспечивается как секретируемыми, так и мембран-связанными молекулами. Секретируемыми субстанциями с антитромботической активностью являются простаглицлин, оксид азота NO и t-PA (тканевой активатор плазминогена). t-PA превращает плазминоген в плазмин, который расщепляет фибриноген и фибрин до растворимых продуктов и снижает активацию тромбоцитов, расщепляя рецепторы на поверхности тромбоцитов. Освобождение простаглицлина эндотелием могут вызывать тромбин, гистамин, брадикинин, тромбосан или АТФ, в результате происходит повышение внутриклеточного синтеза тромбоцитами ц-АМФ, который ингибирует активацию тромбоцитов. Подобным образом NO повышает внутриклеточное содержание ц-ГМФ, который также ингибирует активацию тромбоцитов. К антикоагулянтным протеинам, включая AT III, который связывает и инактивирует тромбин и другие активированные коагуляционные факторы, относится TFPI. Основным местом синтеза TFPI является легочный эндотелий, и большей частью TFPI остается в эндотелии, небольшие его фракции (15%) секретируются в кровь. TFPI в комплексе с липопротеинами связывает гепарин и функционирует в качестве ключевого регулятора внешнего пути свертывания и ингибции фактора Ха.

Эндотелиальные мембран-связанные молекулы играют ключевую роль в поддержании антитромботического состояния эндотелия. К ним относятся экто-АТФ-аза, которая инактивирует высвобождение АДФ из активированных тромбоцитов; тромбомодулин, который связывает и интранализирует тромбин, ингибируя тем

самым активацию тромбоцитов; гепарин, который усиливает инактивацию тромбина антитромбином III и связывается с комплексом TFPI-липопротеин, который ингибирует фактор Ха.

Прокоагулянтная активность эндотелия

Прокоагулянтная активность эндотелия проявляется при повреждении эндотелиального слоя механическими или химическими агентами, а также при повреждении бактериальным эндотоксином, тромбином, TNF- α , IL-1, инфекцией, активацией комплемента или другими провоспалительными стимулами (табл.3). Экспонирующаяся в таких случаях субэндотелиальная поверхность взаимодействует с компонентами крови, вызывая повышенную продукцию прокоагулянтных, антифибринолитических и вазоконстрикторных субстанций. Генерация тромбина повышается при параллельном повышении синтеза необходимых кофакторов для его синтеза, как факторы V, VII, TF и высокомолекулярный кининоген (ВМК). Активность тканевого фактора может распространяться как на внешний, так и на внутренний пути свертывания. Он взаимодействует с фактором VII, способствуя тем самым активации фактора X, и инициируя внешний путь свертывания. С другой стороны, TF способен потенцировать кливаж фактора IX, активируя внутренний путь и фактор фон Виллебранда, который стабилизирует фактор VIII в норме. Взаимодействие FVIII с активированным FIX ведет к последующей активации фактора X. Фактор Ха, образующийся через внешний или внутренний путь, превращает протромбин в тромбин в присутствии фактора V. Тромбин, в свою очередь, превращает растворимый фибриноген в нерастворимый фибрин, активирует тромбоциты и ингибирует фибринолитическую активность сосудистой стенки. Активированный эндотелий также синтезирует антифибринолитический PAI-1, который активируется при связывании с витронектином. В активированном состоянии PAI-1 связывает t-PA и блокирует превращение плазминогена в плазмин, ингибируя тем самым растворение фибрина. Связыванию тромбоцитов с субэндотелием способствует повышенная продукция эндотелина, который действует как мощный вазоконстриктор и усиливает степень эндотелиального повреждения.

Таблица 3.

Эффекты различных повреждающих стимулов на свойства эндотелиальных клеток.

Стимулы	Тканевой фактор	Протеин С — путь	Фибринолиз
Цитокины: Интерлейкин-1 Тумор-некротический фактор	↑ ↑	↓ ↓	↓ ↓
Атерогенные стимулы: Гомоцистеин Липопротеины низкой плотности	↑ ↑	↓ ↓	↓ ↓
Липополисахарид (эндотоксин)	↑	↓	↓
Инфекционные организмы	↑	↓	?
Тромбин (вне фибринового сгустка)	↑	↑	↓
Тромбин (в составе сгустка)	↑	—	↓

Стимулы	Тканевой фактор	Протеин С — путь	Фибринолиз
Форбол-эфиры	↑	?	?
Иммунные комплексы	↑	?	?

Примечание: ↑ — повышает, активирует;
 — — не влияет;
 ↓ — снижает;
 ? — нет данных.

Эндотелиальный контроль функции сосудистой стенки

Разнообразные субстанции, продуцируемые эндотелиальными клетками, влияют на различные функции эндотелия, а также на сосудистый тонус. Диффундируемая субстанция EDRF (эндотелиальный релаксирующий фактор) вызывает, к примеру, ацетилхолин-индуцированную релаксацию аорты у кроликов. Последующие исследования показали, что EDRF представляет собой оксид азота (II), NO. NO является важной сигнальной молекулой в регуляции сердечно-сосудистой, нервной и иммунной систем. Эндотелиальный NO обладает множеством свойств: он вызывает вазодилатацию при воздействии на сосудистые гладкомышечные клетки, редуцирует повреждение в сосудах, тем самым, ослабляя связывание тромбоцитов с компонентами субэндотелия и редуцируя тромботическую активность тромбоцитов. Следовательно, ингибция синтеза NO способствует адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке. Кроме того, NO ингибирует Р-селектин-опосредованное связывание тромбоцитов с лейкоцитами.

Другим вазодилатором является брадикинин (BK), называемый так из-за его относительно слабой биологической активности («brady» — медленный, + «kinein» — движение), в противоположность более быстро действующему тахикинину. BK является членом кининового семейства регуляторных пептидов, проявляющих множественные биологические эффекты в различных тканях и органах. Он вызывает вазодилатацию и повышает сосудистую проницаемость, снижает системное кровяное давление, стимулирует фосфолипазу A2 и освобождение арахидоновой кислоты для синтеза простагландинов и лейкотриенов, вызывает сокращение гладкомышечных клеток гастроинтестинального, респираторного трактов и матки, и опостредует иммуно-клеточную стимуляцию и активацию чувствительных и симпатических нейронов. BK синтезируется в результате действия плазменного и тканевого калликреинов на предшественник кининогена, в результате чего высвобождается нанопептид — брадикинин. BK осуществляет свои эффекты, по крайней мере, посредством двух типов рецепторов — B1 и B2. Тем не менее, большинство физиологических эффектов BK осуществляется через B2-рецептор, в то время как B1-рецептор может быть вовлечен в процессы воспаления и другие патофизиологические процессы.

PGI2 (простациклин, простагландин I2) является мощным эндотелиальным вазодилататором, который регулируется гемодинамическими эффектами, такими как механические повреждения сосудистой стенки и пульсовые колебания кровяного давления, а также химическими медиаторами, включая тромбин, брадикинин, ангиотензин II, гистамин, PDGF (тромбоцитарный фактор роста), IL-1, TxA2 (тромбоксан A2) и адениновыми нуклеотидами. PGI2 является продуктом метаболизма арахидоновой кислоты (рис. 7) и осуществляет свои эффекты при связывании с G-протеиновым рецептором, связанным с аденил-циклазой, что ведет к повышению внутриклеточного содержания ц-АМФ. В отличие от NO, который ингибирует и адгезию и агрегацию активированных тромбоцитов частично через ц-ГМФ-зависимый механизм, PGI2 ингибирует лишь агрегацию тромбоцитов и не влияет на адгезию.

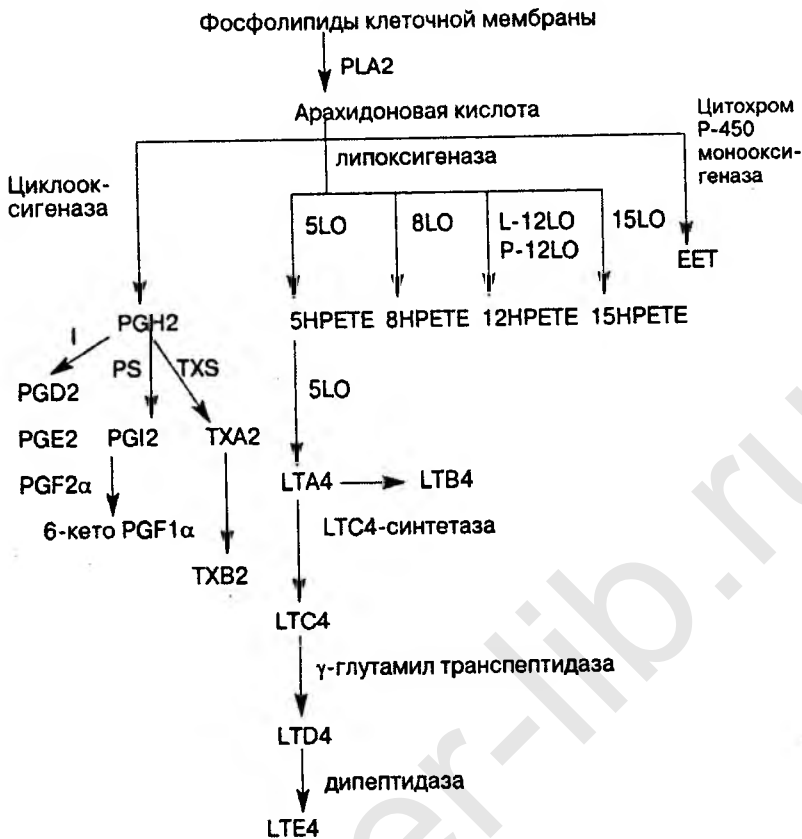


Рис. 7. Метаболический путь арахидоновой кислоты.

Начальным этапом образования продуктов окисления является высвобождение арахидоновой кислоты из мембранных фосфолипидов под действием фосфолипаз. После этого арахидоновая кислота окисляется 3 путями: через циклооксигеназу, липоксигеназу (LO) и цитохром 450- монооксигеназу. EET — эпоксиэйкозатетраеновая кислота; HPETE — гидроперокси-эйкозатетраеновая кислота; I — изомераза; L-12LO — липоксигеназа лейкоцитарного типа 12; LT — лейкотриены; P-12LO — липоксигеназа тромбоцитарного типа 12; PGH2 — простагландин H2 — эндопероксид; PGI2 — простаглицлин; PLA2 — фосфолипаза A2; PS — простаглицлинсинтетаза; TX — тромбосан; TXS — тромбосансинтетаза.

Помимо вазодилаторных субстанций, эндотелий высвобождает также вазоконстрикторы в ответ на различные стимулы. Мощным вазоконстриктором является эндотелин, который продуцируется множеством различных клеток и органов в организме человека. Эндотелин относится к семейству изопептидов, обозначаемых как ET-1, ET-2 и ET-3, которые связываются с разной аффинностью с тремя различными эндотелиновыми рецепторами, обозначаемыми ETa, ETв и ETс. В легких стимуляция ETa — рецепторов вызывает вазоконстрикцию, высвобождение TxA2 и бронходилатацию; в то же время стимуляция ETв — рецепторов вызывает вазодилатацию, высвобождение простаглицлина и бронхоконстрикцию.

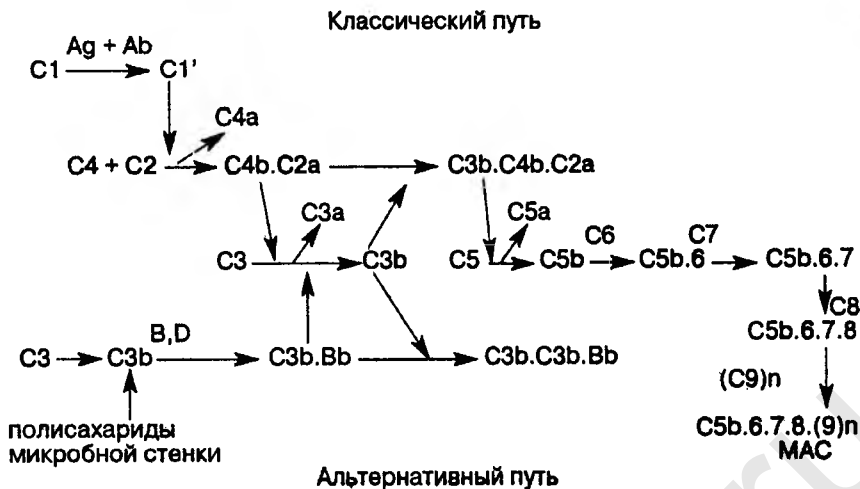
Ренин-ангиотензиновая система играет важную роль в регуляции кровяного давления и сосудистых изменений. Соответственно, локализация ACE (ангиотензин-превращающий фермент) на эндотелиальных клетках указывает на роль эндотелия в контроле кровяного давления. Ангиотензин II синтезируется из ангиотензина-I под действием ACE. Ангиотензин II связывается с рецепторами сосудистых гладкомышечных клеток и вызывает вазоконстрикцию.

Эндотелий и система комплемента

Данные многочисленных исследований свидетельствуют, что активация комплемента может значительно влиять на функцию эндотелия. Система комплемента обеспечивает инициацию воспалительного ответа и усиление первичного иммунного ответа. Хотя цитолитические свойства сыворотки впервые были описаны уже более чем 100 лет назад, только в последние годы были достигнуты успехи в понимании механизмов активации комплемента и повреждающих эффектов в отношении целостности и функций сосудистой стенки при патологической активации системы комплемента. Поверхностно связанные протеины эндотелиальных клеток играют роль в активации комплемента и локализации иммунных комплексов в области эндотелиального повреждения. Уже доказана рецептор-опосредованная депозиция C1q на эндотелии и, кроме того, недавно были обнаружены различные молекулярные особенности C1q рецепторов на эндотелиальных клетках человека.

Система комплемента и его регуляторов состоит из двух связанных между собой биохимических каскадов — классического и альтернативного путей (рис. 8). Классический путь обычно инициируется в случае связывания комплекса антиген-IgM или IgG с первым компонентом комплемента, C1. Этот инициальный этап классического пути контролируется C1-ингибитором, который связывается с C1i и C1s и отщепляет их от C1q. Активированный C4a и C4v, а также C2a и C2v, C4v и C2a фрагменты связываются, образуя C3-конвертазу, которая, в свою очередь, расщепляет третий компонент комплекса C3 с образованием C3a, C3v и соответственно C5-конвертазы, которая расщепляет C5 в C5a и C5v. Последние являются частью MAC (мембран-атакующий комплекс). Анафилотоксины C3a, C4a и C5a, освобождающиеся в процессе этого энзиматического каскада, играют ключевую роль в воспалительном ответе, а также обуславливают сокращение гладкомышечных клеток, изменение сосудистой проницаемости, хемотаксис и многие другие процессы. Анафилотоксины несколько отличаются друг от друга своими эффектами. C5a, наиболее мощный анафилоксин, действует как хемотаксический фактор для нейтрофилов, и непосредственно взаимодействует с эндотелиальными клетками, активируя ксантин-оксидазу-энзим, который продуцирует метаболиты кислорода, токсичные для тканей. Триггером альтернативного пути комплемента могут быть микробная поверхность (ее полисахарид) и некоторые другие комплексы полисахаридов C3v, образующиеся при спонтанном незначительном кливаже C3, связывается с нуклеофильными мишенями на поверхности клеток и образует комплекс с фактором В, который затем расщепляется фактором Д с образованием C3-конвертазы. Кливаж C3 и связывание дополнительно C3v с C3-конвертазой способствует в дальнейшем образованию C5-конвертазы альтернативного пути (рис. 8). В последующих реакциях, которые являются общими для обоих путей, C5-конвертаза в классическом и альтернативном путях расщепляет C5 с образованием C5a и C5v. После этого C5v последовательно связывается с C6, C7 и C8 с образованием C5в-8, который катализирует полимеризацию C9 с образованием MAC. Эта структура проникает внутрь эндотелиальной мембраны и мембраны других мишеней, вызывая лизис клеток. Однако депозиция небольших количеств MAC на клеточных мембранах ядерных клеток не вызывает их лизиса. В дополнение к цитолитическим свойствам, MAC является медиатором ряда клеточных процессов, включая продукцию метаболитов кислорода, эйкозаноидов (метаболиты арахидоновой кислоты), цитокинов, активацию энзимов, освобождение полипептидных митогенов и стимуляцию клеточной пролиферации.

Системная активация комплемента и генерация C5a стимулирует нейтрофилы и вызывает их секвестрацию внутри капилляров после повреждения эндотелиальных клеток в результате образования нейтрофилами токсических метаболитов кислорода. О вовлеченности активации комплемента в ишемические/реперфузионные повреждения свидетельствует депозиция C5в-9 в инфарктных тка-



Классический путь активируется иммунными комплексами из антигена (Ag) и антител (Ab) IgG или IgM-подклассов. Альтернативный путь активируется комплексом полисахаридов, например, стенки дрожжей, эндотоксинами, липополисахаридами и вирусными частицами. C3-конвертазы классического и альтернативного путей превращают C3 в C3b, а C5-конвертаза — C5 в C5b. C3a, C4a и C5a являются анафилатоксинами. Последующее взаимодействие C6, C7 и C8 и полимеризованных форм C9 и C5b образует мембран-атакующий комплекс (MAC) C5b-9. Система комплемента может регулироваться как растворимыми, так и мембран-связанными протеинами.

нях и тот факт, что sCR1 (растворимый рецептор комплемента типа 1), введенный непосредственно в область ишемии или реперфузионного повреждения может ингибировать повреждение тканей. Разработка рекомбинантного растворимого человеческого sCR1 без трансмембранного и цитоплазматического доменов может стать решающим шагом в терапии повреждения тканей в условиях ишемии и реперфузии, а также в других клинических ситуациях, обусловленных чрезмерной активацией системы комплемента. Комплемент-ингибирующая активность sCR1, его безопасность и длительный период полужизни, выявленные в клинических трайлах, обещают скорейшее внедрение sCR1 в широкую клиническую практику в качестве эффективного, антикомплементного терапевтического агента.

Взаимодействие лейкоцитов с эндотелием

Проникновение лейкоцитов через эндотелий в ткани является важным для поддержания, в том числе и противоопухолевого иммунитета, а также для защиты тканей от повреждений, вызванных инородными антигенами. Молекулы адгезии, вовлеченные во взаимодействия клетка-клетка и клетка — матрикс, являются членами четырех семейств рецепторов: селектинов, интегринов, подсемейства иммуноглобулинов (Ig) и кадеринов. Эти семейства рецепторов адгезии опосредуют целый комплекс процессов, ведущих к инфильтрации лейкоцитов в область воспаленных тканей. L-, P- и E-селектины вовлечены в инициальную, так называемую «rolling»-адгезию, когда лейкоциты выстраиваются вдоль эндотелия с участием хемоаттрактантов, освобождающихся из эндотелиальных клеток сосудистой стенки. Хемоаттрактанты связываются с G-протеиновыми рецепторами лейкоцитов, вызывая сигнальную активацию интегринов, которые вместе с членами Ig-подсемейства ведут к «выстраиванию» лейкоцитов вдоль эндотелия сосудистой стенки и к последующей миграции лейкоцитов в ткани. Среди моле-

кул, участвующих в прямой миграции лейкоцитов в ткани важную роль играют хемокины, которые секвестрированы на поверхности эндотелиальных клеток. Хемокины принадлежат семейству хемоаттрактантных цитокинов, классифицируемых в соответствии с наличием гомологичных аминокислотных последовательностей и цистеиновых участков следующим образом: CXC, CC и C. Семейство CXC-хемокинов в основном действует на нейтрофилы и негемапоэтические клетки; хемокины CC-семейства — а моноциты, эозинофилы и лимфоциты. Недавно были идентифицированы 4 класса CXC-семейства хемокинов. Эти протеины находятся как в форме мембран-связанных молекул на поверхности эндотелиальных клеток, так и в форме растворимых гликопротеинов. Последние формы обладают более мощной хемоаттрактантной активностью в отношении Т-клеток и моноцитов, в то время как мембран-связанные протеины индуцируют адгезию все же лейкоцитов.

Селективы связывают углеводные лиганды, содержащие фруктозу, включая так называемый спалил-Lewis* (Sle*). Sle* может ингибировать адгезию нейтрофилов, опосредованную E- и P-селектинами. Немногочисленные пока исследования показали, что нарушение взаимодействия между селектином и Sle* может быть терапевтически успешным в условиях воспаления. Назначение *In vivo* анти-Sle* моноклональных антител продемонстрировало кардиопротективный эффект у крыс с реперфузионным повреждением миокарда.

Активация комплемента играет ключевую роль в прямой миграции нейтрофилов в область воспаления и экспрессии рецепторов на лейкоцитах и тромбоцитах, что обуславливает адгезию и агрегацию в области тканевого повреждения (см. выше).

Гемостатические свойства поврежденного эндотелия

Под термином «эндотелиальные повреждения» понимают такие изменения в эндотелии, которые происходят в результате воздействия таких повреждающих стимулов (факторов), как механическая травма сосуда, цитокины, атерогенные липопротеины (гомоцистеин, липопротеины низкой плотности — ЛНП), липополисахариды (эндотоксины), иммунные комплексы и различные микроорганизмы. Таким образом, различные воспалительные, инфекционные и злокачественные онкологические заболевания, равно как метаболические расстройства могут быть связаны с расстройством гемостаза в результате повреждения эндотелия и связанного с ним изменением его свойств (табл. 3).

Исследования последних лет свидетельствуют, что при повреждении эндотелия изменяется и активность тканевого фактора, активность тромбомодулина (система протеина С), активация фактора V, фибринолитическая активность (t-PA, PAI-1). Обычно активность этих факторов меняется согласованно, в соответствии с повреждающими стимулами, индуцирующими экспрессию тканевого фактора, а также супрессию активации протеина С и фибринолиза. Таким образом, поверхность поврежденного эндотелия из антитромботической превращается в протромботическую.

Ключевую роль при повреждении эндотелиоцитов играет экспрессия тканевого фактора, так как TF является мощным инициатором коагуляции.

Недавно был открыт дополнительный механизм генерации тромбина эндотелиальными клетками. Поврежденные эндотелиоциты (ЕС) экспрессируют так называемый активатор протромбина, который может генерировать тромбин независимо от внешнего или внутреннего путей коагуляции. Было обнаружено также, что некоторые невазкулярные клетки также способны экспрессировать активатор протромбина.

Кроме того, способность ЕС в культуре и сосудистых ЕС *in situ* к экспрессии трипсина подтверждает, что эта протеаза также активно участвует в процессе коагуляции.

Регуляция системы протеина С поврежденными ЕС представляет большой интерес в связи с рецидивирующим характером тромбозов у пациентов с дефи-

цитом компонентов системы протеина С (протеины С и S). Сниженная регуляция системы протеина С зависит от тромбомодулина, ЕС-мембранного протеина, который в норме активирует протеин С после образования комплекса тромбин-протеин С. Тромбомодулин структурно гомологичен ЛНП-рецептору, который в свою очередь очень схож с рецептором, вовлеченным в эндоцитоз. Эффекты TNF- α на систему протеина С проявляются в повышении эндоцитоза и дегенерации тромбомодулина. Кроме того, TNF- α цитокин, который снижает активацию протеина С, способен ингибировать РНК тромбомодулина. Механизм супрессии гомоцистеином активности тромбомодулина по-своему уникален. Уровень гомоцистеина в крови повышается при метаболическом расстройстве, связанном с тромбозами и сосудистыми заболеваниями (гомоцистеинемия, гомоцистеинурия). Гомоцистеин обладает свободной сульфгидрильной группой, тогда как и тромбомодулин, и протеин С содержат дисульфидные домены. Уменьшение числа ключевых для тромбомодулина и протеина С дисульфидных связей в результате воздействия гомоцистеина (или других сульфгидрильных аминокислот) ведет к повреждению функций этих молекул и ингибции активности протеина С.

Поврежденные ЕС могут активировать мембран-связанный фактор V и тем самым повышать генерацию тромбина. В культуре ЕС гомоцистеин стимулирует синтез активатора фактора V и повышает фактор Ха-катализируемую активацию протромбина. Этот клеточный активатор расщепляет фактор V независимо от кливажа, индуцированного тромбином. Подобный кливаж фактора V наблюдается и при инкубации фактора V с атеросклеротическими сосудистыми полосками на модели животных в условиях гиперхолестеринемии.

Другим важным свойством ЕС является способность в условиях их повреждения снижать синтез t-PA и увеличивать — PAI-1, что снижает сосудистую фибринолитическую активность и ведет к усилению тромботического потенциала в результате недостаточного лизиса фибринового тромба.

Гемостатические свойства эндотелия в разных участках сосудистой системы

Гемостатическая активность ЕС в артериях, венах и капиллярах может значительно отличаться. Например, ЕС аорты в большей степени проявляет фактор V-активность, чем венозные ЕС, а PGI₂ (простаглицлин) — важнейший метаболит, секретируемый ЕС вен, не продуцируется эндотелиоцитами капилляров. Антикоагулянтная активность эндотелия растет в геометрической прогрессии с уменьшением калибра сосуда. Например, концентрация тромбомодулина в микроциркуляции в 1000 раз выше, чем в крупных сосудах. Соответственно в крупных сосудах циркулирующий свободно тромбин катализирует коагуляцию, в то время как в микроциркуляции тромбин в основном связан с тромбомодулином, обуславливая антикоагуляцию. Таким образом, прокоагулянтная активность доминирует в артериальной циркуляции, а антикоагулянтная активность — в микроциркуляции. Физиологическая роль такого распределения понятна: при артериальном повреждении необходимы быстрая секреция тромбина и образование фибринового сгустка, в то время как антикоагулянтные механизмы в венах и микроциркуляции, где ток крови замедлен, противостоят тромбозу.

Клиническое значение гемостатических свойств эндотелия

Существует, по крайней мере, 2 типа клинических расстройств, прямо связанных с гемостатической дисфункцией ЕС. Наиболее часто эндотелиальные расстройства связаны с генетическими аномалиями протеинов, секретируемых или регулируемых эндотелиоцитами, лежащими в основе тромбоэмболических заболеваний. К хорошо известным расстройствам этой группы относятся дефициты протеинов С и S, дефекты синтеза или освобождения ТРА, повышенная PAI-1-секреция и синтез мутантного фактора V (FV Leiden), который сопровождается состоянием резистентности к активированному протеину С (APC-resistance).

Вторая группа расстройств представлена врожденными или приобретенными расстройствами в результате аккумуляции в крови субстанций, которые нарушают гемостатическую функцию ЕС. Примером таких расстройств гемостаза являются гемоцистеинемия и семейная гиперхолестеролемиа. Гетеро- или мозиготная гемоцистеинемия ведут к дефициту или аномалиям в энзиме цистахиноин- β -синтетазе, что сопровождается повышением уровня гемоцистеина, вторичному сосудистому повреждению, а соответственно к нарушению гемостатической функции ЕС и тромбозам. При семейной гиперхолестеролемии повышенный уровень ЛНП вызывает модификацию (оксигенацию) липопротеина сосудистой стенкой с последующим образованием оксигенированного ЛНП. Оксигенированные ЛНП могут существенно повреждать ЕС и их функции, опосредуя тем самым тромботические проявления при сосудистых заболеваниях.

Другие приобретенные заболевания, связанные с повреждением ЕС, включают воспалительные расстройства, при которых повышенный уровень цитокинов в плазме, а также инфекционные заболевания, связанные с грам-отрицательными бактериями (эндотоксин). Эндотелиальные повреждения, вызванные энтерококком, вирусом простого герпеса, *Rickettsia rickettsii* или *Chlamydia pneumoniae* сопровождаются в основном повышенной индукцией TF-активности.

Сосудистый ответ на повреждение

Сосудистую сеть можно определить как комплексный, динамичный орган, полагающий широким спектром ответа на физиологические или патофизиологические стимулы. Сосудистые клетки обладают способностью воспринимать биохимические и гуморальные стимулы и изменять свою функцию и структуру, осуществляя ответ на повреждение того или иного генеза.

На сегодняшний день не вызывает сомнений, что развитие большинства сосудистых расстройств, как атеросклероз или рестеноз после ангиопластических вмешательств является патологическим ответом на патологические стимулы или повреждение.

Молекулярные или клеточные механизмы сосудистого ответа

Благодаря появлению новых технологий, таких как интраваскулярная ультразвуковая графия (IVUS) и молекулярный анализ материалов аутопсии и атероэктомии, стало возможным изучение тонких механизмов рестеноза после ангиопластического повреждения.

Изучение механизмов повреждения эндотелия и участия его в таких патологических состояниях, как рестеноз после ангиопластических вмешательств и атеросклероз, которые являются общемедицинскими проблемами, представляет интерес также и для акушеров-гинекологов как при ведении беременности и родов у женщин, перенесших реконструктивные операции на сердце и сосудах, так и при назначении гормональных контрацептивных препаратов и профилактике тромбоэмболических осложнений в гинекологии и онкогинекологии.

Большинство клеточных процессов, таких как клеточный цикл, апоптоз и фенотипическое изменение, являющихся дискретными процессами, часто при сосудистом ответе регулируются координированно. Первым проявлением, которое сопровождает сосудистый ответ на повреждение, является тромбообразование. При ангиопластическом повреждении по сути происходит удаление эндотелиоцитной поверхности, которая обладает антиадгезивной, антиагрегантной и профибринолитической активностью. Более того, в результате такого денудационного повреждения обнажается проадгезивная поверхность протеинов матрикса, таких как коллаген, фибронектин, фактор фон Виллебранда и фосфолипиды, которые связывают тромбоциты и способствуют образованию фибринового сгустка.

Образование тромба после сосудистого повреждения обусловлено участием множества медиаторов. При этом синтез эндотелиальных антитромботических факторов, как NO, простаглицлин, экто-АДФ-аза, гепаран-сульфат и t-PA, резко снижен или отсутствует. Таким образом, повреждающие стимулы (атеросклеротическая бляшка, ангиопластика и пр.) повышают уровень экспрессии протромботических медиаторов (рецепторы тромбина, PAI-1, TF и пр.) и снижают — антитромботических.

Взаимодействие лейкоцитов с сосудистой стенкой

Лейкоциты взаимодействуют с сосудистой стенкой в ответ на повреждение тканей. При этом они мигрируют через эндотелиальные клетки в область воспаленной ткани. Таким образом, при воспалительном процессе происходит аккумуляция жидкости и лейкоцитов в экстрацеллюлярном пространстве в области локализации инфекции или физического повреждения. В первую очередь при этом происходит адгезия лейкоцитов к эндотелию на протяжении сосудистой стенки и последующий диапедез их через соединение между соседними эндотелиоцитами в прилежащие ткани. Миграция лейкоцитов из кровотока в экстравакулярное пространство является тонко отрегулированным процессом.

В ответ на специфические стимулы различные лейкоциты аккумуляруются через различные промежутки времени в экстравакулярном пространстве. Так, при остром воспалении нейтрофилы быстро покидают кровоток в ответ на бактериальную инвазию. При хроническом воспалении лимфоциты проникают в ткани более отсрочено и обезвреживают вирусы и другие патогены посредством специфического иммунологического распознавания. Аллергический ответ нуждается также в миграции эозинофилов в ткани. Специализированной формой экстравазации лейкоцитов является непрерывная рециркуляция лимфоцитов через лимфоузлы и другие лимфоидные структуры. Этот процесс позволяет лимфоцитам встретиться с экзогенными агентами, которые должны быть распознаны антиген-презентивными клетками. Лимфоциты стимулируют, таким образом, приобретенную иммунологическую «память», что содействует их последующей миграции в нелимфатические ткани, инвазированные специфическими патогенами.

Лейкоцитарной адгезии и эмиграции способствуют следующие условия:

1. Гемодинамические изменения, способствующие повышению проницаемости сосудистой стенки и нарушению кровотока.
2. Экспрессия рецепторов на поверхности активированных ЕС, которые способствуют обратимой адгезии лейкоцитов.
3. Освобождение сигнальных молекул, которые активируют лейкоциты.
4. Экспрессия активированными лейкоцитами рецепторов, усиливающих адгезию к эндотелию и способствующих миграции.

Гемодинамические изменения

К ранним проявлениям при остром воспалении относится значительная дилатация кровеносных сосудов, сопровождающаяся миграцией протеинов плазмы и жидкости через сосудистую стенку.

В большей степени расширяются посткапиллярные вены. Вазодилатация и «просачивание» жидкости в ткани способствует более тесному контакту между циркулирующими лейкоцитами и эндотелием венул. Быстрое высвобождение вазодилатирующих субстанций из эндотелиальных клеток развивается в ответ на такие агонисты, как тромбин или гистамин. Эти вазодилататоры, которые вызывают релаксацию сосудистых гладкомышечных клеток, включают простаглицлин — метаболит арахидоновой кислоты, синтезирующейся в циклооксигеназном пути, и эндотелиальный релаксирующий фактор (EDRF) — лабильная субстанция, идентичная или близкородственная оксиду азота (NO). Сосудистая прони-

цаемость повышается в результате сокращения (контракции) эндотелиальных клеток в ответ на тромбин, гистамин или лейкотриен С₄. Дополнительно это связано с изменением эндотелиального цитоскелета под действием воспалительных цитокинов, как интерлейкин-1 β (IL-1 β), TNF α и γ -интерферон.

Обратимая адгезия лейкоцитов к активированному эндотелию

В процессе воспаления лейкоциты из тока крови «выстраиваются» и движутся вдоль эндотелиальной поверхности сосуда. Такой «роллинг» лейкоцитов требует определенных изменений эндотелия и происходит в области сосудистой стенки, граничащей с очагом воспаления. Эта обратимая адгезия опосредуется в основном группой рецепторов, известных как селектины — L-, E- и P-селектины. Каждый из трех селектинов содержит NH₂-концевой домен, гомологичный семейству Ca²⁺-зависимых лектинов (C-тип), EGF-подобного участка, нескольких коротких повторяющихся последовательностей, трансмембранный домен и короткий цитоплазматический хвост. Гены, кодирующие все три протеина, локализованы на 1-ой хромосоме.

P-селектин синтезируется мегакариоцитами и эндотелиальными клетками. Он накапливается в мембранах секреторных гранул — в α -гранулах тромбоцитов и тельцах Weibel-Palade эндотелиальных клеток. После стимуляции быстрыми активаторами, как тромбин или гистамин, P-селектин в считанные минуты переходит на клеточные поверхности, покидая гранулы и тельца Weibel-Palade. P-селектин связывается с нейтрофилами, моноцитами, эозинофилами, Т-клетками иммунологической памяти и клетками — естественными киллерами (NK-клетки). Таким образом, P-селектин является быстро индуцируемым рецептором для лейкоцитов на поверхности активированных тромбоцитов и эндотелиальных клеток. Максимальная экспрессия P-селектина на поверхности эндотелиальных клеток происходит в течение 5—10 минут после стимуляции тромбином или гистамином, затем в течение следующих 30—60 минут постепенно снижается в результате эндцитоза протеина. IL-1 β , TNF- α и LPS способны повышать уровень м-РНК P-селектина, тем самым, поддерживая механизм повышенной экспрессии P-селектина у мышей, однако эти медиаторы не обладают подобным эффектом в культуре эндотелиальных клеток человека. Тем не менее, цитокин IL-4 или онкостатин М, который вырабатывается в области аллергического или хронического воспаления, способен повышать уровень м-РНК P-селектина в культуре эндотелиальных клеток человека.

E-селектин также синтезируется эндотелиальными клетками, но только в ответ на LPS или воспалительные цитокины, как IL-1 β или TNF- α . Пик экспрессии E-селектина на клеточной поверхности наблюдается через 4 часа после экспозиции цитокинов, затем уровень его падает в течение последующих 12—24 часов в результате интернализации протеина и его деградации в лизосомах. E-селектин связывается с нейтрофилами, моноцитами, эозинофилами и Т-клетками памяти. Таким образом, E-селектин также является рецептором для лейкоцитов на поверхности активированных эндотелиальных клеток. Однако кинетика экспрессии E-селектина и медиаторы, индуцирующие ее, отличаются от таковых P-селектина.

L-селектины экспрессируются на поверхности всех нейтрофилов, моноцитов и \cong 70% лимфоцитов. L-селектин связывается с цитокин — активированными эндотелиальными клетками. Таким образом, L-селектин участвует в адгезии лейкоцитов к эндотелию в области воспаления. После активации нейтрофилов или лимфоцитов L-селектин быстро удаляется с клеточной поверхности путем протеолитического кливажа. Металлопротеиназы клеточной поверхности расщепляют L-селектин, что может снижать регуляцию L-селектин-опосредованную адгезию.

Подобно другим лектинам С-типа, селектины связываются с углеводными лигандами Ca²⁺-зависимым способом.

Селектины связываются с сиализированными и фукозилированными олигосахаридами, как Lewis* (SLE*) — концевым компонентом гликанов, связанных с

гликопротеинами и гликолипидами большинства лейкоцитов и некоторых эндотелиальных клеток. Хотя эти клетки должны быть сиализированными и фукозилированными при взаимодействии с селектинами, аффинность селектинов к изолированным SLE*-подобным олигосахаридам очень низка. Помимо этого, L- и P-селектины, но не E-селектин, связывают сульфатированные молекулы, как гепарин и сульфатиды. Таким образом, селектины с высокой аффинностью связываются только с несколькими гликопротеинами лейкоцитов или эндотелиальных клеток и эти гликопротеины должны быть сиализированными и фукозилированными при взаимодействии с селектинами. Более того, они должны быть сульфатированы для оптимального связывания с L- или P-селектинами.

Лейкоцитарный «роллинг» вдоль эндотелия обусловлен взаимодействием L-селектина с лигандами на поверхности эндотелиальных клеток, и посредством взаимодействия E- и P-селектинов на активированных эндотелиоцитах с лигандами на лейкоцитах. Физиологическая роль и важность селектинов была доказана при обнаружении врожденного расстройства метаболизма фукозы, называемого дефицитом лейкоцитарной адгезии 2 (LAD-2). У индивидуумов с LAD-2 отсутствует экспрессия лигандов селектина на лейкоцитах или на эндотелиальных клетках, в результате не происходит «роллинг» лейкоцитов и связывание их с E- и P-селектиновыми поверхностями. Клинически это проявляется более высокой заболеваемостью инфекционными болезнями, что в свою очередь еще раз подтверждает важность селектинов в инициации лейкоцитарной активности.

Из всего вышеизложенного следует, что лейкоциты не требуют активации для связывания с эндотелием посредством селектинов. Скорее должны быть активированы эндотелиальные клетки для осуществления экспрессии E- и P-селектинов и/или лигандов для L-селектина. В свою очередь транзитная селектин-опосредованная адгезия лейкоцитов способствует освобождению активаторов из стимулированного эндотелия или окружающих тканей.

Освобождение сигнальных молекул, активирующих лейкоциты

Лейкоциты могут быть стимулированы различными молекулами. Способность этих молекул связываться с клетками-мишенями зависит от экспрессии в течение определенного промежутка времени на лейкоцитах, которые адгезируются к эндотелию в области воспаления. К сигнальным молекулам относятся хорошо известные фосфолипидные сигнальные молекулы, тромбоцит-активирующий фактор (PAF) эндотелиоцитов и др., которые стимулируют как нейтрофилы, так и тромбоциты. Тромбин или гистамин индуцируют быстрый транзитный синтез и экспрессию PAF на поверхности эндотелиальных клеток. Далее P-селектин опосредует связь нейтрофилов с поверхностью активированных эндотелиальных клеток, где происходит их активация при взаимодействии PAF, экспрессированного на поверхности активированного эндотелия и PAF-рецепторов на нейтрофилах. Активированные нейтрофилы в свою очередь «включают» и другие молекулы адгезии, которые усиливают адгезию нейтрофилов. Другим активатором нейтрофилов является IL-8 и другие хемокины, которые могут связываться с протеогликанами на апикальной поверхности эндотелия, препятствующими диффузии этих хемокинов в кровоток. Так, E-селектин связывает нейтрофилы с активированным эндотелием, подготавливая их, таким образом, для последующей активации IL-8 посредством взаимодействия с IL-8-рецептором.

Нейтрофилы активируются также протеином системы комплемента C5a — бактериальным хемоаттрактантом и лейкотриеном B₄. Макрофаги, эндотелиальные клетки или другие клетки в области воспаления (хронического или аллергического) секретируют различные хемокины, как моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1 или эотаксин, которые активируют некоторые мононуклеарные клетки или эозинофилы.

Взаимодействие селектин-лиганд само по себе вызывает передачу сигнала внутрь лейкоцита. Большинство исследований свидетельствуют, что адгезия лей-

коцитов с очищенными E- или P-селектинами не вызывает сверхактивации, сопровождаемой повышением функции сверхинтегринов, секрецией содержимого гранул или освобождением радикалов кислорода, цитокинов или других молекул. Такое взаимодействие (селектин-лиганд) может продуцировать, в свою очередь, сигналы, которые интегрируются с сигналами, индуцированными хемокинами или липидными аутокоидами, что способствует усилению активации лейкоцитов. Например, P-селектин потенцирует свойство PAF и других агонистов стимулировать нейтрофилы. Моноциты синтезируют цитокины только при инкубации с P-селектином и PAF, но не секретуют их при инкубации с P-селектином или PAF по отдельности. Связывание L-селектина на нейтрофилах с антителами или сульфатидами (сульфатированный углеводный лиганд для L-селектина) вызывает повышение уровня свободного цитозольного кальция и потенцирует окислительные повреждения в ответ на бактериальный пептид формин-метионил-лейцил-фенилаланин. Такая потребность в костимуляции различных сигналов может ограничивать чрезмерную стимуляцию лейкоцитов в области, где наряду с различными агонистами экспрессируются селектины или селектиновые лиганды.

Экспрессия рецепторов адгезии активированными лейкоцитами

Интегрины, представляющие собой гетеродимерные молекулы, состоят из нековалентно связанных α - и β -субъединиц и являются широко распространенными рецепторами, которые опосредуют различные взаимодействия типа клетка-клетка, клетка-матрикс. Лейкоциты экспрессируют определенные специфические интегрины на своей поверхности, которые играют важную роль в адгезии к эндотелиальным и другим клеткам. Так, $\beta 2$ -интегрин, или CD11/CD18 молекулы, обнаружены только на лейкоцитах и содержат общую для всех трех β -цепь, связанную с одной из трех различных α -цепей. Лейкоцитарный опосредующий функцию антиген-1 (LFA-1 или CD11/CD18) присутствует на всех лейкоцитах. Важность этих молекул была подтверждена при обнаружении генетического дефекта β -субъединиц интегринов, обуславливающего недостаточную экспрессию всех трех β -интегринов и проявляющегося состоянием, называемым дефицитом адгезии лейкоцитов 1 (LAD-1). У пациентов с LAD-1 развиваются бактериальные инфекции, угрожающие жизни, поскольку в очаге инфекции происходит аккумуляция дефектных нейтрофилов. Мас-1 (CD11/CD18) и P150/95 (CD11c/CD18) экспрессируются на миелоидных клетках. Представители $\alpha 4$ -семейства интегринов — $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4, very late antigen 4) и $\alpha 4\beta 7$ (LPAM, lymphocyte Peyer's patch adhesion molecule), представлены на эозинофилах и мононуклеарных клетках, но не на нейтрофилах. Присутствие этих интегринов объясняет, почему лимфоциты, но не нейтрофилы аккумулируются в очаге воспаления у больных с LAD-1.

Подобно некоторым другим интегринам (в частности $\alpha\beta 3$ интегрины тромбоцитов), $\beta 2$ интегрины поддерживают адгезивные взаимодействия только в случае, если клетки, экспрессирующие их, активированы. В свою очередь, клеточная активация также усиливает функцию $\alpha 4$ -интегринов, хотя некоторые клетки обладают способностью экспрессировать уже активные формы этих молекул. Сигналы «изнутри-наружу» повышают связующую способность интегринов через конформационные изменения этих молекул и через изменения перераспределения различных молекул на клеточной поверхности, опосредованные цитоскелетными взаимодействиями.

Интегрины на активированных лейкоцитах взаимодействуют с эндотелиальными контррецепторами — членами семейства иммуноглобулинов (Ig). Эти протеины имеют серию протеин-подобных доменов, каждый из которых состоит из 90—100 аминокислот. LFA-1 связывается с двумя Ig-подобными протеинами — молекулами интерцеллюлярной адгезии 1 и 2 (ICAM-1 и ICAM-2). Мас-1 связывается с ICAM-1 и одним или более еще не известных контррецепторов, но не с ICAM-2. Эндотелиальные контррецепторы для p150,95 еще не идентифицирова-

ны, но вероятно, принадлежат к семейству Ig. VLA-4 и $\alpha 4\beta 7$ связывается с Ig-доме-ном Mac α CAM-1 (mucosal addressin-cell adhesion molecule-1) — эндотелиальным протеином с отдельным муциноподобным участком, который опосредует также и связь с L-селектином. Лейкоцитарные интегрины также связываются и с лиган-дами, отличными от Ig-молекул. Фибриноген одновременно стимулирует как Mac-1 на лейкоцитах, так и ICAM-1 на эндотелиальных клетках, выполняя роль молеку-лярного мостика для адгезии лейкоцитов. VLA-4 связывается с CS-1 (connecting segment-1) участком фибронектина, который может присутствовать на апикаль-ной поверхности эндотелия. Адгезия активированных лейкоцитов к эндотели-альным клеткам через $\beta 2$ -интегрины не требует активации эндотелиальных кле-ток. Базальный уровень ICAM-1 присутствует на поверхности эндотелиальных клеток, хотя при стимуляции IL-1 β или TNF- α уровень его повышается в течение 6—12 часов после стимуляции. ICAM-2 в норме экспрессирован на поверхности эндотелиальных клеток и не зависит от цитокиновой регуляции. Однако связыва-ние экспрессированного на активированных лейкоцитах VLA-4 с VCAM-1 проис-ходит только после того, как синтез последнего индуцирован цитокин-активиро-ванными эндотелиальными клетками. Пик экспрессии VCAM-1 наблюдается че-рез 12—24 часа после стимуляции и персистирует, по меньшей мере, 3 дня.

В статичных или неизменяющихся условиях связывание $\beta 2$ -интегринов с со-ответствующими Ig-подобными контррецепторами обеспечивает прочную адге-зию активированных лейкоцитов к эндотелию. Тем не менее, $\beta 2$ -интегрины сами по себе не поддерживают клеточную адгезию при изменяющихся условиях. На-пример, активированные нейтрофилы не адгезируются к иммобилизованному очищенному ICAM-1. Напротив, нестимулированные нейтрофилы движутся вдоль поверхности («rolling»), связанной с P-селектином и ICAM-1 и образуют стабиль-ную связь после предварительной активации. Нейтрофилы выстраиваются вдоль цитокин-активированных эндотелиальных клеток, связываются с E-селектином и формируют прочную $\beta 2$ -интегрин-опосредованную связь после активации нейт-рофилов. Блокада E-селектина моноклональными антителами предотвращает образование стабильной связи с интегринными. In vivo ингибиторы функции селе-ктинов предотвращают «rolling» лейкоцитов в воспаленных венулах, в то время как ингибиторы $\beta 2$ -интегринов предотвращают стабильное прикрепление нейт-рофилов к эндотелию, но не влияют на «rolling». Таким образом, селектины в пер-вую очередь поддерживают транзиторное взаимодействие лейкоцитов с эндо-телием, что позволяет лейкоцитам в течение адекватного времени активировать-ся и образовывать прочный контакт через $\beta 2$ -интегрин-зависимый механизм.

$\alpha 4$ -интегрины опосредуют и прикрепление, и «rolling» лейкоцитов в токе кро-ви с VCAM-1 или MAdCAM-1. В зависимости от степени активации $\alpha 4$ -интегри-нов, некоторые клетки кровотока прикрепляются и затем задерживаются на по-верхности эндотелия. Таким образом, некоторые интегрины, подобно селекти-нам, могут опосредовать инициальное связывание лейкоцитов. Несмотря на это, $\alpha 4$ -интегрины оптимально функционируют совместно с селектинами, а последо-вательные процессы прикрепления, «роллинга» и прочной адгезии являются ос-новным механизмом «комплектации» лейкоцитов на сосудистой стенке.

После прочной адгезии к эндотелию, лейкоциты мигрируют через межкле-точные соединения эндотелиоцитов в ткани. Миграция лейкоцитов в первую оче-редь требует уменьшения адгезивной связи с эндотелием. После того как лейко-циты активированы, L-селектин удаляется, и PSGL-1 (L-селектин) переходит из микрососудов в клетки капсулы почечного клубочка (подоциты). P-селектин уда-ляется из эндотелиальных клеток путем быстрого эндоцитоза. Повышенная свя-зывающая активность лейкоцитарных интегринов является транзиторной и ве-дет к дальнейшему ослаблению адгезии. Миграция происходит благодаря хемо-таксическому градиенту. Важность интегринов в трансэндотелиальной эмигра-ции подтверждается сниженным проникновением нейтрофилов в инфицирован-

ные ткани у лиц с дефицитом $\beta 2$ -интегринов, а также свойством анти- $\beta 2$ -антител ингибировать эмиграцию лейкоцитов *in vivo*. Адгезия активированных лейкоцитов к эндотелию вызывает дезорганизацию эндотелиальных межклеточных соединений и тем самым способствует эмиграции. Гомотипные взаимодействия Ig-подобной молекулы, PECAM-1 (platelet endothelial cell adhesion molecule-1) с лейкоцитами и эндотелиальными клетками также способствует эмиграции. Миграция нуждается в контролируемом протеолитическом «растворении» субэндотелиального матрикса, что способствует прохождению лейкоцитов в подлежащие ткани.

Дифференцированная экспрессия селектинов, интегринов и их контррецепторов регулирует аккумуляцию лейкоцитов в тканях. Индуцированная экспрессия эндотелиальными клетками P-селектина, E-селектина или лигандов для L-селектина ограничивает инициальную адгезию лейкоцитов и миграцию их в ткани, когда имеет место активация эндотелия. Стабильная адгезия специфических субклассов лейкоцитов может быть результатом генерации агонистов, стимулирующих исключительно лейкоциты или интегрины на лейкоцитах, или результатом регуляции эндотелиальных Ig-подобных молекул, которые распознают интегрины, представленные на некоторых (но не на всех) лейкоцитах.

Таким образом, множественная система контроля может обеспечивать ответ в виде быстрого перехода нейтрофилов в ткани, инвазированные бактериями, эмиграцию эозинофилов в ответ на аллергические медиаторы, и дополнительную эмиграцию лимфоцитов в область, инфицированную внутриклеточными патогенами, как, например, вирусы.

Взаимодействия лейкоцит-лейкоцит

В течение воспалительного процесса лейкоциты взаимодействуют не только с поверхностью эндотелиальных клеток, но и друг с другом. Лейкоциты из тока крови связываются с лейкоцитами уже адгезированными к поверхности эндотелиальных клеток. Это связывание является обычно транзитным, хотя лейкоциты также движутся вдоль адгезированных лейкоцитов, которые в свою очередь сами совершают «rolling» вдоль поверхности эндотелиальных клеток. Таким образом, взаимодействие лейкоцит-лейкоцит обеспечивает основной механизм для усиления лейкоцитарной аккумуляции у сосудистой стенки. Лейкоцит-лейкоцитарные взаимодействия иницируют селектины. L-селектин лейкоцита из кровотока или адгезированного лейкоцита может связываться с лигандами на других лейкоцитах, опосредуя, таким образом, двунаправленный механизм для быстрого связывания в условиях тока крови. Исследования с анти-PSGL-1 моноклональными антителами показали, что L-селектин иницирует связывание, в частности, через взаимодействие с определенным аминотерминальным участком PSGL-1, P-селектин которого распознается им.

Другие лиганды также могут осуществлять L-селектин-индуцированный контакт лейкоцитов друг с другом. Добавление к суспензии нейтрофилов такого агониста, как формил-метионил-лейцил-фенилаланин вызывает образование стабильных нейтрофильных агрегатов через взаимодействие $\beta 2$ -интегрин Мас-1 с лигандом на противоположной клетке. Аналогичным образом лейкоциты тока крови, которые связываются через L-селектин с адгезированными активированными лейкоцитами сосудистой стенки, могут усиливать их адгезию через взаимодействие с функциональными $\beta 2$ -интегринными адгезированных лейкоцитов. Таким образом, последовательный процесс связывания, активации и прочной адгезии, направленный на взаимодействие эндотелиальная клетка-лейкоцит, также включает и взаимодействия лейкоцит-лейкоцит.

Взаимодействия тромбоцит-лейкоцит

В ответ на сосудистое повреждение тромбоциты адгезируют к субэндотелиальным структурам, образуя тромбоцитарный сгусток, представляя мембран-

ную поверхность, которая поддерживает генерацию тромбина и фибрина. В некоторых случаях нейтрофилы и моноциты также ассоциируются с тромбоцитарными агрегатами в области геморрагии. *In vitro*, тромбоциты связываются с миелоидными клетками и некоторыми лимфоцитами, но только после активации агонистами, такими как тромбин. Активация тромбоцитов нуждается в наличии P-селектина, который мобилизуется из α -гранул на клеточную поверхность, где он опосредует контакт клетка-клетка при связывании с PSGL-1 на лейкоцитарной поверхности. Нейтрофилы из тока крови связываются и совершают «роллинг» вдоль адгезированных тромбоцитов. Агонисты нейтрофилов вызывают «роллинг» лейкоцитов и прочную связь их с поверхностью тромбоцитов через взаимодействие с β 2-интегрином Mac-1 с лигандами на поверхности тромбоцитов. Тромбоциты экспрессируют ICAM-2, лиганд для β 2-интегрина LFA-1, но взаимодействие между этими двумя протеинами не усиливает тромбоцит-нейтрофильную адгезию. В некоторых случаях «роллинг» лейкоцитов спонтанно задерживается, подтверждая тем самым, что активированные тромбоциты могут экспрессировать сигнальные молекулы, которые активируют нейтрофилы. Тромбоцит-лейкоцитарные взаимодействия также включают этапы связывания, активации и окончательной прочной адгезии.

Физиологическое значение тромбоцит-лейкоцитарного взаимодействия не совсем ясно. *In vivo*, P-селектин на активированных тромбоцитах связывается с лигандами L-селектина эндотелиальных клеток и PSGL-1 на циркулирующих лейкоцитах. Таким образом, активированные тромбоциты выступают в роли моста, который доставляет лейкоциты сосудистой стенке, обеспечивая иной механизм аккумуляции лейкоцитов в лимфоидных тканях или в очаге инфекционного повреждения тканей. Однако лейкоциты также могут доставлять тромбоциты в область воспаления, осуществляя механизм высвобождения тромбоцитарного фактора 4 (PF4), тромбоцитарного фактора роста и др. тромбоцитарных хемокинов.

Адгезия активированных тромбоцитов к лейкоцитам повышает секрецию цитокинов, TF или других медиаторов лейкоцита. Такие взаимодействия могут усиливать как воспаление, так и активировать систему гемостаза.

Патологические взаимодействия лейкоцитов

Дисрегуляция процессов адгезии и аккумуляции лейкоцитов вызывает повреждение тканей при различных воспалительных или тромботических расстройствах. Избыточная аккумуляция лейкоцитов участвует в патогенезе различных воспалительных заболеваний, как ишемическое реперфузионное повреждение, грам-отрицательный шок, ревматоидный артрит и др. Повреждение ткани происходит в результате высвобождения свободных радикалов кислорода, протеаз и др. медиаторов. Молекулы адгезии играют в этом процессе огромное значение.

Активированный комплемент и радикалы кислорода, которые часто обнаруживаются при сепсисе и ишемическом реперфузионном синдроме, мобилизуют P-селектин на поверхности эндотелиальных клеток *in vitro*. Радикалы кислорода пролонгируют экспрессию P-селектина на клеточной поверхности, в основном ингибируя эндцитоз. Эндотелиальная дисфункция снижает образование NO, — «мусорщика» радикалов кислорода, который в норме препятствует экспрессии P-селектина. Гипоксия также вызывает транслокацию P-селектина на поверхности эндотелиальных клеток. Характерно, что моноклональные антитела и другие ингибиторы P-селектина значительно редуцируют аккумуляцию нейтрофилов и повреждение ткани в большинстве ишемических реперфузионных моделей. Антитела к P-селектину снижают аккумуляцию нейтрофилов в тканях у крыс, инъецированных LPS, а также в некоторых моделях острого повреждения легкого у крыс. Антитела к L-селектину также снижают повреждение ткани в реперфузионно-ишемической модели, и в некоторых моделях острого повреждения легкого. Таким образом, L- и P-селектины в совокупности могут выполнять не только физиологическую функцию,

но и вовлекаться в процесс лейкоцит-опосредованного повреждения тканей при некоторых острых воспалительных расстройствах.

Окисляясь, липопротеины низкой плотности (ЛПН) активируют как тромбоциты, так и эндотелиальные клетки, способствуя P-селектин-зависимой агрегации тромбоцитов и лейкоцитов и адгезии лейкоцитов к артериальному эндотелию *in vitro* и *in vivo*. Курение способствует освобождению радикалов кислорода и вызывает подобные эффекты *in vivo*. Некоторые вирусные инфекции пролонгируют экспрессию P-селектина на поверхности эндотелиальных клеток. При атеросклерозе наблюдается экспрессия P-селектина на апикальной поверхности эндотелия атеромы, а также локальный синтез IL-4 или онкостатина M субэндотелиальными макрофагами или T-клетками. Экспрессированный на эндотелии P-селектин дополнительно может «привлечь» моноциты, в частности в области бифуркации артерии, где ток крови медленнее. Разрыв атеросклеротической бляшки вызывает агрегацию тромбоцитов и образование тромбина. Лейкоциты, аккумулярованные на адгезированных тромбоцитах, могут экспрессировать TF, и, как следствие, этого усиливают образование тромбина и фибрина. Исходя из вышесказанного, вполне объясним феномен усиления фармакологического тромболизиса в экспериментальной модели у приматов при введении моноклональных антител к P-селектину. Участие лейкоцитов в патогенезе воспалительных и тромбоцитарных расстройств открывает интересную перспективу в стратегии лечения, которая подразумевает мероприятия, препятствующие патологической аккумуляции лейкоцитов. Антиадгезивные препараты, включающие различные моноклональные антитела, пептиды, растворимые рекомбинантные протеины или олигосахариды, блокируют молекулы адгезии на эндотелии, лейкоцитах или тромбоцитах. Также терапевтические агенты могут быть использованы в сочетании с другой терапией. Так, например, при острой окклюзии коронарной артерии лечение включает тромбоцитарные препараты для восстановления кровотока и препараты, блокирующие агрегацию тромбоцитов с целью предотвращения острой реокклюзии, а также агенты, предотвращающие адгезию лейкоцитов с целью минимализации реперфузионного повреждения. Потенциальный риск таких агентов заключается в том, что помимо патологического может пострадать и физиологический процесс адгезии и аккумуляции лейкоцитов и, как следствие, снижается сопротивляемость организма в отношении инфекции. Тем не менее в экспериментальных исследованиях антитела к P- или L-селектинам не вызывали существенного повышения инфекционных заболеваний. Возможно, это связано со свойством $\alpha 4$ -интегринов связывать мононуклеарные лейкоциты и эозинофилы с эндотелием.

Вазоактивные факторы эндотелия

Уже более 100 лет назад было хорошо известно, что кровеносные сосуды играют важную роль в регуляции притока крови к органам. Последующие исследования показали, что в этой регуляции участвуют нервные, гуморальные и локальные механизмы контроля. С целью выяснения механизмов нервного контроля сосудистых реакций изучались эффекты денервации на кровоток в коже и других органах. Использование фармакологических антагонистов, последующее изучение роли гормона надпочечника — адреналина, нейротрансмиттера норадреналина и ренин-ангиотензиновой системы в дальнейшем привело к пониманию баланса между нервными рефлексам и гуморальными агентами, регулирующими кровяное давление.

В 70-е годы было распространено мнение, что эндотелиоциты являются инертными клетками, косвенно принимающими участие в регуляции кровотока, поскольку интактный эндотелиальный монослой препятствует агрегации тромбоцитов. Действительно, было выяснено, что повреждение эндотелиальных клеток с последующей агрегацией тромбоцитов и освобождением тромбоцитарных вазоконстрикторов играет важную роль в гемостатическом механизме. Однако уже в 1980 г. Robert Furchgott в своих исследованиях показал, что эндотелиальные

клетки играют важнейшую роль в локальном контроле кровотока. Он обнаружил, что механическая денудация (снятие слоя) эндотелия из изолированной артерии ведет к освобождению множества гуморальных агентов, как ацетилхолин, 5-гидрокситриптамин и брадикинин. Furchgott наблюдал интересный феномен: артерия с интактным эндотелием вызывала релаксацию другой артерии с денудированным эндотелием при соединении интимальных поверхностей двух артерий или при перфузии денудированной артерии кровью из интактной артерии. Тем самым он продемонстрировал наличие растворимой вазодилатирующей субстанции, которую он назвал «эндотелиальным релаксирующим фактором». Furchgott, Ignarro et al., Palmer et al. охарактеризовали химические и физические свойства этого релаксирующего фактора как существенно идентичные таковым NO (оксида азота). Эти свойства включают время полужизни 5 секунд в физиологических условиях, инактивацию супероксид-анионом, пролонгацию времени полужизни супероксид-дисмутазой, связывание и удаление с гемоглобином, а также свойство стимулировать растворимую гуанил-циклазу. Было обнаружено, что NO синтезируется в макрофагах и эндотелиальных клетках из аминокислоты L-аргинина. Физиологическая важность NO стала очевидной после наблюдения, что аналоги L-аргинина, как, например, L-NG-монометил аргинин (L-NMMA), который конкурентно ингибирует утилизацию субстрата энзимом, вызывают вазоконстрикцию и повышение кровяного давления. Эти исследования свидетельствуют, что постоянная локальная продукция NO является важным механизмом регуляции кровотока. Помимо этих оригинальных наблюдений, были получены данные, что NO принимает участие и в других физиологических функциях, включая регуляцию пролиферации сосудистых клеток, агрегации тромбоцитов и иммунного ответа, а также может выступать в роли нейротрансмиттера.

Синтез NO эндотелиальными клетками

NO-синтетаза

Оксид азота (NO) представляет собой свободный радикал с неспаренным электроном и продуцируется семейством трех энзимов. Эти три изоформы состоят на 50% из гомологичных аминокислот и кодируются тремя различными генами, расположенными на разных хромосомах. Помимо эндотелиальных изоформ (eNOS или NOS III), существуют также нейронные (nNOS или NOS I) и индуцируемые изоформы (iNOS или NOS II). Хотя все три изоформы могут присутствовать в кровеносных сосудах, в неповрежденных артериях в физиологических условиях преобладают NOS III. Каждая синтетаза катализирует пяти-электронное окисление одного или двух основных гуанидиновых атомов азота L-аргинина с образованием NO и L-цитруллина, а также промежуточного продукта N-гидрокси-L-аргинина. NOS III и другие изоформы во многом гомологичны с цитохром-Р-450 редуктазами, которые для осуществления активности нуждаются в наличии флавиновых нуклеотидов (FMN и FAD), NADPH и кислорода.

На экспрессию NOS III могут оказывать влияние многие факторы. Так, например, воспалительные цитокины оказывают двойной эффект на активность NOS III. В течение первых 24 часов цитокины повышают активность энзима. В последующие 48—72 часа усиливается деградация М-РНК NOS III, что ведет к снижению энзимной активности.

Регуляция освобождения NO

Базальное освобождение NO в физиологических условиях

Даже в отсутствие гормональной стимуляции NO освобождается из эндотелиальных клеток. Такое базальное освобождение вазодилататора ослабляет со-

кращение гладкомышечных клеток, что подтверждается усилением степени сокращения гладкомышечных клеток при удалении эндотелия или ингибции NOS III. Базальный уровень освобождаемого эндотелиоцитами NO, вероятно, сохраняется как при связывании энзима кальмодулином, так и при стабильном уровне внутриклеточного кальция.

Как и во всех клетках, уровень внутриклеточного кальция в эндотелиоцитах в условиях нормы поддерживается в результате баланса между поступлением Ca^{2+} в клетку и транспортным механизмом, выводящим Ca^{2+} из клетки. Важной особенностью эндотелиальных клеток является отсутствие у них кальциевых каналов L-типа. В связи с этим антагонисты кальциевых каналов L-типа не блокируют Ca^{2+} каналы в эндотелии. Это следует принимать во внимание при терапевтическом применении таких антагонистов с целью вмешательства в вазодилатирующую функцию. Базальный уровень внутриклеточного Ca^{2+} и, следовательно, освобождение NO зависят от электрофизиологических свойств Ca^{2+} каналов эндотелия, которые способствуют проникновению Ca^{2+} внутрь клетки и тем самым увеличивают отрицательный потенциал мембраны. Таким образом, гиперполяризация мембран эндотелиальных клеток способствует проникновению Ca^{2+} внутрь клетки и повышает уровень внутриклеточного кальция.

Гуморальная стимуляция

Освобождению NO способствует множество субстанций, стимулирующих рецепторы эндотелиальных клеток. Уровень внутриклеточного кальция при этом повышается посредством двух основных механизмов. Первый из них — рецептор, G-протеин-зависимая активация фосфолипазы C и выработка инозитол трифосфата; освобождение кальция из эндоплазматической сети. Второй механизм подразумевает поступление кальция в клетку извне при истощении внутриклеточных запасов Ca^{2+} . Хотя стимуляция эндотелиальных клеток таким агентами как ацетилхолин или брадикинин наиболее часто применяется в исследованиях эндотелий-зависимой вазодилатации, остается важным, окончательно не выясненным вопросом, влияют ли те же самые агенты на эндотелий-зависимую вазодилатацию в нормальных физиологических условиях. Так, нейротрансмиттер ацетилхолин не проявляет очевидной способности активировать эндотелиальные клетки после его высвобождения из холинергических нервов. Однако подобный механизм может играть важную роль в процессе вазодилатации, вызванной ацетилхолином, освобождаемым в области нервно-мышечного синапса скелетной мышцы, где он может вызывать усиление кровотока, обеспечивая тем самым метаболические потребности работающей мышцы. Кроме того, уже появились немногочисленные, правда, данные, что эндогенный брадикинин стимулирует эндотелиальные клетки нормальных физиологических условиях. Тем не менее, клинически значимый вазодилататорный ответ на ингибиторы ангиотензин-превращающего энзима у пациентов с сердечной недостаточностью или гипертонией может быть результатом аккумуляции брадикинина, который в нормальных условиях подавляется киназной активностью ангиотензин-превращающего энзима (см. ниже).

Регуляция сосудистого тонуса оксидом азота NO

Вазодилатирующее действие NO зависит от контрактильного состояния гладкомышечной сосудистой мускулатуры. Это состояние в первую очередь зависит от уровня внутриклеточного кальция, который в свою очередь регулирует активность контрактильных протеинов. Основной функцией NO является уменьшение уже повышенного уровня внутриклеточного кальция или предотвращение повышения его уровня под действием контрактильных агентов или миогенных механизмов. Хотя снижение уровня внутриклеточного кальция является основным механизмом вазодилатирующего эффекта NO, дополнительным механизмом

релаксации может быть снижение чувствительности гладкомышечных сократительных протеинов к кальцию. NO вызывает релаксацию гладких мышц, которые находятся в сокращенном состоянии в результате активации кальциевых каналов L-типа вследствие деполяризации, или при активации рецепторов под действием таких медиаторов как ангиотензин II, эндотелин или норадреналин. В последнем случае эти медиаторы вызывают сокращение путем G-протеин-опосредованной активации фосфолипазы C и как следствие инозитол-трифосфат — индуцированным повышением уровня внутриклеточного кальция. Свойство NO ингибировать различные сократительные механизмы свидетельствует, что эффекты NO на сосудистую гладкую мускулатуру разнообразны и избыточны. Более того, филогенетически раннее появление эндотелий-зависимой вазодилатации подтверждает крайнюю важность этого механизма.

Роль ц-ГМФ

Взаимосвязь между эндотелий-зависимой релаксацией и ц-ГМФ была замечена еще до идентификации медиатора релаксации — NO. Было замечено, что ингибиторы растворимой гуанилат-циклазы (метиленовый синий и LY83583) снижают эндотелий-зависимую релаксацию и что эндотелий-зависимая релаксация сопровождается повышением уровня циклического ГМФ (ц-ГМФ) в гладкомышечных клетках. Эти наблюдения имели ключевое значение в идентификации эндогенного эндотелиального медиатора, схожего с оксидом азота NO, освобождаемым из таких нитровазодилататоров как нитропруссид натрия и нитроглицерин.

Гуанилат-циклаза

Растворимая гуанилат-циклаза является широко распространенным гем-содержащим ферментом, который обладает высокой аффинностью к оксиду азота NO. При взаимодействии NO с гем-содержащим участком фермента степень конверсии ГТФ в ц-ГМФ значительно повышается. Уровень внутриклеточного циклического нуклеотида зависит от активности ряда фосфодиэстераз. Эти ферменты, которые расщепляют циклический нуклеотид, представляют собой одну из множества других внутриклеточных молекулярных мишеней для ц-ГМФ. Наиболее важной мишенью для ц-ГМФ является ц-ГМФ-зависимая протеинкиназа.

Ц-ГМФ-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа G)

Ц-ГМФ активирует ц-ГМФ-зависимую протеинкиназу, которая ответственна за фосфорилирование множества внутриклеточных мишеней, которые, в свою очередь, отвечают за регуляцию уровня внутриклеточного кальция. Последовательные активация гуанилат-циклазы оксидом азота, активация протеинкиназы G и фосфорилирование протеинов, регулирующих уровень внутриклеточного кальция, составляют сигнальный механизм, который является избыточным и чувствительным одновременно. Таким образом, протеины-мишени для ц-ГМФ, участвующие в сигнальном механизме, служат для дифференциации различных механизмов и усиливают ответ на низкий уровень NO. Протеинкиназа G представлена в клетках двумя изоформами: тип I — присутствует в гладкомышечных клетках, эндотелии и клетках крови, включая тромбоциты; тип II представлен в кишечном эпителии и в мозге. В гладкомышечных клетках протеинкиназа G существует в виде цитозольного фермента, хотя может ассоциироваться и с внутриклеточными структурами. Характерной особенностью активации протеинкиназы G циклической ГМФ является относительно меньший эффект этой реакции по сравнению с активацией протеинкиназы G циклической АМФ. Активация протеинкиназы G более важна для ц-АМФ-индуцированной релаксации гладкой мускулатуры, чем активация ц-АМФ-зависимой киназы (протеинкиназа А).

Мишенями протеинкиназы G являются транспортеры ионов кальция, которые снижают уровень цитозольного кальция как путем «выкачивания» его из клетки,

так и «накачивания» во внутриклеточные структуры, где образуются запасы ионов кальция. Эти белки-транспортёры включают Ca^{2+} -АТФазу плазматической мембраны и Na^+ - Ca^{2+} -переносчики, а также Ca^{2+} -АТФазу саркоплазматического ретикулула. Саркоплазматический Ca^{2+} -АТФазный насос активируется непосредственно после фосфорилирования фосфоламбана протеин-киназы G. Нефосфорилированный фосфоламбан связан с Ca^{2+} -АТФазой, ингибируя ее и ограничивая тем самым внутриклеточное накопление Ca^{2+} . При фосфорилировании фосфоламбана происходит диссоциация связи его с АТФазой, в результате чего активность АТФазы повышается. Помимо этого, возможно протеинкиназа G вмешивается в агонист-индуцированный сигнал, направленный на истощение внутриклеточных резервов Ca^{2+} , ингибируя как образование инозитол-трифосфата фосфолипазой C, так и чувствительность к нему рецепторов саркоплазматического ретикулула. Протеинкиназа ингибирует также активность кальциевых каналов L-типа путем прямой ингибиции или путем активации кальций-зависимых натриевых каналов, что вызывает гиперполяризацию мембраны и тем самым ингибицию Ca^{2+} каналов L-типа, которые для активации требуют деполаризации мембраны. В дополнение к этим эффектам Ca^{2+} -транспортных механизмов, протеин-киназа G также может регулировать активность киназы легкой цепи миозина, которая катализирует фосфорилирование легкой цепи миозина и ведет к сокращению мышечного волокна. Этот эффект протеинкиназы G является непрямым и опосредуется через его эффекты на уровень кальция. Таким образом, повышенная активность фосфатазы легкой цепи миозина является свойством протеинкиназы G. Эти многочисленные эффекты снижают чувствительность контрактильного аппарата к кальцию, обеспечивая тем самым миорелаксацию. Избыточность множественных механизмов, с помощью которых NO осуществляет снижение уровня внутриклеточного кальция и релаксацию гладкой мускулатуры сосудов, еще раз свидетельствует о важной роли NO в регуляции сосудистого тонуса.

Функции NO, независимые от ц-ГМФ

Как выше уже указывалось, благодаря способности к усилению сигнала, индуцированного NO через ц-ГМФ, даже небольшой (нанолярный) уровень NO может вызвать соответствующий ответ. Тем не менее, существует и ц-ГМФ-независимые механизмы, которые опосредуют ответ на более высокие (микромольные) концентрации NO. Поскольку концентрация NO, освобождаемого после стимуляции эндотелиальных рецепторов, соответствует такой концентрации, ц-ГМФ может принимать участие не во всех функциях NO. Так, в экспериментальной модели атеросклероза, эндотелий-зависимая релаксация может развиваться в отсутствие сколько-нибудь заметного увеличения содержания ц-ГМФ. Этот ответ развивается в результате прямой активации NO Ca^{2+} -зависимых натриевых каналов, которая вызывает гиперполяризацию клеточных мембран гладкомышечных клеток и релаксацию гладкой сосудистой мускулатуры. Этот эффект NO связан с S-нитрозилированием протеина тиоловой группы, обладающего чувствительностью к окислительно-восстановительным реакциям (редокс-сенситивный протеин), и связанного с ионным каналом. Другой гиперполяризующий ион-транспортный механизм, натрий-калиевая АТФ-аза, которая содержит редокс-сенситивную тиоловую группу, также может активироваться NO независимо от ц-ГМФ.

Существует ряд других потенциальных эффектов NO на клеточные протеины, хотя функциональное значение их еще не достаточно понятно. Эти эффекты включают снижение активности ферментов, содержащих железо-сульфидную группу, АДФ-рибозилирование протеинов и эффекты, опосредованные образованием нитротирозина.

«Судьба» NO, освобождаемого сосудистыми клетками

NO, освобождаемый из сосудистых клеток, попадает в кровоток, где взаимодействует с клетками крови, а также за пределы просвета сосуда, где взаимодей-

ствуется с клетками в пределах сосудистой стенки. Он может образовывать нитрозо-тионы на экстра- и интрацеллюлярных протеинах. Некоторые из этих нитрозо-тионов могут формироваться на функциональных молекулах-мишенях, таких как гуанил-циклаза или ионные каналы (см. выше); а также на белках-переносчиках, как альбумин и пр. Кроме того, по некоторым данным, гемоглобин эритроцитов может служить транспортировщиком NO.

NO может окисляться как кислородом, так и супероксид-анионом. Супероксид-анион продуцируется эндотелиальными и другими сосудистыми клетками в нормальных условиях аэробного метаболизма. Эндогенная супероксид-дисмутаза, которая связывает и удаляет супероксид-анион, таким образом, препятствует значительному распаду NO. Тем не менее, в патологических условиях, при тяжелых заболеваниях, уровень супероксид-аниона повышается и вызывает повышенный распад NO, значительно уменьшая эндотелий-зависимую релаксацию. Конечными продуктами окисления NO являются нитриты и нитраты; образование этих продуктов зависит от кислорода или железа гема. Промежуточным продуктом реакции NO с супероксид-анионом является пероксинитрит-анион (OONO⁻). Пероксинитрит-анион является высоко реактивным и способен вызывать перекисное окисление липидов (ПОЛ) и нитрозирование протеина тирозина и тиолов. В патологических условиях концентрация как NO, так и супероксидного аниона увеличивается.

Взаимодействие NO с клетками крови и сосудистыми клетками

Освобождение NO эндотелиоцитами в ответ на вазоактивные факторы тромбоцитов и лейкоцитов

Рецепторы эндотелиальных клеток могут физиологически активироваться гуморальными агентами при агрегации тромбоцитов и тромбозе. В норме сосудистый эндотелий препятствует агрегации тромбоцитов через освобождение NO и простаглицлина (см. ниже). Кроме того, нормальный эндотелий отвечает за вазодилатацию при освобождении продуктов тромбоцитов и коагуляционных факторов при образовании сгустка. Агрегируясь, тромбоциты вызывают эндотелий-зависимую релаксацию изолированных кровеносных сосудов и дилатацию сосудистого русла. Вазодилатацию в результате агрегации тромбоцитов вызывают в основном высвобождаемые из них аденозин 5-дифосфат и 5-гидроксинитрамин, которые взаимодействуют с соответствующими рецепторами эндотелиальных клеток. Протеолитическая активность тромбина является результатом активности свертывающего каскада, которые активируют рецепторы эндотелиальных клеток и тем самым повышает освобождение NO. Тромбоцитарные фактор роста и вазопрессин также могут опосредовать эндотелий-зависимую вазодилатацию в процессе свертывания. Важность вазодилатации в ответ на высвобождение этих тромбоцитарных субстанций возрастает в ситуациях, когда эндотелий поврежден или высвобождение NO снижено ингибиторами или при некоторых заболеваниях. Возможно, что лизис эритроцитов и высвобождение гемоглобина в области сгустка ингибирует вазодилатацию путем связывания и удаления NO. Эндотелий также играет роль в осуществлении сосудистого ответа на действие лейкоцитов. Интраартериальное введение активаторов лейкоцитов, хемотаксического пептида, C5a, или N-формил-метионил-лейцил-фенилаланина вызывает вазодилатацию в нормальном сосудистом русле, но вазоконстрикцию при атеросклерозе.

Основные тромбоцитарные медиаторы, аденозин 5-дифосфат и 5-гидрокситриптамин являются важными субстанциями, опосредующими вазодилатацию. Вазоконстрикцию вызывает тромбоксан A₂, высвобождаемый как из активированных тромбоцитов, так и активированных лейкоцитов, а также лейкотриены, супероксид-анион и простагландин E₂, высвобождаемые из лейкоцитов. Взаимодействие тромбоцитов, лейкоцитов и эндотелиоцитов может осуществлять-

ся следующим образом: аденозин-дифосфат лейкоцитов или эндотелиальных клеток, представленный на поверхности клеточной мембраны (экто-АТФаза) ограничивает ответ тромбоцитов с освобождением АДФ.

Ангиотензин и брадикинин

Эндотелий является основным местом локализации ангиотензин-превращающего фермента (АПФ), который превращает ангиотензин I в ангиотензин II — первичный гуморальный медиатор ренин-ангиотензиновой системы. Ангиотензиноген этой системы, синтезируемый в печени, циркулирует в крови и превращается в ангиотензин I под действием ренина в почках и в других органах. Ангиотензин I, сам по себе не обладающий вазоактивностью, превращается в ангиотензин II под действием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) в почках, легких и других тканях. Ангиотензин II, являясь мощным вазоконстриктором, обеспечивает эндотелий-зависимую констрикцию сосудов при превращении из ангиотензина I ангиотензин-превращающим ферментом эндотелия.

АПФ обладает также активностью киназазы II — дипептидазы, ответственной за расщепление нонапептида брадикинина с образованием неактивных гепта- и пентапептидов. Поскольку брадикинин стимулирует продукцию эндотелиальными клетками NO через стимулирующий брадикининовых рецепторов типа 2, активность АПФ снижает вазодилатирующий эффект в результате расщепления брадикинина.

Фармакологические и терапевтические эффекты ингибиторов АПФ, наиболее выраженным из которых является снижение кровяного давления, объясняют уменьшение эффектов ангиотензина II или усиление эффектов брадикинина. Как антагонисты рецепторов ангиотензина II, так и ингибиторы АПФ снижают кровяное давление и уменьшают признаки сопутствующей сердечной недостаточности. Тем не менее, эффекты ингибиторов АПФ более выражены, может быть, в связи с последующей стимуляцией NO брадикинином. Использование ингибиторов NO-синтетазы и антагонистов брадикининовых рецепторов (типа 2) еще раз подтвердило, что успешность применения в терапевтической практике ингибиторов АПФ при инфаркте миокарда, атеросклерозе и кардиальной гипертрофии в большой степени обусловлена брадикинин-опосредованным освобождением NO.

Освобождение NO другими клетками и взаимодействие его с различными клетками крови и сосудов

NO может синтезироваться не только эндотелиоцитами, но и другими клетками, включая тромбоциты, лейкоциты, макрофаги, гладкомышечные клетки, нейроны и фибробласты. Тромбоциты и лейкоциты содержат NOS, подобные NOS эндотелиальных клеток, тогда как в других клетках синтез NO индуцирует NOS II.

Тромбоциты

Благодаря многочисленным исследованиям стало известно, что цитозоль отмытых тромбоцитов может обуславливать превращение L-аргинина в NO в присутствии ионов Ca^{2+} . Более того, *in vitro* процесс агрегации тромбоцитов, индуцированный кислотой или коллагеном отмечается Ca^{2+} -зависимое увеличение концентрации ц-ГМФ, который ингибируется L-NMMA. Это свидетельствует, что тромбоциты содержат NO-синтетазу (NOS). Физиологическое значение ее подтверждает тот факт, что ингибция синтеза NO с помощью L-NMMA повышает агрегацию тромбоцитов, стимулированную коллагеном. Таким образом, на активацию тромбоцитов может влиять NO, освобождаемый как эндотелиальными клетками, так и самими тромбоцитами.

Нейтрофилы

Нейтрофилы также способны к освобождению NO и вазодилатации. Цитозоль нейтрофилов содержит NO-синтетазу, схожую с таковой эндотелиальных

клеток. NO играет важную роль в процессе обезвреживания бактерий нейтрофилами. Об этом свидетельствует тот факт, что L-NMMA снижает хемотаксис, аккумуляцию нейтрофилов и обезвреживание стафилококков.

Макрофаги

Индукцируемая форма NO-синтетазы (NOS II) впервые была обнаружена в макрофагах при воздействии эндотелия или цитокинов. Было отмечено, что последующая отсроченная L-аргинин-зависимая продукция NO зависит от синтеза другого протеина NOS II. NOS II продуцирует NO в больших концентрациях, поскольку, с одной стороны, синтез самого энзима также индуцируется, активность его не является Ca^{2+} -зависимой, в отличие от NO-синтетазы эндотелиальных клеток. NO, синтезируемый NOS II участвует в процессах уничтожения бактериальных клеток макрофагами.

Гладкомышечные клетки и фибробласты

Эндотоксин и цитокины вызывают быстрое образование NOS II в культуре гладкомышечных клеток и фибробластов и соответственно синтез NO в большом количестве из L-аргинина, который, в свою очередь, может быть предотвращен ингибиторами NO-синтетазы. Снижение сосудистого тонуса может быть результатом продукции NO как гладкомышечными клетками, так и фибробластами сосудистой стенки. Этот механизм лежит в основе гипотензии при высвобождении бактериального эндотоксина при сепсисе и обратимой гипотензии под действием ингибиторов NO-синтетазы. Кроме того, синтез NO гладкомышечными клетками индуцируется цитокинами и ингибирует рост гладкомышечных клеток и агрегацию тромбоцитов. Индукция NOS II в сосудистых клетках играет важную роль не только при сепсисе, но и других патологических процессах. Так, повреждение при баллонной дилатации сонной артерии в эксперименте у крыс, сопровождается раздражением неointимы. Этот процесс модулируется различными факторами роста, тромбином и цитокинами. Считается, что цитокины ответственны за присутствие NOS II в неointиме и снижение сосудистого тонуса. Однако было обнаружено, что факторы роста могут ингибировать экспрессию NOS II в культуре клеток, что свидетельствует о том, что отчасти их стимулирующий рост эффект зависит от ограниченной продукции NO в области повреждения. Освобождение цитокинов лейкоцитами сопровождается индукцией NOS II при различных воспалительных процессах, включая артриты. Большое количество NO, продуцируемого NOS II, может быть активным само по себе или осуществлять свою функцию через образование пероксинитрита, принимая участие в процессах воспаления и повреждения тканей. Свойство глюкокортикоидов и салицилатов ингибировать экспрессию NOS II, является одной из составляющих противовоспалительного эффекта этих препаратов.

Нервная регуляция вазодилатации

В некоторых кровеносных сосудах, включая коронарные и церебральные артерии, кишечник, эректильные ткани пениса человека, вазодилатацию опосредует вегетативные нервы при освобождении катехоламинов, которые активируют β -адренорецепторы; ацетилхолина, который активирует гладкомышечные и, возможно, эндотелиальные мускариновые рецепторы; пептидов, как, например, вазоактивный интестинальный пептид, а также NO. В некоторых случаях NO может выступать в роли основного нейротрансмиттера, хотя чаще играет дополнительную роль. NO может синтезироваться NOS I, которая присутствует в нейронах.

Другие эндотелиальные вазоактивные факторы.

Помимо NO, существует множество других эндотелиальных факторов, которые однако не играют столь важную роль, как NO. Эти факторы могут участвовать в регуляции сосудистого тонуса, а также взаимодействовать с сосудистыми клетками. Таким образом, эти факторы могут выходить на первый план в условиях различных сосудистых заболеваний.

Эндотелиальные гиперполяризующие факторы

Помимо NO, который осуществляет вазодилатирующий эффект через гиперполяризацию клеточной мембраны путем прямой активации калиевых каналов или через цГМФ и протеин-киназу G, другие вазодилатирующие эндотелиальные факторы также способны вызвать гиперполяризующий ответ. Эти факторы включают простаглицлин и продукты цитохрома P450 — производные арахидоновой кислоты. Тем не менее, недавние исследования показали, что в основном гиперполяризующий ответ возникает за счет воздействия NO. Интересен тот факт, что на 20% вазодилатирующий ответ обеспечивается гиперполяризацией гладкомышечных клеток при воздействии эндотелиальных вазодилататоров. Наиболее известный из них — брадикинин, который вызывает гиперполяризацию глубоко в коронарных артериях. Возможно, именно эндотелий-зависимая гиперполяризация опосредует терапевтический эффект ингибиторов ангиотензин-превращающего энзима (см. ниже).

Метаболиты арахидоновой кислоты

Повышенный уровень эндотелиального внутриклеточного кальция вызывает активацию NO-синтетазы и других Ca^{2+} -зависимых ферментативных систем. Последние включают фосфолипазу A2, которая расщепляет фосфолипиды клеточной мембраны с образованием арахидоновой кислоты. Освобождающиеся при этом свободные жирные кислоты метаболизируются циклооксигеназой, липоксигеназой и цитохромом P450 с образованием более действенных вазоактивных продуктов — эйкозаноидов.

Простаглицлины

Простаглицлин (PGI₂) был первым вазоактивным продуктом, обнаруженным при освобождении его из эндотелиальных клеток, и является доминирующим простаглицлином, синтезируемым этими клетками. Эффект PGI₂ в отношении агрегации тромбоцитов более значителен, чем влияние на сосудистый тонус. Этот простаглицлин является одним из основных, но не единственным метаболитом арахидоновой кислоты. Арахидоновая кислота, отщепляясь от фосфолипидов, под действием циклооксигеназы метаболизируется до эндопероксида, простаглицлина H₂ (PGH₂). PGH₂ представляет собой субстрат для ряда простаглицлин-синтезирующих энзимов, которые образуют PGI₂, PGE₂ и PGF₂α, широко представленные в гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов.

Все простаглицлины являются вазоактивными субстанциями, хотя их активность зависит от «специфики» того или иного простаглицлина и сосудистой стенки. PGI₂ проявляет свои эффекты на гладкомышечные клетки через рецептор и повышает внутриклеточную концентрацию циклического АМФ (цАМФ). В свою очередь, протеин-киназа A подобная концентрации внутриклеточного кальция. Важность этого механизма заключается в активации АТФ-зависимых калиевых каналов с последующей гиперполяризацией и релаксацией гладкой сосудистой мускулатуры. В эксперименте, хотя PGI₂ вызывает вазодилатацию сосудов сердца у кроликов, аорта не реагирует на PGI₂, но отвечает сокращением на высокие концентрации через тромбоксан-A₂-подобный рецептор. Таким образом, эффекты PGI₂ весьма различны у разных животных. Вероятно, физиологическая роль PGI₂ в основном ограничена микроциркуляцией, где его эффекты наиболее актуальны, но даже здесь по значимости NO превосходит PGI₂. Об этом свидетельствует тот факт, что ингибция синтеза простааноидов ингибиторами циклооксигеназы ведет к незначительному изменению кровяного давления по сравнению с гипертензией, вызванной ингибцией NO.

PGI₂ ингибирует агрегацию тромбоцитов и способствует их дезагрегации. Это действие опосредовано повышением внутриклеточного уровня цАМФ. Физиологическая роль PGI₂ заключается в предотвращении активации тромбоцитов и,

подобно вазодилатирующей роли PGI₂, и здесь, вероятно, синергично взаимодействует с NO. Более того, важнейший эффект нормальных эндотелиоцитов, заключающийся в предотвращении адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке, не претерпевает изменений под действием аспирина, который ингибирует продукцию PGI₂.

Другие простагландины также могут продуцироваться в довольно высоких концентрациях, участвуя в сосудистом гемостазе. PGH₂, как предшественник всех простагландинов, обнаруживается в наибольших количествах. Он является мощным вазоконстриктором, однако выраженность этого эффекта зависит от быстроты превращения PGH₂ под действием простагландин-синтетазы в вазодилатирующие продукты — производные арахидоновой кислоты, как, например, простаглицлин. При различных сосудистых заболеваниях, включая сахарный диабет и гипертензию, превращение PGH₂ в простаглицлин может быть нарушено, что ведет к эндотелий-зависимому сокращению сосудистой мускулатуры под действием PGH₂.

Было доказано, что активированные тромбоциты могут высвобождать экстрацеллюлярно PGH₂, который в свою очередь, может быть использован эндотелиальными клетками в качестве субстрата для превращения его в PGI₂. Тем самым PGH₂, освобождаемый активированными тромбоцитами косвенно может опосредовать антиагрегантный эффект эндотелия. Таким образом, превращение PGH₂ в PGI₂ в эндотелиальных клетках является ключевым процессом, нарушение же баланса между эндотелий-зависимой вазодилатацией и вазоконстрикцией может быть причиной различных сосудистых заболеваний.

Циклооксигеназа в организме представлена в форме двух энзимов. Основная форма, циклооксигеназа I (COX-1) присутствует в большинстве клеток, включая эндотелиальные клетки. Другая форма циклооксигеназы, COX-2, индуцируется цитокинами в эндотелиальных и др. клетках. Индукция COX-2 и, как следствие, повышенное образование простаноидов, могут играть роль в различных воспалительных процессах, таких как артриты и пр.

Липоксигеназные и эпоксигеназные продукты арахидоновой кислоты

Липоксигеназная активность эндотелиальных клеток проявляется синтезом различных вазоактивных субстанций, включая гидроперокси- и гидроксиэйкозотетраеновые жирные кислоты (HETEs), лейкотриены и липоксины. (рис. 7) Исследования последних лет показали, что ингибиторы этой энзимной системы блокируют ацетилхолин-индуцированную релаксацию. Образование этих метаболитов арахидоновой кислоты особенно актуально в процессе взаимодействия лейкоцитов и тромбоцитов с эндотелием. Поэтому некоторый «токсический» эффект ингибиторов циклооксигеназ может быть результатом «шунтирования» или, иначе говоря, «переключения» метаболизма арахидоновой кислоты от циклооксигеназного к липоксигеназному.

Цитохром P450-эпоксигеназы продуцируют из арахидоновой кислоты эпокси-эйкозатриеновые кислоты, которые также обладают вазоактивностью. Эти продукты арахидоновой кислоты проявляют различную активность в отношении ионных каналов и могут регулировать высвобождение NO из эндотелиальных клеток. Кроме того, эти продукты действуют на гладкомышечные клетки подобно гиперполяризующим факторам. Тем не менее, точную роль метаболитов арахидоновой кислоты определить довольно сложно, поскольку метаболиты и ингибиторы их продукции могут неспецифически снижать продукцию, усиливать распад или препятствовать действию NO.

Эндотелины

Эндотелины представляют собой группу из трех различных пептидов ET-1, ET-2 и ET-3, которые обладают вазоконстрикторным свойством и кодируются тремя различными генами. Вазоконстрикторная активность эндотелинов исключительно важна и обуславливает длительное сокращение сосудистой мускулатуры, кото-

рое может быть предотвращено протеазами и ингибиторами синтеза протеинов. Известно, что из трех пептидов лишь ET-1 синтезируется эндотелиальными клетками. Каждый из пептидов состоит из 21 аминокислоты. ET синтезируется в 2 этапа: с образованием промежуточной биологически неактивной формы на I этапе («большой» ET) и последующим образованием зрелой активной формы ET-1 в результате кливажа «большого» ET на II этапе. Кливаж «большого» ET осуществляет эндотелин-конвертирующий энзим, активность которого, в свою очередь, могут предотвращать фосфорамидон или металл-хелаторы, характерные для металлопротеиназ. Синтез ET-1 усиливается тромбином, вазоактивными субстанциями, освобождаемыми тромбоцитами, и ингибируется NO. Некоторое время, исходя из вазоконстрикторных свойств ET-1, считалось, что он может выступать в роли физиологического вазоконстриктора или же является одним из составляющих в патогенезе гипертензии. Однако эта гипотеза была пересмотрена после обнаружения следующей особенности: в эксперименте на мышах «выключение» гена, кодирующего ET-1, не предотвращало развитие гипертензии. Это послужило основой для другой гипотезы, согласно которой ET опосредует свое действие через два класса рецепторов, ET_A и ET_B, которые, в конечном счете, и ответственны за различный клеточный ответ. Гипертензия у мышей с «выключенным» ET-геном может объясняться наличием ET_B рецепторов на эндотелиоцитах, которые опосредует повышение концентрации внутриклеточного кальция и освобождение NO и простаглицина, что ведет к вазодилатации.

ET_B—рецепторы и освобождение NO и простаглицина также опосредуют начальный гипотензивный ответ на внутривенное введение ET, расслабление отдельных сосудов при интактном эндотелии и ингибицию *in vivo* агрегации тромбоцитов, вызванной эндотелином. Тем не менее, основным и устойчивым эффектом ET в высоких дозах *in vivo* и *in vitro* является вазоконстрикция, обусловленная, в основном, действием на ET_A—рецепторы гладкомышечных клеток сосудов.

Блокада ET-рецепторов или эндотелин-конвертирующего энзима, согласно последним данным фармакологических исследований, может быть весьма эффективной при различных патологических состояниях, сопровождающихся вазоконстрикцией, включая инфаркт миокарда, цереброваскулярный вазоспазм, ассоциированный с субарахноидальным кровоизлиянием, гипертензию и др.

Заключение

Нормальный эндотелий отвечает за вазодилатацию, ингибицию активации тромбоцитов и лейкоцитов и контроль роста и пролиферации сосудистых клеток. Оксид азота (NO) является наиболее важным медиатором этих процессов. Множество других факторов, также синтезируемых или метаболизируемых в эндотелии, включая продукты арахидоновой кислоты, брадикинин, ангиотензин II и эндотелин, могут также играть значительную роль, однако их эффект выступает на передний план, когда функция NO нарушена фармакологическими препаратами или в результате сосудистых заболеваний. Большинство патологических сосудистых проявлений есть следствие нарушения баланса между NO и другими факторами, продуцируемыми клетками крови. Агрегация тромбоцитов, которая является ключевым механизмом, опосредующим острые кардиоваскулярные синдромы при коронарной и церебральной ишемии, является истинным примером взаимосвязи между субстанциями, освобождаемыми из эндотелия и тромбоцитов. Ингибция адгезии и агрегации тромбоцитов осуществляется не только через освобождение NO нормальными эндотелиальными клетками и тромбоцитами, но и благодаря синтезу PGI₂ (простаглицлину) эндотелиальными клетками из PGH₂, тем самым, способствуя усилению антиагрегантного эффекта. Более того, вазоактивный ответ на тромбоцитарные субстанции прямо зависит от NO, освобождаемого из эндотелиальных клеток или, в отсутствие нормального функционирования эндотелиальных клеток, от рецепторов гладкомышечных клеток, которые опосредуют вазоконстрикцию.

Развитие сосудистых заболеваний также может быть результатом дисбаланса между вазоактивными факторами, так как все известные факторы риска возникновения кардиоваскулярных заболеваний повреждают функцию эндотелиальных клеток уже задолго до появления каких-либо структурных повреждений или клинических проявлений. Это касается и проблемы тромбоемболических осложнений в акушерстве, гинекологии, онкологии и других областях медицины, поскольку часто исподволь происходящие и остающиеся невыясненными эндотелиальные нарушения ведут к неожиданным для практических врачей тромботическим проявлениям, а в ряде случаев могут участвовать и в патогенезе акушерской патологии. Поскольку гипертензия, агрегация тромбоцитов, лейкоцитарная инфильтрация и атеросклеротические повреждения усиливаются при фармакологической ингибиции NO, вполне вероятно, что такое повреждение жизненных функций в условиях кардиоваскулярных факторов риска способствует дальнейшему прогрессированию этих проявлений при сосудистых заболеваниях. А так как такие известные факторы риска сосудистых заболеваний, как гипертензия, диабет и гиперхолестеринемия быстро и повреждающе влияют на эндотелиальную функцию, исследователи единогласно придерживаются мнения о необходимости понимания врачами важности функции эндотелия и немедленного, «агрессивного» лечения эндотелиальных расстройств, в первую очередь, конечно, путем минимизации факторов риска.

Недавние исследования показали, что поврежденная функция эндотелиальных клеток не является необратимым процессом при сосудистых заболеваниях и может быть восстановлена путем максимального устранения факторов риска, изменением образа жизни, использованием антиоксидантов и пр.

Таким образом, для исследователей изучение функции эндотелиальных клеток может служить в качестве мониторинга прогрессирования сосудистого заболевания, его возникновения или успешности его лечения.

Образование фибрина и его стабилизация

Образование фибрина и его стабилизация представляют собой финальный этап формирования тромба, при котором растворимый фибриноген превращается в нерастворимый фибрин под действием тромбина и фактора XIIIa. Превращение фибриногена в нерастворимый фибриновый матрикс включает 3 фазы: 1) отщепление фибринопептидов под действием тромбина; 2) полимеризация фибрина; 3) ковалентная стабилизация под действием фактора XIIIa.

Наследственные или приобретенные аномалии протеинов свертывающей системы, вовлеченных в процесс стабилизации фибрина, могут вести к серьезным геморрагическим проявлениям, что демонстрирует важность этих протеинов в регуляции гемостаза. Фибрин, образующийся в отсутствие фактора XIIIa, не может обеспечивать адекватный матрикс для заживления раны или надежный барьер, препятствующий кровопотере.

Фибриноген является сложным 3-доменным дисульфидно связанным гликопротеином, молекула которого состоит из двух симметричных половин, каждая из которых содержит по три полипептидные цепи: $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ и γ (рис. 9). Молекулярная масса молекулы фибриногена составляет 340 кДа, при этом молекулярные массы $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ и γ -цепей соответственно составляют 63,5; 56,0 и 47,0 кДа.

Наряду с миозином и актином, фибриноген относится к фибринозным протеинам. Молекула фибриногена имеет диаметр 9 нм при длине около 4,5 нм. Центральный домен (E-домен) имеет диаметр 5 нм, а аминокотерминальные концы всех шести полипептидных цепей образуют N-концевые дисульфидные «узлы». Два D-домена каждой половины молекулы фибриногена образованы двумя «наружными узлами», составленными C-концами $\beta\beta$ - и γ -цепей. E-домен отделен от D-доменов спиралевидным участком, состоящим из 11—112 аминокислот каждой цепи ($\alpha\alpha$, $\beta\beta$ и γ), так называемым «coiled-coil» доменом (рис. 10). Спиралевидную структуру этот домен имеет благодаря дисульфидным S-S мостикам, которые обеспечивают механическую стабильность молекулы.

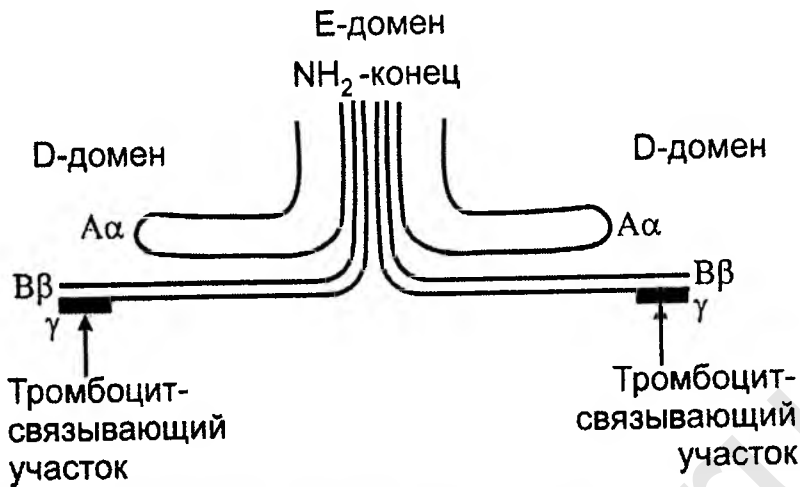


Рис. 9. Структура фибриногена.

Фибриноген состоит из двух частей, состоящих в свою очередь из трех идентичных цепей $A\alpha$, $B\beta$ и γ , дисульфидно связанных друг с другом. Морфологически, фибриноген состоит из трех доменов: двух D- и одного центрального E-домена. Основные тромбоцит-связывающие участки расположены в C-концевых участках γ -цепей.

Третичная структура молекулы фибриногена делает ее доступной для селективного протеолитического кливажа. Плазмин в первую очередь отщепляет C-концевую гидрофильную 1/3 $A\alpha$ -цепи (жирная стрелка на рис. 10) с образованием фрагмента X ($M_r = 240\text{—}260\text{ кДа}$). Фрагмент X из двух «coiled-coil»-доменов расщепляется с образованием фрагмента Д (M_r около 100 кДа) и в дальнейшем расщепляется в области оставшегося «coiled-coil»-участка с образованием вторичных фрагментов Д и Е ($M_r \approx 45\text{ кДа}$).

Цепи фибриногена гомологичны друг другу (первичная структура полипептидов). $A\alpha$ -цепь, протяженностью в 610 аминокислот, состоит из трех эквивалентных участков. N-концевой участок (с 1 по 194 аминокислоту) связан дисульфидными связями с двумя $B\beta$ и γ -цепями. Участок с 195 по 239 аминокислоту является протеаза-чувствительным доменом, содержащим большое количество пролинов и четыре плазмин-кливажных участка. Средняя треть $A\alpha$ -цепи (аминокислоты 240—424) богата неполярными аминокислотами и содержит tandem повторяющихся последовательностей из 13 аминокислот. Два глутаминовых остатка от аминокислоты 328 и 366 составляют перекрестно связанный «акцепторный» участок $A\alpha$ -цепи. Так, фибриноген и α_2 -антиплазмин-связывающие участки присутствуют в C-конце $A\alpha$ -цепи.

$B\beta$ -цепь, протяженностью в 461 аминокислоту, также состоит из трех участков. Первые 80 аминокислот почти на 15% идентичны $A\alpha$ -цепи и вместе с N-концами других цепей образуют E-домен или, иначе N-концевой дисульфидный узел (рис. 10). Средний участок цепи (аминокислоты 81—192) содержит дисульфидно связанные петли колец в составе «coiled-coil»-домена. Третий участок (аминокислоты 193—461) входят в состав D-домена (рис. 10).

γ -цепь, которая состоит из 411 аминокислот, состоит из 3 участков. Первый состоит всего из 18 аминокислот. Второй участок (средний, с 19 по 129 аминокислоту) содержит дисульфидные кольца в составе «coiled-coil»-домена. Последний участок (130—411 аминокислоты) образует глобулярный сегмент D-домена (рис. 10). γ - и $B\beta$ -цепи имеют почти 35% идентичных аминокислотных последовательностей в концевой трети молекулы. Однако γ -цепь содержит C-концевую последовательность из 18 аминокислот, которая участвует в XIIIa-опосредо-

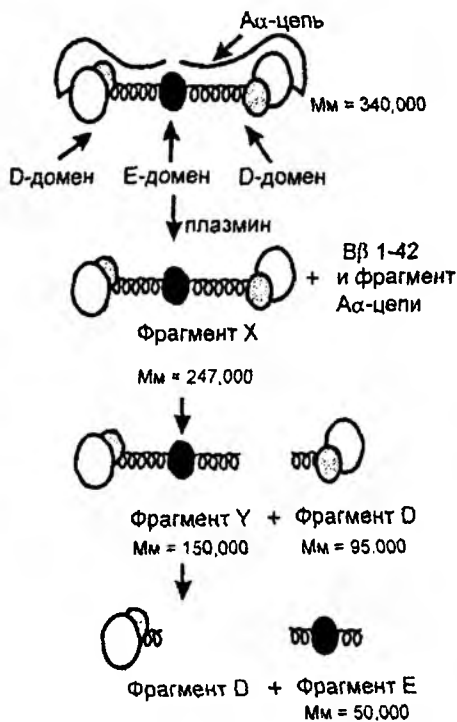


Рис. 10.

Фибриноген представлен в виде тридольной структуры. Центральный E-домен отделен от двух D-доменов спиралевидным участком (т.н. «coiled-coil» домен). Каждый D-домен представлен двумя субдоменами (светлый овал — C-концевой участок γ -цепи; заштрихованный овал — C-концевой участок $\beta\beta$ -цепи). Фрагмент X является первым ранним продуктом «расщепления» фибриногена под действием плазмина. Фрагмент X содержит два D-домена, E-домен и «coiled-coil» домен, однако теряет C-концевой «хвост» $\alpha\alpha$ -цепи и пептид $\beta\beta$ 1-42 NH2-концевого участка $\beta\beta$ -цепи.

Фрагмент Y состоит из центрального E-домена, связанного спиральным «coiled-coil» доменом с одним из концевых D-доменов. Фрагмент Y может затем расщепляться с освобождением второго D-домена и фрагмента E при кливаже «coiled-coil» домена.

Образование фибринопептидов А и В

Первая фаза образования фибрина складывается из кливажа двух специфических Arg-Gly связей в $\alpha\alpha$ и $\beta\beta$ -цепях под действием тромбина с освобождением фибринопептидов А и В из N-концов молекулы (рис. 11). Освобождение фибринопептида А ($\alpha\alpha$ с 1 по 16 аминокислоту) инициирует процесс, при котором фибрин превращается в гель, состоящий из связанных друг с другом фибриновых волокон.

ванном перекрестном связывании. С-конец γ -цепи также содержит последовательности, обуславливающие склеивание молекул под действием стафилококка, клеточную адгезию и агрегацию тромбоцитов.

Ионы кальция Ca^{2+} модулируют структуру и функцию фибриногена. Молекула фибриногена обладает тремя Ca^{2+} -связывающими участками. Два из этих участков составлены аминокислотными остатками 311—336 γ -цепи в D-домене. Когда Ca^{2+} связывается с этими участками, γ -цепь защищена от расщепления плазмином. Третий Ca^{2+} -связывающий участок расположен в E-домене.

Ионы Ca^{2+} также регулируют полимеризацию фибрина при латеральной ассоциации протофибрилл с образованием фибриновых нитей.

Углеводы β - и γ -цепей также играют роль в полимеризации фибрина. Углеводы связаны с аминокислотами фибриногена N-гликозидными связями. Дефекты полимеризации фибрина развиваются, когда с фибриногеном связываются аномальные углеводы, в особенности остатки сиаловой кислоты, что имеет место при циррозе печени.

В молекуле фибриногена обнаружены две различные (как по размерам, так и по заряду) формы γ -цепи. γ -цепь, составляющая 85%, короче и более положительно заряжена, нежели γ -цепь, которая длиннее и заряжена более отрицательно (составляет около 15% в молекуле). Две формы γ -цепи всегда присутствуют в молекуле фибриногена, хотя механизмы физиологического контроля этого соотношения еще не ясны. С-концевая последовательность не влияет на перекрестное связывание фибрина, но влияет на свойство фибриногена, содержащего γ -цепь, поддерживать агрегацию тромбоцитов. Последние исследования свидетельствуют, что γ -цепь является своеобразным «транспортером» зимогена — фактора XIII в циркулирующей крови.

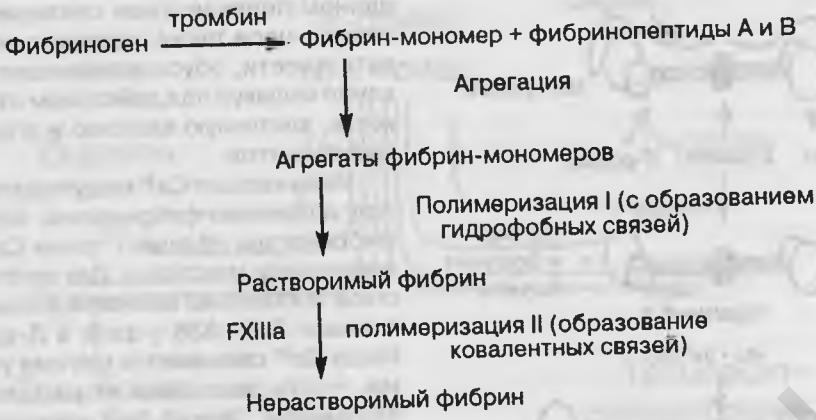


Рис. 11. Образование фибрина.

В первую очередь происходит отщепление фибринопептида А; фибринопептид В подвергается кливажу в меньшей степени. Однако в процессе связывания фибриновых волокон степень кливажа фибринопептида В значительно увеличивается. Кливаж фибринопептида В тромбином может усиливаться как за счет конформационных изменений, индуцированных полимеризацией фибрина, так и за счет освобождения фибринопептида В из растворимых полимеров фибрина.

Образование полимеров фибрина

Во вторую фазу образования фибрина тромбин-катализируемое освобождение фибринопептидов А и В обнажает 2 связывающих участка в центральном E-домене и ведет к образованию молекул-мономеров фибрина, которые затем образуют полимеры фибрина (рис. 12). Связывающие участки центрального E-домена мономеров фибрина могут взаимодействовать с комплементар-

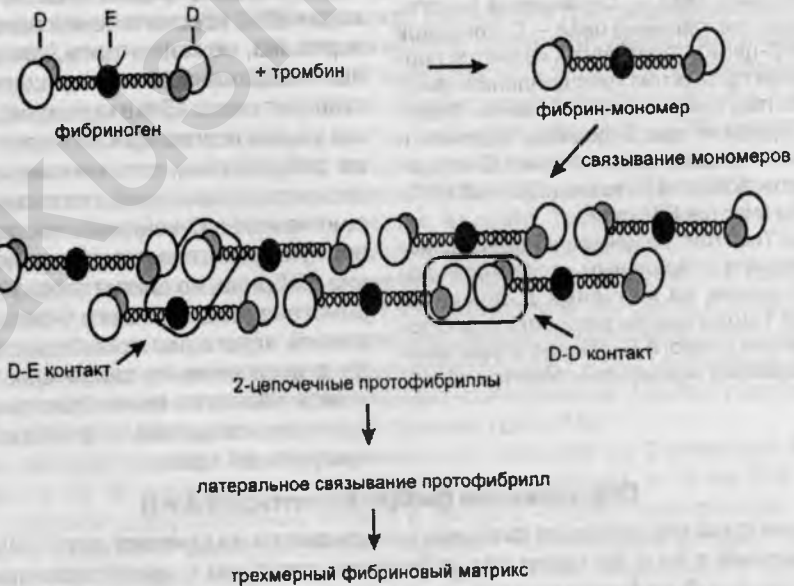


Рис. 12. Схематическая модель « сборки » фибрина.

ными участками D-доменов γ -цепи других мономеров фибрина. Такое нековалентное взаимодействие между мономерами называют участком D-E-контакта. D-E контакты обуславливают стабильность более длинных полимеров фибрина, состоящих из связанных друг с другом молекул-протофибрилл (рис. 12).

Последние исследования показали, что карбокситерминальные участки γ -цепи играют важную роль в полимеризации фибрина. В результате образования новых D-E и дополнительных D-D-контактов, путем связывания мономеров фибрина с димерами. В результате формируется трехмерная структура молекулы. Протофибриллы образуются в процессе удлинения молекул мономеров фибрина. Протофибриллы латерально связываются друг с другом; эта нековалентная связь отличается от D-E-контактов и чувствительна к изменениям pH, присутствию ионов и температуры. Участки молекулы фибрина, ответственные за латеральное связывание протофибрилла фибрина, еще не идентифицированы.

Полимеризация фибрина является обратимой экзотермической реакцией. Экзотермическая природа процесса обусловлена образованием водородных связей между молекулами фибрина. Связанные водородной связью молекулы фибрина находятся в обратимом равновесии, которое может измениться при изменении pH. Протофибриллы и их комплексы связываются друг с другом с образованием фибриновой сети. Только 20% объема фибринового геля составляют белки, и 80% составляет раствор.

Кофакторная функция фибрина и стабилизация фибрина

Фибрин выполняет важную кофакторную функцию при модуляции эффектов тромбина, плазмينا, плазминогена, тканевого активатора плазминогена (t-PA) и фактора XIIIa в составе сгустка.

Регуляция тромбина

Будучи связанным с фибрином, тромбин защищен от инактивации антитромбином III и комплексом гепарин-AT III. Однако такой связанный с фибрином тромбин остается активным и может играть роль в усилении фибринообразования и активации фактора XIII. Это объясняется тем, что для связывания с фибрином используется участок тромбина, так называемый экзосайт, отличный от активного сайта. Важность связывания тромбина с фибрином демонстрирует патология гемостаза при дисфибриногемиях. Так, врожденный дефект фибриногена New-York I связан с дефектом связывания с тромбином, что ведет к тромботическим расстройствам. Быстрый лизис фибрина различными фибринолитическими агентами способствует освобождению тромбина, который может расщеплять фибриноген и провоцировать ретромбоз *in vivo*.

Тромбин-связывающие и антикоагулянтные свойства фибрина впервые были обнаружены Seegers и соавт., а процесс связывания тромбина с фибрином детально исследуется и в настоящее время различными исследовательскими группами.

Модуляция фибринолиза

Фибрин модулирует фибринолиз через регуляцию фактора XIIIa, t-PA, плазминогена и связывание α 2-антиплазмينا со сгустком. Лизиновый остаток 303 A α -цепи ковалентно перекрестно связывается с α 2-антиплазмином через фактор XIIIa. Эта реакция чрезвычайно важна для обеспечения резистентности фибрина к расщеплению плазмином. У пациентов с дефицитом α 2-антиплазмينا отмечаются серьезные, опасные для жизни кровотечения, подобные тем, что возникают при дефиците фактора XIII.

Молекулы плазминогена нековалентно связываются с фибрином, и число молекул плазминогена, связываемых с фибрином, возрастает при расщеплении фибрина плазмином и экспозиции новых лизиновых остатков с высокой аффиннос-

тью к лизин-связывающим участкам плазминогена. Повышенное связывание плазминогена с частично расщепленным фибрином повышает количество плазмينا, генерируемого на поверхности фибрина, и тем самым усиливает фибринолиз; тем не менее, связывание плазминогена с фибрином не является обязательным условием для фибрин-индуцированного образования плазмина, так как комплекс t-PA-фибрин может эффективно связывать плазминоген и превращать его в плазмин. Фактор XIIIa, перекрестно связанный с фибрином, также может вызывать экспозицию лизин-связывающих участков плазминогена.

Связывание t-PA с фибрином повышает степень кливажа плазминогена и образование плазмина. «Оккупация» фибрин-связывающего участка на t-PA повышает его активность в сотни раз. Такое усиление активности t-PA присуще в некоторой степени и молекулам фибриногена, и связано это с наличием лизин-содержащего участка в α -цепи (остатки 148—161). Gly-Pro-Arg-Pro-связывающий участок молекулы фибрина(ногена) важен для активации t-PA и является связывающим участком для t-PA в начале процесса взаимодействия между t-PA и фибрином. Перекрестное связывание фибрина через фактор XIIIa маскирует высокоаффинные связывающие участки для t-PA, что является дополнительным механизмом регуляции фибринолиза.

Роль фибрина (фибриногена) в условиях повреждения ткани и в ангиогенезе

Заживление раны, образование стромы опухоли и воспаление являются процессами, сопровождаемыми образованием фибрина и продуктов деградации фибрина (FDP). Образование фибрина и FDP стимулирует различные типы ответов сосудистых клеток, направленных на возвращение тканей к нормальному физиологическому состоянию.

Фибриновая сеть представляет собой временный матрикс, который обеспечивает ревазуляризацию поврежденной ткани. Образование фибрина является результатом активации свертывания крови, которая сопровождает такие процессы, как тромбоз, рост опухоли, воспаление и играет при этом существенную роль в патологическом ответе тканей. Вслед за повреждением тканей происходит экстравазация фибриногена из кровеносных сосудов в экстравакулярное пространство с образованием фибринового матрикса. Воспалительные клетки и эндотелиальные клетки мигрируют в такой матрикс и стимулируют процессы репарации.

Роль фибрина в ремоделировании тканей заключается в стимуляции специфического ответа множества различных клеток, включая фибробласты, клетки крови и эндотелиальные клетки. При сосудистом повреждении аккумуляция фибрина, фибриногена и продуктов деградации фибрина (фибриногена) оказывает влияние на функцию эндотелиальных клеток. Так, фибриноген влияет на адгезию и структуру цитоскелета эндотелиальных клеток и фибробластов. Экспозиция эндотелиальных клеток и фибрина *in vitro* провоцирует разнообразные ответы эндотелиоцитов, включая секрецию vWF, нарушение монослойной организации эндотелия, повреждение межклеточных контактов и миграцию. Отщепление фибринопептида В от фибриногена под действием тромбина ведет к экспозиции участка β 15—42 фибриновой β -цепи, в свою очередь, этот феномен может усиливать пролиферацию клеток и модулировать цитоскелет. Фибриновый матрикс также индуцирует миграцию эндотелиальных клеток и образование капилляров. Продукты деградации фибрина (фибриногена) могут стимулировать освобождение эндотелиальных факторов роста, способствуют разъединению эндотелиальных клеток и их репарации, а также повышать сосудистую проницаемость. Кроме того, фрагмент Д может повышать секрецию активатора плазминогена и тем самым образование плазмина. Это, в свою очередь, может вести к протеолизу экстрацеллюлярного матрикса.

В раннюю фазу заживления раны фибриновый сгусток представляет собой первичный экстрацеллюлярный матрикс, куда мигрируют эндотелиальные клет-

ки и фибробласты и пролиферируют, участвуя в образовании новых кровеносных сосудов. Фибронектин, перекрестно связываясь с фибриновым матриксом, усиливает рост эндотелиальных клеток через модуляцию адгезии и распространение клеток. Трехмерная структура матрикса фибринового сгустка способствует изменению формы эндотелиоцитов в округлую с образованием структур в виде микротрубок. Депозиты фибриновой сети влияют на структуру цитоскелета эндотелиальных клеток и тем самым играют важную роль в адгезии и миграции клеток, а также в сохранении формы клеток.

Последние исследования свидетельствуют, что интегриновый рецептор $\alpha\upsilon\beta3$ транзиторно экспрессируется при заживлении кожной раны. Этот интегриновый рецептор опосредует взаимодействие эндотелиальных клеток с фибриногеном, фибронектином и витронектином — тремя адгезивными гликопротеинами, которые присутствуют в фибриновом матриксе. $\alpha\upsilon\beta3$ -рецептор участвует в миграции эндотелиальных клеток, а также в модуляции ангиогенеза. Хотя изменения интегриновой экспрессии весьма важны в процессе ангиогенеза, не менее важным и критическим компонентом образования новых сосудов является протеолитическое расщепление (деградация) временного фибринового матрикса. Недавно было обнаружено, что для образования капиллярных трубок клетками эндотелия микрососудов в составе трехмерного фибринового матрикса, необходимо наличие урокиназной активности вкупе с активностью факторов ангиогенеза. Присутствие рецепторов фибрина (фибриногена) на эндотелии и клеточные эффекты фибрина (фибриногена) свидетельствуют о модулирующей функции его в ангиогенезе при репарации тканей.

Образование стромы вокруг опухоли является ключевым моментом в развитии кровоснабжающей ее сосудистой сети. Экстравазация фибриногена из поврежденных сосудов также возможна в процессе развития опухоли. Экстравакулярный плазменный фибриноген и фибронектин плазмы через коагуляционные эффекты инициируют образование опухолевыми клетками тканевого фактора и, в результате, фибриновой сети. Этот фибриновый матрикс стимулирует миграцию воспалительных клеток, тромбоцитов и эндотелиальных клеток, что поддерживает васкуляризацию. Факторы ангиогенеза (например, сосудистый фактор роста эндотелиальных клеток) экспрессируются в поврежденных тканях и опухолевых клетках. Развитие сосудистой сети, питающей опухоль, требует взаимодействия между эндотелиальными клетками, воспалительными клетками, фибробластами, протеазами, факторами ангиогенеза и временным (провизорным) фибриновым матриксом. Таким образом, «окружение» раневой ткани и развивающейся опухоли имеют схожую природу и поддерживают процесс ангиогенеза.

Продукция фибрина и продуктов деградации его (FDP) также ассоциируется с воспалением тканей. Недавние исследования показали, что депозиция фибрина модулирует аккумуляцию лейкоцитов в области воспаления через повышение ICAM-1 на эндотелиальной поверхности. Qi и Kreutzer обнаружили, что фибрин индуцирует хемотаксис лейкоцитов при стимуляции продукции интерлейкина-8 (IL-8) сосудистым эндотелием. Кроме того, другие исследования свидетельствуют, что адгезия лейкоцитов к цитокин-стимулированному эндотелию модулируется фибриногеном. Остатки 117—133 γ -цепи фибриногена были идентифицированы как домен, ответственный за связывание с ICAM-1 эндотелия. Уже изучается интегрин-зависимая адгезия фибрина в условиях тока крови. Так, фибриноген выступает в роли связующей молекулы между эндотелием, активированным воспалительными цитокинами и моноцитами. Кроме того, недавно было обнаружено, что в культуре легочных эпителиальных клеток фибриноген секретируется в ответ на провоспалительные медиаторы, как, например, IL-6.

Другие исследования сконцентрированы на изучении молекулярного базиса фибриноген-опосредованного острого воспалительного ответа на имплантируемые биоматериалы. В таких случаях провоспалительная активность адсорби-

рованного фибриногена обусловлена последовательностью 190—202 γ-цепи. Этот домен молекулы фибриногена также ответственен за связывание с интегрином CD11b/CD18 (Mac-1) на лейкоцитах.

Тем не менее, несмотря на существенный прогресс в понимании молекулярных механизмов процессов заживления тканей, роста опухоли и воспаления, необходимы дальнейшие исследования прямых и непрямых эффектов фибрина (фибриногена) и продуктов деградации фибрина на клеточную адгезию, хемотаксис и трансдукцию сигнала в процессе воспаления.

Стабилизация фибрина

Финальная фаза образования фибрина включает ковалентную модификацию молекул фибрина под действием фактора XIIIa. Образование и фибрина, и фактора XIIIa — тесно связанные процессы, которые включают взаимодействие между фактором XIII, фибрином и тромбином.

Фактор XIII. Структура и синтез

Фактор XIII плазмы

Плазменный фактор XIII состоит из двух неидентичных протеиновых субъединиц, которые формируют тетрамерную молекулу, содержащую две А- и две В-цепи. Тетрамер фактора XIII ($M_r = 320$ kDa) образуется за счет высокоаффинных нековалентных связей между А- и В-цепями. А-субъединица содержит каталитический домен и, кроме того, имеет в составе последовательность, гомологичную таковой в составе других энзимов, называемых трансклутаминазами. В-цепь имеет в составе последовательность, гомологичную таковой в составе регуляторных протеинов из семейства регуляторных протеинов комплемента, которая играет важную роль в регуляции активности плазменного фактора XIII. В отличие от А-цепи, В-цепь (79,7 кДа) обладает большим количеством внутрицепочечных дисульфидных связей и не содержит свободных сульфгидрильных групп.

Концентрация фактора XIII в плазме составляет около 0,9 мкмоль/л. Фактор XIII активируется в коагуляционном каскаде при активации тромбина. Активированный тромбином фактор XIIIa является единственным энзимом коагуляционного каскада, где активным участком является цистеин (а не серин). После образования фибрина некаталитическая В-цепь остается в плазме, в то время как А-цепь «устремляется» в область фибринового сгустка.

А-цепь фактора XIII

Мегакариоциты костного мозга, являясь предшественниками мононуклеарных клеток-макрофагов и моноцитов, в то же время синтезируют и А-цепь фактора XIII.

А-цепь плацентарного фактора XIII происходит непосредственно из тканевых макрофагов, присутствующих в плаценте.

Тромбоцитарный фактор XIII состоит исключительно из двух А-субъединиц и имеет молекулярную массу около 160 кДа. В целом, тромбоциты аккумулируют около 50% всей потенциальной активности фактора XIIIa крови. В тромбоцитах фактор XIII в основном локализован в цитоплазме. Несмотря на это, в процессе образования фибрина тромбоцитарный фактор XIII опосредует перекрестное связывание экстрацеллюлярного фибрина. В то же время А-цепь плазменного фактора XIII также может связываться с тромбин-активированными тромбоцитами после отщепления А-цепи под действием тромбина от фактора XIII. А-цепь тромбоцитарного фактора XIII, в свою очередь, может высвободиться и связываться с поверхностью тромбоцита при активации тромбоцита. Такая ассоциация молекулы фактора XIII с поверхностью активированного тромбоцита позволяет осуществляться взаимодействию тромбоцит-фибрин, что стабилизирует гемостатический сгусток. Фактор XIIIa-связывающий участок на тромбоцитах расщепляется фибрином.

А-цепь тромбоцитарного фактора XIII иммунологически подобна А-цепи плазменного фактора XIII; они обладают схожей аминокислотной последовательностью и электрофоретической подвижностью. Более того, свойство фактора XIIIа генерироваться под действием тромбина, характерно и для плазменного, и для тромбоцитарного факторов XIII.

В-цепь плазменного фактора XIII в комплексе с А-цепью образуют тетрамерный комплекс, который фактически неотличим от нативного фактора XIII плазмы. При изучении аминокислотной последовательности фактора XIII (плазменного) выяснилось, что 45% последовательности идентичны трансглутаминазе кератиноцитов человека (тип I) и 39% — тканевой трансглутаминазе человека (тип II). Более того, А-цепь фактора XIII высоко гомологична эритроцитарному мембранному протеину.

Ген А-цепи локализован на 6-й хромосоме (p24—25).

Если сравнивать структуру генов А-цепи фактора XIII и трансглутаминазы кератиноцитов, характерно, что аминоконцы каждого из них кодируются уникальным сепаратным экзоном.

Аминокислотные последовательности вокруг цистеинового активного участка трансглутаминазы кератиноцитов, тканевой трансглутаминазы и фактора XIII фактически идентичны.

Активный участок цистеина в А-цепи локализован в аминокислотном остатке 314 как в тромбоцитарном, так и плазменном факторах XIII. После кливажа тромбином активационного пептида между Arg37 и Gly38 ионы Ca^{2+} вызывают конформационное изменение А-цепи, в результате которого экспонируется Cys314. В отличие от плазменного фактора XIII, для которого характерна lag-фаза (отсроченность или латентный период), между кливажом под действием тромбина и экспрессией активного участка Cys314, тромбоцитарный фактор XIII быстро активируется тромбином. Lag-фаза плазменного фактора XIII обусловлена В-цепью, так как для полной активации фактора XIII необходимо, чтобы В-цепь диссоциировалась от А-цепи, что требует времени.

Благодаря электронной микроскопии было обнаружено, что А-цепь представляет собой глобулярную частицу, 6х9 нм. А-цепь содержит четыре последовательных домена. Этими четырьмя доменами являются так называемый b-sandwich, каталитический центр, barrel-1- и barrel-2-домены. Наибольший домен, каталитический центр, содержит активный участок цистеина. Активационный пептид является небольшим доменом (аминокислотные остатки 1—37), локализованным на аминоконце молекулы; кливаж у Arg37 под действием тромбина ведет к активации фактора XIII. А-цепь фактора XIII обладает каталитической триадой, сходной по своей структуре с цистеиновой протеазой, в составе каталитического домена. Эту каталитическую триаду составляют Cys314, His373 и Asp396.

А-цепь имеет в составе девять цистеиновых остатков и не обладает внутрисульфидными или интердисульфидными связями.

Каким образом А-цепь фактора XIII секретируется в плазму, еще не ясно. Исследования, связанные с трансплантацией костного мозга, свидетельствуют, что А-цепь плазменного фактора XIII является дериватом мегакариоцитов и моноцитов. В других исследованиях было обнаружено, что гепатоциты способны к синтезу А-цепи *in vitro*. Высвобождение А-цепи из тромбоцитов и моноцитов при гибели этих клеток может играть, вероятно, существенную роль в регуляции концентрации плазменного фактора XIII. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования по изучению механизмов регуляции уровня фактора XIII в плазме.

В-цепь фактора XIII

В-цепь фактора XIII состоит из 641 аминокислоты ($M_r = 80\ 000$) и обладает двадцатью потенциальными гликозилированными участками. Десять повторяющихся аминокислотных последовательностей, каждая из которых содержит око-

ло 70 аминокислот с двумя дисульфидными связями, составляют почти 95% аминокислотной последовательности молекулы В-цепи. Эти 10 повторяющихся последовательностей сходны по своей структуре с последовательностями, по меньшей мере, 15 других протеинов, среди которых β 2-GP1, рецептор комплемента типа 1, гаптоглобин, IL-2-рецептор, регуляторные протеины комплемента (C1r, C1s, C2, фактор В, С4вр, фактор Н, С7) и др.

Последовательность RGD (Arg-Gly-Asp) В-цепи, ответственная за связывание с клетками, локализована в области С-конца молекулы и опосредует адгезивную функцию В-цепи. По предварительным данным, В-цепь усиливает связывание А-цепи с фибриногеном и фибрином.

В-цепь стабилизирует структуру А-цепи и ограничивает избыточный протеолиз А-цепи. Кроме того, В-цепь может взаимодействовать с путем контактной активации коагуляционного каскада; физиологическое значение этого эффекта *in vivo* еще не ясно.

Клеточный фактор XIII

С помощью иммунологических техник А-цепь фактора XIII обнаруживается в макрофагах и моноцитах, а также в различных тканях, включая лимфоузлы, матку и кожу. А-цепь фактора XIII в матке связана с тканевыми макрофагами. А-цепь фактора XIII часто используется в качестве маркера нормальной пролиферации клеточной линии моноцитов при лейкомиях и лимфомах. Моноцитарный фактор XIII экспрессируется на поверхности моноцитов и может регулировать перекрестное связывание экстрацеллюлярного фибрина. Факторы, регулирующие экспрессию фактора XIII на поверхности моноцитов, еще не идентифицированы.

Механизм действия фактора XIII.

Протеолиз под действием тромбина

Тромбин играет двойную роль в стабилизации фибрина, катализируя, с одной стороны, превращение фибриногена в фибрин, и активируя, с другой стороны, фактор XIII в фактора XIIIa. Эти реакции весьма «успешно» регулируют генерацию фактора XIIIa в процессе образования фибрина. В первую очередь, тромбин высвобождает фибринопептид А из фибриногена, а затем гидролизует связь Arg37-Gly38 в аминоконце А-цепи фактора XIII с освобождением активационного пептида. Степень кливажа фактора XIII плазмы под действием тромбина значительно увеличивается в присутствии полимеров фибрина (рис. 11).

Способность полимеров фибрина усиливать образование фактора XIIIa свидетельствует, что фактора XIII генерируется в процессе образования фибриновой сети в рамках гемостатического ответа. Кливаж активационного пептида А-цепи плазменного фактора XIII под действием тромбина происходит в 80 раз быстрее, если фактор XIII образует комплекс с фибрином. Таким образом, для кливажа плазменного фактора XIII под действием тромбина необходимо комплексное взаимодействие между тромбином и фактором XIII на поверхности полимеров фибрина.

В то же время протеолиз тромбоцитарного фактора XIII может происходить вне такого комплекса. Для оптимальной экспрессии активности фактора XIIIa необходимо лишь только освобождение активационного пептида из тромбоцитарного димера фактора XIII. Кроме того, фибрин не усиливает α -тромбин-опосредованный кливаж активационного пептида тромбоцитарного фактора XIII. Интересно, что при добавлении В-цепи фактора XIII к А-цепи тромбоцитарного фактора XIII, последняя становится недоступной для протеолиза.

Роль ионов Ca²⁺ в демаскировании активного участка фактора XIII

Хотя протеолиз фактора XIII в процессе кливажа тромбином является важнейшим этапом в формировании фактора XIIIa, одной только этой реакции недостаточно для генерации фибринстабилизирующей активности. Расщепленный под действием тромбина плазменный фактор сохраняет свою структуру тетра-

мера благодаря нековалентным взаимодействиям, но активный участок А-цепи не распознается радиоактивным иодацетамидом. Как только ионы Ca^{2+} добавляются к активированному тромбином плазменному фактору XIII, В-цепь диссоциирует, экспонируется активный участок цистеина (Cys314) и, как следствие, генерируется активность фактора XIIIa.

Детальные исследования эффекта ионов Ca^{2+} на диссоциацию В-цепи и экспрессию активного участка показали, что это медленный, зависимый от ионов Ca^{2+} этап формирования фактора XIIIa. Для полной экспрессии активности фактора XIIIa необходимо более 10мМ ионов Ca^{2+} . Однако эта концентрация намного выше той, что присутствует в плазме в физиологических условиях. Это доказывает, что должны существовать другие кофакторы плазмы, которые регулируют быструю активацию фактора XIII в присутствии физиологических концентраций ионов Ca^{2+} . Фибриноген является тем самым кофактором плазмы, который способствует отщеплению В-цепи от тромбин-активированного фактора XIII в присутствии ионов Ca^{2+} . В присутствии нормальной концентрации фибриногена в плазме, расщепленный тромбином фактор XIII активируется при концентрации ионов Ca^{2+} в плазме 1,5ммоль/л. Напротив, расщепленная тромбином А-цепь тромбоцитарного фактора XIII быстро активируется даже при нормальной концентрации ионов Ca^{2+} в плазме. Это еще раз доказывает, что экспрессию активного участка плазменного фактора XIII ограничивает В-цепь.

Хотя тромбин является основной протеазой плазмы, необходимой для активации фактора XIII, многими исследователями отмечается возможность активации фактора XIII под действием фактора Ха и тромбоцитарных протеаз.

Хотя плазмин сам по себе не активирует фактор XIII, он может «высвободить» фактор XIII из фибринового сгустка при расщеплении фибрина. Однако освобожденный таким образом фактор XIIIa сохраняет энзиматическую активность. А это может иметь негативные последствия при терапевтическом тромболитисе, так как освобожденный и все еще активный фактор XIIIa стабилизирует вновь образуемый фибрин.

Несмотря на то, что В-цепь лимитирует экспрессию активного участка А-цепи плазменного фактора XIII, она не может препятствовать взаимодействию А-цепи с молекулой фибриногена. Тромбоцитарный фактор XIII, плазменный фактор XIII и расщепленный тромбином плазменный фактор XIII связываются с фибрином независимо от того, присутствуют ли при этом ионы Ca^{2+} . Кроме того, локализация А-цепи плазменного фактора XIII не требует протеолиза фибрина под действием тромбина. То есть, для связывания плазменного фактора XIII с фибриновым сгустком нет необходимости в отщеплении фибринопептидов А и В от молекулы фибрина.

Образование фактора XIIIa регулируется по принципу отрицательной обратной связи. Когда фибрин ковалентно связан с фактором XIIIa, то он больше не может выступать в роли кофактора, способствующего кливажу фактора XIII под действием тромбина. Отсюда следует, что фактор XIIIa образуется «по требованию», или, иначе, по мере необходимости для обеспечения гемостаза.

Трансглутаминазные реакции

Фактор XIIIa катализирует ковалентную модификацию фибрина через трансглутаминазную реакцию. В процессе этой реализации образуется амидная связь между карбонильной группой глутаминового остатка одной молекулы фибрина и ϵ -аминогруппой лизинового остатка другой молекулы фибрина. Активный цистеиновый участок фактора XIIIa взаимодействует с γ -карбонильной группой глутаминового остатка протеинового субстрата с образованием γ -глутамил-эфира, который в дальнейшем может подвергаться аминолитису. Ионы Ca^{2+} в этой реакции необходимы для образования активного участка тиоэфира — промежуточного продукта реакции. В процессе реакции образуется γ -глутамил- ϵ -лизил связь. Аммиак при этом высвобождается из глутаминового остатка протеинового субстрата.

Как уже указывалось, существует значительное сходство между активным участком фактора XIII и цистеиновыми протеиназами. Это сходство касается, в первую очередь, каталитического механизма трансклутаминаз, который подобен реакции обратимого гидролиза протеиназ.

Таким образом, результатом активности фактора XIIIa является образование изопептидной перекрестной связи между двумя протеинами молекул фибриногена. Эта реакция является высоко специфичной, поскольку только определенные группы протеин-связанных глутаминовых остатков могут образовывать связь с фактором XIIIa. В то же время в отсутствие реактивного лизинового остатка первичными продуктами трансклутаминазной реакции являются аммиак (NH_3) и глутаминовая кислота (поскольку взаимодействуют друг с другом два глутаминовых остатка различных молекул фибриногена).

Большинство реакций перекрестного связывания под действием фактора XIIIa слабо обратимы. Тем не менее, перекрестное связывание α 2-антиплазмина с фибриногеном и фибрином под действием фактора XIIIa является обратимой реакцией; только около 30% молекул плазменного α 2-антиплазмина ковалентно (т.е. необратимо) связывается с фибрином. γ - γ -перекрестное связывание также обратимо, так как даже после того, как сформировались все возможные в реакции D-димеры, возможно дальнейшее образование D-тримеров и D-тетрамеров.

Зимогены фактора XIII могут подвергаться конформационным изменениям в присутствии высоких концентраций солей и ионов Ca^{2+} , что ведет к экспрессии каталитической активности. Такой некаталитический путь активации может выступать в качестве альтернативного механизма для активации внутриклеточной A-цепи фактора XIII.

Поскольку молекула фактора XIII содержит две A-цепи, то соответственно имеет и два потенциально активных участка для участия в каталитических реакциях. Большинство исследователей склоняются к мысли о нескооперированных взаимодействиях этих активных цистеиновых участков и соответственно одновременной их активации. Согласно этой концепции вначале одна из A-цепей перекрестно связывается с парой γ -цепей фибрина, вслед за этим другая A-цепь — с другой парой γ -цепей, ориентированных вокруг A-цепи. Такой каталитический механизм контролируется стерическими или конформационными изменениями.

Вопрос о том, каким образом фактор XIIIa вызывает антипараллельное перекрестное связывание γ -цепей фибрина, а также других протеинов все еще не до конца изучен.

Перекрестное связывание протеинов под действием фактора XIIIa.

Перекрестное связывание γ -цепей фибрина

Одна молекула фибрина может образовывать с соседними более шести изопептидных связей, что свидетельствует о механической устойчивости фибринового сгустка и относительной резистентности к химической и энзиматической дегградации по сравнению с полимерами фибрина, не связанными друг с другом.

В реакции инициального перекрестного связывания участвуют γ -цепи. Пара донорской лизиновой и акцепторной глутаминовой молекул ковалентно связываются друг с другом, образуя ковалентную изопептидную связь. Реакция перекрестного связывания осуществляется, когда взаимодействующие молекулы «выпрямлены» соответственно своей геометрической структуре и расположены антипараллельно друг другу.

Существуют противоположные взгляды на пространственную ориентацию перекрестно связываемых фибриновых молекул.

Исследования перекрестного связывания фибриногена под действием фактора XIIIa свидетельствуют, что изопептидная связь формируется между двумя молекулами фибрина, расположенными по отношению друг к другу по типу «конец-в-конец» вдоль нитей протофибрилл.

В то же время по данным других исследователей, изучавших перекрестное связывание фибрина под действием фактора XIIIa, изопептидная γ - γ связь, образуя между двумя молекулами фибрина, расположена поперечно по отношению к оси протофибрилл (трансориентация связей).

Трансформация ковалентных связей, возможно, является результатом конформационных изменений, происходящих при нековалентном связывании D- или E-доменов молекул фибрина, регулирующих процесс полимеризации фибрина. Как выше уже указывалось, перекрестное связывание γ -цепей является процессом обратимым, результатом чего является образование поздних продуктов — D-тримеров и D-тетрамеров. Образованию D-тримеров и D-тетрамеров способствуют высокие концентрации солей и ионов Ca^{2+} . Образование D-тримеров и D-тетрамеров все же свидетельствует в пользу концепции трансориентации изопептидных связей между γ -цепями молекул фибрина.

Тем не менее, нельзя исключить, что и цис- («конец-в-конец») и транс- ориентации перекрестных изопептидных связей имеют место *in vivo*.

Перекрестное связывание A α -цепей фибрина

Перекрестное связывание A α -цепей фибрина с образованием A α -полимеров является комплексным процессом и происходит гораздо медленнее, по сравнению с образованием γ - γ -связей. Каждая A α -цепь имеет, по меньшей мере, два глутаминовых акцепторных остатка (аминокислотные остатки 328 и 366) и пять потенциальных лизиновых участка (между аминокислотными остатками 518 и 584).

Перекрестное связывание A α -цепей играет важную роль в регуляции фибринолиза. A α -цепи способствуют связыванию протофибрилл фибрина в более толстые волокна с высокой механической устойчивостью. Сеть перекрестно связанных A α -цепей представляет собой защитный барьер, который препятствует деградации «coiled-coil»-участка молекулы фибрина, поддерживая тем самым целостность фибриновой сети. Плазмин может расщеплять фибрин между D- и E-доменами в «coiled-coil»-участке, что вызывает высвобождение растворимых фрагментов фибрина и нарушение его структуры. При деградации перекрестно связанного фибрина под действием плазмина высвобождаются димерные формы фрагментов D-доменов (так называемый D-димер), содержащие межмолекулярные перекрестные связи между γ -цепями, а также фрагмент E.

Под действием фактора XIIIa возможно ковалентное перекрестное связывание между A α - и γ -цепями фибрина. Образованию A α - и γ -связей способствует формирование γ - γ -перекрестных связей. Функции A α - γ -связывания еще не выяснена; тем не менее, очевидно эта связь играет важную роль в стабилизации сгустка.

Перекрестное связывание фибриногена

Фактор XIIIa способен катализировать связывание молекул фибриногена (по принципу связывания молекул фибрина) вначале с образованием димеров из γ -цепей, а затем с образованием полимеров A α -цепей. Однако реакция перекрестного связывания фибриногена происходит гораздо медленнее и в меньшей степени, чем перекрестное связывание фибрина. Это во многом связано и с различной конформацией молекул фибриногена и фибрина.

Тем не менее, в условиях высоких концентраций фибриногена, перекрестное связывание его γ -цепей может происходить быстрее, чем перекрестное связывание фибрина. Физиологическая роль перекрестного связывания фибриногена еще не ясна.

Фактор XIIIa также может способствовать перекрестному связыванию растворимого фибриногена с фибрином, пока последний не образует нерастворимый фибриновый сгусток. Более того, высокие концентрации фибриногена ингибируют перекрестное связывание фибрина и, тем самым, препятствуют стабилизации фибрина.

Ингибитор $\alpha 2$ -плазмина ($\alpha 2$ -антиплазмин)

$\alpha 2$ -антиплазмин является основным физиологическим ингибитором плазмина *in vivo*. Фактор XIIIa способствует быстрому перекрестному связыванию $\alpha 2$ -антиплазмина с $A\alpha$ -цепью фибриногена. $\alpha 2$ -антиплазмин в одинаковой степени может связываться и с фибриногеном, и с фибрином. $\alpha 2$ -антиплазмин, связанный ковалентно с фибрином, является мощным ингибитором плазмина и играет важную роль в регуляции фибринолиза. Врожденный дефицит $\alpha 2$ -антиплазмина сопровождается серьезными геморрагическими расстройствами. Клинические проявления врожденного дефицита $\alpha 2$ -антиплазмина и врожденного дефицита фактора XIII очень схожи.

Инициальное взаимодействие $\alpha 2$ -антиплазмина с фибрином начинается в процессе раннего формирования фибринового сгустка с образованием гетеродимерных форм, содержащих мономерные $A\alpha$ -цепи. $\alpha 2$ -антиплазмин связывается с $A\alpha$ -цепью, подвергаясь затем перекрестному связыванию с образованием высокомолекулярных комплексов, содержащих полимеры $A\alpha$ -цепей. Таким образом, $\alpha 2$ -антиплазмин, локализуясь на поверхности сети из перекрестно связанных $A\alpha$ -цепей, «окружает» фибрин и защищает внутренние протофибриллы от деградации плазмином. Только 30% молекул $\alpha 2$ -антиплазмина перекрестно связаны со сгустком плазмы, что свидетельствует об обратимой природе связи $\alpha 2$ -антиплазмина с фибрином. Вследствие этого $\alpha 2$ -антиплазмин может играть важнейшую роль в модуляции фибринолитических проявлений, что обусловлено поддержанием равновесия между связанной с фибрином и свободной формой $\alpha 2$ -антиплазмина. Тем не менее, количество $\alpha 2$ -антиплазмина в составе сгустка намного меньше, чем его образуется в процессе фибринолиза. Таким образом, в условиях, когда плазмин генерируется в больших количествах, перекрестно связанный $\alpha 2$ -антиплазмин в определенной степени защищает фибрин от деградации.

Другие субстраты фактора XIIIa

Фибронектин является одним из основных плазменных субстратов для фактора XIIIa. Фибронектин циркулирует в плазме, но может быть связан с экстрацеллюлярным матриксом, окружающим фибробласты, эндотелиальные клетки и др. В ковалентное связывание молекул фибронектина вовлечены глутаминовые остатки, расположенные в аминоконце молекулы. Фибронектин также может перекрестно связываться и с коллагеном. Кроме того, в присутствии фибрина, фибронектин с фибрином образуют продукты перекрестного связывания, при этом в перекрестном связывании участвуют $A\alpha$ -цепи фибрина. Фибронектин может в значительной степени ингибировать перекрестное связывание молекул фибрина и вести к образованию растворимого фибрина.

Исследования *in vitro* показали, что фибронектин повреждает механические свойства фибрина. Тем не менее, перекрестно связанный фибронектин плазмы не повреждает свойства фибрина.

Концепция о важности фактора XIIIa в формировании предварительного, или провизорного, матрикса в процессе заживления тканей зародилась из клинических наблюдений плохой заживляемости ран у пациентов с дефицитом фактора XIII. Ковалентное связывание фибрина с коллагеном в участке сосудистого повреждения играет важнейшую роль в предотвращении удаления фибрина с сосудистой стенкой. Следует отметить, что фактор XIIIa способствует перекрестному связыванию фибрина с коллагеном типа I, II, III и V, в то же время коллаген типа IV не является субстратом фактора XIIIa. Субстратом фактора XIIIa являются различные тромбоцитарные протеины, включая актин и миозин. Физиологическое значение этих реакций пока не ясно. Возможно, ковалентное перекрестное связывание между фибриногеном, тромбоцитарными фибриногеновыми рецепторами и протеинами цитоскелета тромбоцитов способствует повышению стабильности интегрированного тромбоцитарно-фибринового сгустка.

К субстратам фактора XIIIa относятся тромбоцитарные протеины — винкулин и фактор V, а также фактор фон Виллебранда (vWF), витронектин и тромбоспондины. In vitro vWF может перекрестно связываться с фибрином и другими молекулами экстрацеллюлярного матрикса, включая коллаген. Эти реакции усиливают адгезию тромбоцитов, участвуя в гемостатическом ответе.

Роль фактора XIII во время беременности

Роль фактора XIII при беременности чрезвычайно важна. Это подтверждают и клинические проявления: у женщин с дефицитом фактора XIII, если не применять регуляцию внутривенные инфузии пастеризованного плацентарного фактора XIII, наблюдаются самопроизвольные выкидыши.

Материнский плазменный фактор XIII важен для контроля плацентарных или маточных геморрагий. С другой стороны, материнский плацентарный фактор XIII необходим для образования матрикса, обеспечивающего рост и пролиферацию плаценты. Процессы тканевой инвазии и ремоделирование, имеющие место в течение беременности, возможны при условии наличия гемостатических эффектов фактора XIII и его эффектов на фибрин и экстрацеллюлярный матрикс, что чрезвычайно важно для нормальной имплантации плодного яйца, роста и развития плода.

В настоящее время уже разработана методика пренатальной диагностики дефицита фактора XIII, основанная на обнаружении генетического маркера — короткой последовательности гена (AAAG), кодирующего A-субъединицу фактора XIII.

Снижение уровня фактора XIII отмечено при ряде заболеваний и патологических состояний. Так, уровень фактора XIII снижается в острую фазу язвенного колита; заместительная же терапия фактором XIII купирует гастроинтестинальное кровотечение. Уровень фактора XIII также снижается и при болезни Крона. Кроме того, обнаружено, что A-цепь фактора XIII у больных с болезнью Крона коагулируется в капиллярных тромбах стенки кишечника.

Успешная терапия инфузией фактора XIII при склеродермии, пурпуре Шенлейн-Геноха свидетельствует об участии фактора XIII в патогенезе этих заболеваний. И, наконец, уже обсуждается вопрос об использовании рекомбинантной A-цепи фактора с целью профилактики у больных с высоким риском послеоперационных интракраниальных геморрагий.

Фибринолитическая система

Система коагуляции направлена на поддержание гемостаза и предотвращение кровотечения из участка повреждения сосуда. Однако существуют процессы, ограничивающие формирование тромба и устраняющие обструкцию на пути тока крови. Фибринолитическая система разрушает тромб после выполнения им своих функций. В фибринолизе принимают участие элементы плазмы, тромбоциты и другие клетки, регулирующие деградацию фибрина. Эта реакция основана на превращении плазминогена, белка плазмы, циркулирующего в виде зимогена, в сериновую протеазу — плазмин. Плазмин представляет собой трипсиноподобный фермент, который реагирует со многими белками плазмы. Однако некоторые из этих реакций требуют наличия достаточно больших количеств плазмينا. Физиологическая функция плазмина ограничивается первичной деградацией фибринового тромба и молекул экстрацеллюлярного матрикса. Превращение плазминогена в плазмин происходит под действием активаторов плазминогена, которые находятся в различных тканях организма. К активаторам плазминогена относятся, в частности, активатор плазминогена тканевого типа и активатор плазминогена урокиназного типа.

Деградация фибриногена и фибрина

Начальным этапом деградации является удаление плазмином C-конец-содержащего участка A α цепи и первых 42 аминокислот B β цепи, что приводит к формированию X фрагмента (247 kDa), как уже описывалось выше.

X фрагмент затем расщепляется на D и Y фрагменты (95 и 150 kDa соответственно). Y фрагмент в дальнейшем разрушается, с разрывом «coiled-coil» участка и образованием E фрагмента (50 kDa) и еще одного D фрагмента (рис. 10).

Деградация фибрина и фибриногена имеют ряд отличий. Во-первых, деградация фибрина происходит медленнее, так как многочисленные ковалентные связи, сформированные между мономерами фибрина при участии XIIIa фактора, делают участки «разрывов» плазмином менее доступными.

Во-вторых, продукты деградации имеют уникальную структуру, что связано с ковалентными и нековалентными связями, которыми мономеры фибрина соединены между собой. В процессе деградации фибринового тромба активность плазмина направлена на участок между D и E доменами. В результате этой реакции образуются фрагменты различного размера с утратой структуры и целостности полимера. В результате полной деградации тромба образуются димерные формы D фрагмента. D-димер представляет собой самый маленький фрагмент деградации, содержащий одну связь между γ цепями. Также образуются и крупные комплексы, состоящие из комбинаций полимеров фибрина в составе профибрилл. Эти крупные фрагменты разрушаются затем плазмином до более мелких. Концентрация фибриногена является высокой среди всех белков свертывания и составляет 2—4 мг/мл, а концентрация плазмина лишь 1/100 от этой величины.

Структура плазминогена и формирование плазмина

Ген плазминогена составляет 52,5kb и локализован в хромосоме 6q26-6q27. Интересно, что нуклеотидная последовательность РНК плазминогена во многом напоминает ДНК других серпиновых протеиназ и аполипопротеина а.

Плазминоген синтезируется печенью и присутствует во многих тканях и жидкостях организма, включая слюну, слезную жидкость, содержащее семенных пузырьков и секрет простаты. Концентрация плазминогена в плазме крови составляет 200мг/мл. Время его полужизни равно двум дням, оно может значительно укорачиваться в процессе патологических состояний, протекающих с активацией фибринолиза.

Плазминоген является крупным одноцепочечным гликопротеином (Mr = 88000), содержащим пять «kringle»-доменов. Каждый из пяти доменов содержит 80 аминокислотных остатков. В первом (к1) и в четвертом (к4) доменах расположены лизин-связывающие участки, ответственные за регуляцию связывания плазминогена с фибрином и тромбоспондином. Молекулы с низким молекулярным весом, обладающие структурной гомологией с лизином, такие как ϵ -аминокапроновая кислота, а также сама молекула лизина, могут блокировать связывание плазминогена с фибрином и являться эффективными ингибиторами фибринолиза.

Последней аминокислотой NH₂ конца плазминогена является глутаминовая кислота, поэтому он также называется глу-плазминогеном. Активаторы плазминогена урокиназного или тканевого типа разрывают связь Arg560-Val561 глу-плазминогена с образованием глу-плазмина. Молекула глу-плазмина содержит тяжелую (A) и легкую (B) цепи. Они состоят из 560 и 231 аминокислот, соответственно. После саморазрушения глу-плазмина путем разрыва связи Лиз76-Лиз77 образуется лиз-плазмин.

При патологических состояниях, протекающих с избытком плазмина в плазме, глу-плазминоген может быстро превращаться непосредственно в лиз-плазминоген. Время полужизни лиз-плазминогена намного короче и составляет 0,8 дней, он быстро активируется активаторами плазминогена, превращаясь в плазмин. Кроме того, лиз-плазминоген обладает большим сродством к фибрину, чем глу-плазминоген. Активные участки молекулы плазмина, которые разрушают специфические пептидные связи фибрина содержат Гис602, Асп645 и Сер740.

Процесс активации плазминогена включает три пути (рис. 13):

внутренний путь активации;

внешний путь активации (активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов);

экзогенный путь активации (тромболитические препараты).

Основным является внешний путь, однако и внутренний, и экзогенный путь играют важную роль.

Внутренний путь активации

Различные субстанции, попадая в организм и обладая отрицательно заряженными поверхностями, активируют внутренний (контактный) путь, который включает фактор Хагемана (XII), прекалликреин, высокомолекулярный кининоген (ВМК) и XI фактор. На этот путь приходится лишь 15% от всей фибринолитической активности плазмы. Калликреин, IXa и XIIa факторы могут непосредственно превращать пламиноген в плазмин. Дефицит фактора Хагемана может быть причиной значительных нарушений фибринолиза в различных клинических условиях.

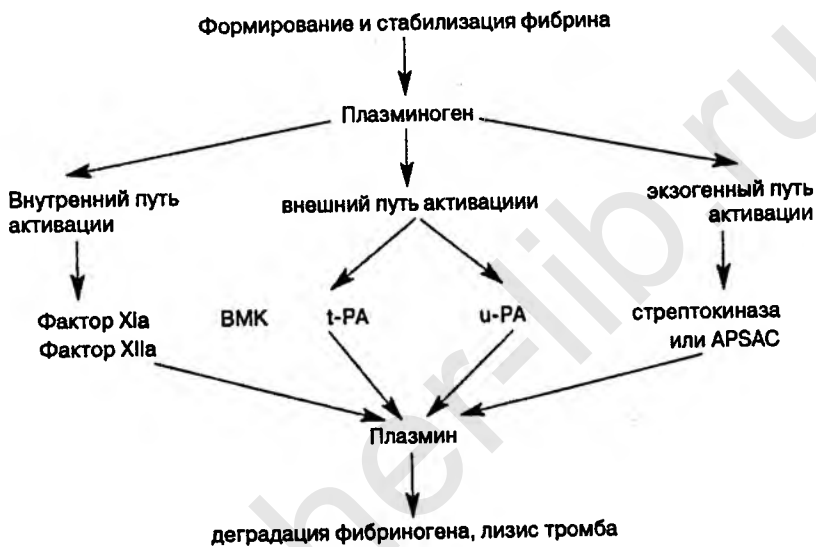


Рис. 13. Активаторы плазминогена.

Внешний путь активации

Внешний путь активации включает 2 основных активатора плазминогена: тканевого и урокиназного типов (t-PA и u-PA).

Активаторы плазминогена тканевого типа (t-PA). Структура и функции

t-PA является ферментом эндотелиальной клетки. К факторам, регулирующим его секрецию эндотелием, относятся тромбин, гистамин, ацетилхолин, брадикинин, адреналин и интерлейкины. t-PA в плазме крови находится в небольших количествах. Его концентрация составляет 0,1 нмоль/л, а время полужизни около 6 минут. В плазме t-PA циркулирует в виде комплекса с естественным ингибитором активатора плазминогена — 1 (PAI-1), и лишь 5% и меньше t-PA циркулирует в свободной активной форме. И t-PA, и его комплекс с PAI-1 удаляются из крови благодаря специфическим рецепторам печени, которые быстро переводят их внутрь клетки (интернализация), где происходит дальнейшее разрушение.

t-PA — это сериновая протеаза с молекулярным весом 70000. Хотя одиночная цепь обладает каталитической активностью, после разрыва пептидной связи между Arg275 и Ile276 активность его резко усиливается. Разрыв, опосредованный действием плазмина, Ха фактора или калликреина, превращает t-PA из одноцепочечной в двуцепочечную молекулу. Тяжелая цепь (A) преобразованного t-PA содержит NH₂ конец. A-цепь включает в себя фибронектино-подобный домен, до-

мен, подобный эпидермальному фактору роста и два «kringle»-домена. Второй «kringle» домен вместе с фибронектинподобным доменом взаимодействуют в процессе связывания с фибрином. Начальный контакт между t-PA и фибрином осуществляется в kringle 1 домене. Т-РА проявляет фибринолитическую активность в полной мере только после связывания с фибрином. Взаимодействие t-PA и фибриногена на поверхности фибрина в несколько раз увеличивает эффективность катализа.

Легкая цепь (B) t-PA, весом 28 kDa (276 по 530 аминокислоты C-конца) содержит активный участок протеиназы. Каталитическую триаду составляют Лиз322, Асп371 и Сер478. Обе формы t-PA, как одноцепочечная, так и двуцепочечная обладают протеолитической активностью и усиливают протеолиз плазминогена после связывания с фибрином. Одноцепочечная форма обладает меньшей активностью в растворе, однако активность обеих форм одинакова после связывания с фибрином. Связывание фибрина с t-PA является хорошим примером того, как фибрин регулирует ферментный процесс, приводящий к его разрушению.

Выделение t-PA из сосудистой стенки является еще одним важным регулирующим фибринолиз процессом. Интенсивность лизиса тромба зависит от скорости выделения t-PA из сосудистой стенки. Активированные тромбоциты синтезируют серотонин, который способен активировать выделение эндотелием t-PA. Более того, поверхность эндотелиальных клеток содержит белок тромбомодулин, который регулирует активацию протеина С. Активированный протеин С играет важную роль в усилении фибринолиза, однако механизм его действия не известен.

Проурокиназа (scu-PA) и урокиназа (u-PA). Структура и функции

Другим важным активатором плазминогена является активатор плазминогена урокиназного типа (u-PA). Он был впервые обнаружен в моче. В дальнейшем его определяли в культуре клеток почек, эндотелиальных клетках, опухолевых клетках, а также в плазме. U-PA также является сериновой протеазой и синтезируется в виде одной цепи, называемой проурокиназой или одноцепочечным u-PA (single chain u-PA = scu-PA). Время полужизни scu-PA относительно короткое, около 5 минут. Его метаболизм происходит в почках и печени. Scu-PA (Mr = 54000 kDa) обладает очень низкой протеолитической активностью. Он состоит из одного «kringle»-домена, домена, подобного эпидермальному фактору роста и серин-протеазного домена (SP). Плазмин или калликреин могут гидролизовать пептидную связь Лиз158-Иле159, превращая scu-PA в двуцепочечную молекулу (two chain form = tcu-PA).

В отличие от t-PA, scu-PA не содержит фибронектинподобного домена или второго «kringle»-домена, что объясняет его относительно низкое сродство к фибрину. Интересно, что введение scu-PA приводит к незначительной активации плазминогена в плазме, что свидетельствует о влиянии дополнительных факторов. Одним из возможных кофакторов может быть фибрин, так как даже если scu-PA утрачивает фибрин-связывающий домен, фибрин-специфическая активность сохраняется. Возможным механизмом фибрин-специфичной активности является то, что существуют ингибиторы scu-PA, циркулирующие в крови, которые, связываясь со scu-PA, блокируют его активацию плазминогена. Однако ингибция scu-PA обратима в присутствии фибрина. Другим объяснением молекулярной основы фибрин-специфичности возможно является то, что глу-плазминоген, связываясь с частично разрушенным фибрином, приводит к конформационным изменениям глу-плазминогена, которые усиливают способности scu-PA расщеплять глу-плазминоген.

Механизмом, с помощью которого scu-PA превращается в tcu-PA до конца не известен. В результате разрыва пептидной связи Лиз158-Иле159 образуется tcu-PA с высоким молекулярным весом. Вторая ферментная форма tcu-PA с низким молекулярным весом формируется после разрыва второй пептидной связи между Лиз135 и Лиз136. В результате этого разрыва образуется более эффективный фермент, и именно он используется при проведении тромболитической терапии. Этот фермент выделяется с мочой и обнаруживается в плазме крови только после активации фибринолиза.

Экзогенный путь активации фибринолиза

Многие бактериальные белки являются активаторами фибринолиза. К ним относятся стрептокиназа, стафилокиназа, а также экзогенный активатор под названием APSAC, который представляет собой нековалентный комплекс плазминогена и стрептокиназы. Стрептокиназа синтезируется β -гемолитическим стрептококком группы С. Интересно, что хотя стрептокиназа гомологична сериновой протеазе, она не имеет фибрин-специфичного связывающего сайта и не обладает какой-либо другой внутренней активностью. Прежде чем превратиться в активатор плазминогена, стрептокиназа претерпевает ряд превращений (рис.14).

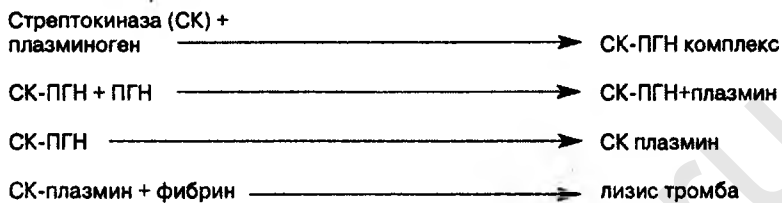


Рис. 14. Активация плазминогена стрептокиназой в плазме.

Первым этапом является связывание стрептокиназы с плазминогеном. После формирования этот комплекс превращает другую молекулу плазминогена в плазмин. Способность плазминогена и D-фрагмента усиливать активность стрептокиназы опосредована взаимодействием плазминогена с D-доменом фибриногена. Время жизни стрептокиназы после ее введения в организм составляет 30 минут.

В целях создания более эффективного фибрин-селективного активатора плазминогена, в каталитический центр плазминогена была помещена ацильная группа. Позже модифицированный плазминоген был объединен со стрептокиназой. Этот нековалентный комплекс носит название APSAC (anisolated plasminogen/streptokinase complex). Молекула APSAC существует около 17 минут и в дальнейшем ингибируется эндогенными ингибиторами активатора плазминогена.

Следует, тем не менее, учитывать, что поскольку и стрептокиназа, и APSAC являются бактериальными продуктами, они могут быть потенциальными стимуляторами образования нейтролизующих антител, что представляет риск развития анафилактики.

Стафилокиназа представляет собой белок с молекулярной массой 16000, выделяемый *Staphylococcus aureus*. Стафилокиназа не является ферментом, но способна образовывать с плазминогеном комплекс, который превращает плазминоген в плазмин.

Плазменные и тканевые ингибиторы фибринолиза

Плазма, клетки крови, ткани и экстрацеллюлярный матрикс содержат ряд различных естественных ингибиторов фибринолиза. Эти ингибиторы могут как прямо ингибировать плазмин, так и блокировать превращение плазминогена в плазмин.

В плазме крови около 10% белков относятся к ингибиторам протеиназ. Многие из них способны ингибировать протеиназы, участвующие в фибринолизе. Все ингибиторы сериновых протеиназ действуют, формируя необратимые комплексы с активным участком серина в протеиназе, которую они инактивируют. После образования плазмина, $\alpha 2$ антиплазмин формирует комплекс 1:1 с плазмином, что является важным моментом в инактивации плазмина. Плазмин также инактивируется другими ингибиторами протеиназ, такими как $\alpha 1$ -антитрипсин, $\alpha 2$ -макроглобулин, антитромбин III и C1-ингибитор эластазы.

Физиологическое значение эти ингибиторы приобретают только тогда, когда концентрация $\alpha 2$ -антиплазмина значительно снижается.

α 2-антиплазмин

α 2-антиплазмин представляет собой белок ($M_r = 58000$) из 452 аминокислот. Активный участок находится в области Arg346-Мет347, также в эту структуру входят две дисульфидные связи. Белок синтезируется и секретируется гепатоцитами, а также находится внутри α -гранул тромбоцитов. Концентрация его в плазме составляет 1 ммоль/л, что представляет 1/3 от концентрации плазмина в плазме. Поэтому α 2-антиплазмин не способен полностью инактивировать весь плазмин, находящийся в плазме. Молекула α 2-антиплазмина циркулирует в крови около 2,5 дней. Комплексы плазмина с α 2-антиплазмином удаляются из циркулирующей крови печенью.

Концентрация α 2-антиплазмина в участке образования тромбоцитарного тромба играет важную роль в сборке тромба, резистентного к действию плазмина. α 2-антиплазмин конкурирует с фибриногеном за связывание с фибриновым тромбом. Некоторые молекулы, которые блокируют фибринолиз, такие как лизин, 6-аминогексаеновая кислота и фибриноген могут нарушать способность α 2-антиплазмина образовывать комплекс с плазмином.

Ингибитор активатора плазминогена

В настоящее время идентифицировано четыре ингибитора активатора плазминогена (PAI-1). К ним относятся PAI-1, PAI-2, PAI-3 и протеаза-пепсин. PAI-1 обеспечивает до 60% общей ингибиторной активности в отношении активаторов плазминогена в плазме, и, тем самым, играет важную роль в регуляции фибринолиза. Повышение уровня PAI-1 связано с риском тромбозов. PAI-1 и PAI-2 отводится доминирующая роль в регуляции клинически значимого фибринолиза. Роль PAI-3 и протеазы-нексина в патологическом фибринолизе требует дальнейших исследований.

PAI-1

Ген PAI-1 локализован в 7 хромосоме. Молекула PAI-1 ($M_r = 50000$) состоит из 379 аминокислот. Он циркулирует в плазме крови, а также присутствует в α -гранулах тромбоцитов. PAI-1 синтезируется эндотелиальными клетками, моноцитами, макрофагами, гладкомышечными клетками. Эндотелиальные клетки и тромбоциты регулируют выделение PAI-1 в процессе фибринолиза. Концентрация PAI-1 в плазме крови составляет 5—20 нг/мл. PAI-1 является наиболее эффективным ингибитором одноцепочечной и двуцепочечной форм тканевого и урокиназного ингибиторов активатора плазминогена. Комплекс PAI-1 и протеина С взаимодействует с фибрином и блокирует выделение PAI-1 из эндотелия.

Синтез PAI-1 регулируется на уровне транскрипции. Индукторами синтеза являются ЛПС, ИЛ-1, TNF- α , фактор роста тромбоцитов β , основной фактор роста фибробластов и ангиотензин-II. Тромбоциты способствуют выделению и синтезу PAI-1 в эндотелии, секретируя фактор роста тромбоцитов β .

In vitro гепарин способен снижать синтез PAI-1 эндотелиальными клетками. В отличие от эндотелия, синтез PAI-1 гепатоцитами не зависит от TNF α . Инсулин способствует синтезу PAI-1 в гепатоцитах. PAI-1 синтезируется в активной форме и затем превращается в латентную форму, в которой активный участок становится скрытым. Витронектин стабилизирует PAI-1 в активной форме. PAI-1, находящийся во внеклеточном матриксе, способен регулировать активность плазминогена в тканях.

PAI-2

PAI-2, известный также как ингибитор активатора плазминогена плацентарного типа, присутствует в эпителии трофобласта. Ген PAI-2 локализован в 18 хромосоме. 3' — участок PAI-2 гена — это ДНК-связанный фрагмент, принимающий участие в реакциях воспаления. Секреция PAI-2 возрастает под воздействием эндотоксина на макрофаги. PAI-2 синтезируется лейкоцитами, моноцитами, макрофагами и некоторыми опухолевидными клетками. PAI-2 является ингиби-

тором серпинов. В латентной форме он не существует. Физиологическая роль PAI-2 в регуляции нормального фибринолиза не совсем ясна. Тем не менее, известно, что степень ингибции PAI-2 активаторов плазминогена в 10 раз слабее, чем у PAI-1. Однако PAI-2 эффективно ингибирует расщепленные формы урокиназы. Уровень PAI-2 в плазме повышается во время беременности; он играет важную роль в регуляции фибринолиза во время беременности в плаценте; и в меньшей степени — в регуляции нормального физиологического фибринолиза у небеременных и мужчин.

Регуляция фибринолиза

Регуляция фибринолитической активности осуществляется комплексом взаимодействий между кровью, компонентами тромба и эндотелием. Формирование фибрина является начальным стимулом для фибринолиза. В процессе тромбообразования, плазминоген связывается с фибрином и «встраивается» в тромб. t-PA также связывается с фибрином, приводя к повышению ферментной активности связанного с t-PA плазмينا. α 2-антиплазмин не является эффективным ингибитором плазмина, связанного с фибрином, что позволяет ограничивать деградацию фибрина в тромб. Фибрин способен блокировать секрецию PAI-1 и модулировать выделение активаторов плазминогена эндотелиальными клетками. С другой стороны, связанный с фибрином PAI-1 способен блокировать как t-PA, так и u-PA. Фактор XIIIa перекрестно связывает α 2-антиплазмин с фибрином в количествах, эквивалентных фибрин-связанному плазминогену. Тромбоциты внутри тромба могут выделять PAI-1 и α 2-антиплазмин, тем самым, модулируя активность плазмина. Таким образом, баланс между факторами в плазме и внутри самого сгустка, эндотелий и клетки крови существенно влияют на интенсивность фибринолиза.

Чрезмерная активация системы фибринолиза, как, например, при инфузии «фибрин-неспецифичных» тромболитических агентов (стрептокиназа или урокиназа), обычно связана с так называемым «системным фибринолитическим состоянием», характеризующимся активацией плазминогена, снижением уровня α -2AP и расщеплением фибриногена. Физиологический же фибринолиз, который ответственен за удаление избыточных количеств фибрина из сосудистого русла, является высоко специфичным в отношении фибрина и не связан с системным фибринолитическим состоянием. Такая фибрин-специфичность является результатом специфических молекулярных взаимодействий между PA, плазминогеном, фибрином, α 2-AP и PAI.

Тромбоциты также содействуют фибринолизу. Плазминоген, связываясь с тромбоцитами, облегчает PA-опосредованное превращение его в плазмин. Связывание плазминогена с тромбоцитами усиливается при активации тромбина.

Механизмы, которые обеспечивают отсутствие системного действия плазмина, включают: а) локальное освобождение активаторов плазминогена из интактных соседних эндотелиальных клеток под действием тромбина; б) активацию активаторов плазминогена в области образования тромба; в) инактивацию свободного плазмина в кровотоке антиплазмином и ингибцию t-PA под действием PAI-1 и PAI-2.

Связь между прокоагулянтным ответом и фибринолизом была изучена не так давно. Лизис сгустка плазмином является следствием повышения каталитических свойств и защиты плазмина от ингибции антиплазмином. Оба эти процесса связаны с качеством связывания энзима и фибрина. В свою очередь, это качество зависит от карбоксил-терминальных лизиновых остатков, которые образуются в процессе начального расщепления фибрина. Важнейшую роль в регуляции фибринолиза играет TAFI — «тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза», который идентифицирован как плазменный зимоген прокарибоксипептидаза В. Этот протеин активируется через тромбин и тромбомодулин. Активированный TAFI отщепляет терминальные лизиловые остатки от фрагментов фибрина и тем самым снижает активность фибринолиза.

Клеточные рецепторы и фибринолиз

Фибринолиз происходит на поверхности эндотелия благодаря клеточным рецепторам плазминогена и его активаторов. Их экспрессия может варьировать. Эти рецепторы катализируют превращение плазминогена в плазмин. Плазмин, помимо регуляции фибринолиза на поверхности клеток, способен регулировать их миграцию и пролиферацию. Способность плазмина влиять на активацию тканевых металлопротеиназ обуславливает клеточную миграцию и пролиферацию. В последние годы была открыта роль плазмина и в процессах эмбриогенеза и метастазирования. Рецепторы плазминогена обнаружены не только на поверхности тромбоцитов, но также на поверхности моноцитов, фибробластов и эндотелиальных клеток, где они способствуют превращению плазминогена в плазмин. Плазмин, образующийся на поверхности клеток, защищен от действия серпиновых ингибиторов благодаря связи со специфическими клеточными рецепторами. Таким образом, клеточная поверхность служит своеобразным «убежищем» для осуществления плазминовой активности.

Рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (u-PA)

Рецепторы u-PA синтезируются как нормальными, так и опухолевыми клетками и присутствуют на моноцитах, фибробластах, тромбоцитах и эндотелиальных клетках.

Рецептор состоит из 313 аминокислот и имеет несколько участков гликозилирования. U-PA рецептор связан с поверхностью мембраны через гликозилфосфатидилинозитол. Такая связь позволяет ему функционировать как внутреннему мембранному белку. U-PA рецептор отсутствует при пароксизмальной ночной гемоглобинурии и может играть роль в возникновении состояний гиперкоагуляции. Рецептор связывается как с одноцепочечной урокиназой, так и с плазминогеном, образуя прочный комплекс, который увеличивает количество плазминогена, синтезированного на поверхности эндотелиальной клетки.

Рецептор активатора плазминогена тканевого типа

t-PA-рецептор имеет молекулярную массу 40 000 и отличается от u-PA-рецептора. Будучи связанным с рецептором, t-PA в 7 раз повышает генерацию плазмина, по сравнению с взаимодействием t-PA и плазминогена в растворе. Связывание лиз-плазминогена с t-PA-рецептором ингибируется e-аминокапроновой кислотой и липопротеином А. Таким образом, t-PA-рецептор представляет собой уникальный связывающий сайт на поверхности эндотелиальной клетки и играет важную роль в регуляции фибринолиза в области депозиции фибрина на сосудистой стенке.

Роль тромбоцитов в регуляции фибринолиза

Тромбоциты играют важную роль в патогенезе тромбозов и участвуют в регуляции фибринолитического процесса. Тромбоциты связывают плазминоген и t-PA и способствуют образованию плазмина и лизису тромба. Связанный с тромбоцитом плазмин защищен от действия $\alpha 2$ -антиплазмина. Тромбоциты также выделяют различные антифибринолитические агенты, такие как PAI-1, $\alpha 2$ -антиплазмин, ингибитор C1-эстеразы и $\alpha 2$ -макрोगлобулин. Таким образом, тромбоциты, когда их концентрация высока, могут ингибировать фибринолиз и способствовать тромбозу.

Плазмин способен изменять функционирование тромбоцитов, в зависимости от концентрации и продолжительности его действия на тромбоцит. В низких концентрациях плазмин блокирует каскад арахидоновой кислоты и протеолиз мембранных гликопротеинов. В высоких концентрациях плазмин нарушает связывание фибриногена и агрегацию тромбоцитов. Плазмин может повышать количество участков связывания с плазминогеном на поверхности тромбоцитов.

Таким образом, активация плазминогена может быть стимулирована на поверхности тромбоцитов, что способствует генерации больших количеств плазмина в процессе фибринолиза по принципу положительной обратной связи. Плазмин мо-

жет также расщеплять различные адгезивные и другие гликопротеины, находящиеся в непосредственной близости от тромбоцитарного тромба, такие как фибриноген, факторы V, VIII факторы, тромбоспондин, фибронектин и XIII фактор. Более того, плазмин может разрушать участок связывания с XIIIа фактором на поверхности тромбоцита, который способствует стабилизации тромба в процессе полимеризации фибрина.

Роль фибринолиза в предотвращении тромбозов

Как уже указывалось, после формирования тромба в сосудистой системе, его удаление зависит от синтеза плазминогена. Секрецию активатора плазминогена могут вызывать различные субстанции, включая фибрин, гистамин, серотонин, а также ишемия. Характерно, что те же причины играют роль в возникновении тромбозов.

Большинство исследований свидетельствуют, что нарушения высвобождения активатора плазминогена связано с повышенным риском тромбообразования. Нарушения фибринолитической активности и связанные с ними тромботические осложнения наблюдаются при различных патологических состояниях, в частности при тромбозе глубоких вен, злокачественных новообразованиях, сердечной недостаточности, ожирении и пр., когда имеет место повышение концентрации PAI-1 в крови.

Тромбоциты

Тромбоциты являются важнейшей неотъемлемой составной частью системы гемостаза и основной задачей, которую они призваны выполнять, является предотвращение кровопотери. Эта задача осуществляется тромбоцитами в несколько этапов: а) адгезия тромбоцита к участку поврежденной; б) активация тромбоцита, которая подразумевает образование внутриклеточных химических сигналов, индуцируемых как самой адгезией, так и различными растворимыми факторами крови, которые стимулируют тромбоцит через особые рецепторы. Эти сигналы вызывают быстрые морфологические изменения тромбоцитов, как распространение псевдоподий, за счет которых осуществляется движение тромбоцита, и агрегацию.

Однако помимо осуществления физиологической функции, тромбоциты вовлекаются в большое число патологических процессов. На сегодняшний день достоверно известно, что тромбоциты играют важную роль в возникновении массивных тромбозов, инфаркта миокарда, инсультов и прочих тромботических нарушений, которые наряду с другими сердечно-сосудистыми заболеваниями являются причиной смерти 1 миллиона человек в год в США.

Уже хорошо известно, что тромбоцитам принадлежит ведущая роль в патогенезе атеросклероза, а также в патогенезе тромботических осложнений у больных с искусственными клапанами сердца и после аортокоронарного шунтирования. Однако относительно недавно выяснилась роль тромбоцитов в возникновении иммунных форм тромбозов при антифосфолипидном синдроме, гепарин-индуцированных тромбоцитопении и тромбозе и иммунной тромбоцитопенической пурпуре.

Кроме того, стало известно, что дополнительно к той роли, которую тромбоциты играют в системе гемостаза, они также вносят свой вклад в процессы метастазирования при онкологических заболеваниях.

Роль тромбоцитов в системе гемостаза

Тромбоциты представляют собой дискообразные безъядерные клетки диаметром 2—3 мкм. Они продуцируются мегакариоцитами костного мозга, откуда высвобождаются в кровоток, где циркулируют примерно 10 дней. Нормальная кровь содержит от 200 000 до 400 000 тромбоцитов на микролитр.

Наружная оболочка тромбоцитов, гликокаликс, содержит несколько различных гликопротеинов, которые важны для осуществления функции тромбоцитов. Они включают интегрины и богатые лейцином гликопротеины. Эти поверхностные гликопротеины опосредуют адгезию и агрегацию тромбоцитов, выступая в качестве рецепторов для адгезивных протеинов и агонистов.

Цитоплазма тромбоцитов содержит цитоплазматические гранулы — плотные тельца и α -гранулы. Плотные тельца содержат аденозин-дифосфат (АДФ), аденозин-трифосфат (АТФ), Ca^{2+} и серотонин.

α -гранулы содержат β -тромбоглобулин (βTG), пластиночный фактор 4 или антигепариновый фактор (PF4), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), фактор фон Виллебранда (vWF), фактор V, фибриноген, PAI-1, протеазу нексин-II и тромбоспондин. Субстанции гранул играют важную роль в гемостазе, воспалении и заживлении ран. Важность α -гранул в гемостазе иллюстрируется тенденцией к кровотечению у пациентов с синдромом серых тромбоцитов. Тромбоциты также содержат филаменты актина и микротубулярную сеть. Микротубулы вовлекаются в процесс изменения формы тромбоцитов и контрактильный феномен, который имеет место при секреции тромбоцитов, в то время как актин участвует в ретракции сгустка. Открытая каналикулярная система, присутствующая в цитоплазме тромбоцитов играет роль в выведении субстанций из тромбоцитов в плазму и переходе субстанций плазмы в тромбоцит.

Нормальные тромбоциты, циркулирующие в свободном состоянии в кровотоке, не адгезируют к неповрежденному эндотелию и не агрегируются друг с другом. После активации тромбоциты осуществляют гемостаз различными путями. После сосудистого повреждения, тромбоциты образуют гемостатическую пробку, препятствуя кровотечению. Кроме того, тромбоциты служат источником прокоагулянтных поверхностей, на которых происходит активация свертывания крови. Тромбоциты также ингибируют антикоагулянтное действие гепарина, секретирова PF4. Более того, возможно тромбоциты препятствуют преждевременному лизису гемостатической пробки путем освобождения PAI-1.

Роль тромбоцитов в фибринообразовании

Активированные тромбоциты способствуют усилению образования фибрина в области повреждения. Уже давно известно, что процесс свертывания происходит гораздо быстрее в плазме, богатой тромбоцитами, чем в бедной. Такую прокоагулянтную активность тромбоцитов связывают с тромбоцитарным фактором 3 (PF3). Эта активность связана с микропротеинами мембранной поверхности. PF3 не экспрессируется на интактных тромбоцитах; экспрессия PF3 характерна только для активированных тромбоцитов. После активации тромбоцитов происходит экспозиция отрицательно заряженных фосфолипидов (как фосфатидилсерин) на поверхности. Это сопровождается экспозицией высоко-аффинных связующих участков для факторов Va, VIIa, IX, IXa и Xa. Активированные тромбоциты высвобождают микрочастицы из плазматической мембраны. Эти тромбоцитарные микрочастицы также экспрессируют высоко-аффинные рецепторы для факторов Va и VIIIa. Таким образом, активированные тромбоциты представляют анионные фосфолипидные поверхности, на которых происходит сборка теназных и протромбиназного комплексов.

Некоторые коагуляционные факторы и ингибиторы, включая фибриноген, фактор V и vWF, синтезируются в мегакариocyтах, хранятся в тромбоцитах и секретируются из гранул в процессе реакции освобождения.

Возвращаясь к механизмам функционирования тромбоцитов, таким образом, следует еще раз отметить, что адгезия тромбоцитов к субэндотелиальным соединительнотканым компонентам осуществляется за счет взаимодействия гликопротеиновых рецепторов (GP) тромбоцитов с коллагеном субэндотелиального матрикса или с другими реактивными адгезивными протеинами, включающими vWF, фибриноген, фибронектин, ламинин, витронектин и тромбоспондин. Мембранные GP-рецепторы и их паробразующие экстрацеллюлярные лиганды, способные усиливать адгезию тромбоцитов включают: а) GPIb/IX-vWF; б) GPIa/IIa — коллаген; в) GPIc/IIa — фибронектин; г) GPIc/IIa — ламинин; д) витронектиновый рецептор — витронектин/vWF/ фибронектин/тромбоспондин; е) GPIIb/IIIa — фибронектин/тромбоспондин/витронектин и ж) GPI V — тромбоспондин/коллаген (табл.4).

Некоторые гликопротеины тромбоцитарных мембран и их функция.

Тромбоцитарный GP-рецептор	Адгезивный гликопротеин	Функция тромбоцитов
GP1 β -IX (CD42 β , c)	VWF	Адгезия
Интегрины: α 1, β 1; α 2, β 2; α 3, β 1	Коллаген, типы I — IV.	Адгезия
Интегрин α 5 β 1 (GPIc-II α , VLA-5; CD49e/CD29)	Фибронектин	Адгезия
Интегрин α 6 β 1/GPIc-II α ; VLA-6, CD49/CD29	Ламинин	Адгезия
Интегрин α v β 3 (CD51/CD61)	Витронектин, фибриноген, фибронектин, vWF, тромбоспондин	Адгезия
GPIV/CD36	Тромбоспондин, коллаген	Адгезия
Интегрин α IIb β 3, (GPIIb-III α ; CD41/61) α IIb β 3	Фибриноген, vWF, фибронектин, витронектин, тромбоспондин	Коагезия (агрегация)
P-селектин (GMP-140, CD62P)	Sialyl-Le*	Взаимодействие тромбоцит-лейкоцит

Адгезивные гликопротеины

Коллаген

Коллаген является не только наиболее широко представленным классом протеинов, но также основным компонентом стенки кровеносного сосуда. В стенках сосудов обнаружено несколько типов коллагенов, включая типы I, III, IV, V, VI, VII, XIII. Из них 95% составляют коллагены I и III типов. Тромбоциты могут «приклеиваться» к коллагену типа I—VIII в статическом состоянии, но при физиологическом состоянии в кровотоке тромбоциты наиболее прочно «склеиваются» с коллагеном типа I, III и IV, менее прочно с VI, VII и VIII, и совсем не «склеиваются» с коллагеном типа V.

Фактор фон Виллебранда (vWF) — адгезивный протеин, который обнаружен в нескольких местах сосудистой системы: субэндотелии, секреторных гранулах эндотелиальных клеток, называемых тельцами Вайбеля-Палад, плазме и тромбоцитарных α -гранулах. VWF — крупный протеин-мультимер, размер его колеблется от 1х10⁶ до 20х10⁶ кДа. Он состоит из мономеров с молекулярной массой 275 кДа. При повреждении кровеносного сосуда vWF способствует адгезии тромбоцитов посредством рецептора адгезии гликопротеина GPIb.

Фибронектин

Фибронектин представляет собой субэндотелиальный внеклеточный матричный гликопротеин из 2 субъединиц (примерно по 240 кДа), который также обнаружен в тромбоцитарных α -гранулах и в плазме. Адгезия тромбоцитов к фибронектину осуществляется при помощи различных механизмов. Эти механизмы вызывают адгезию тромбоцитов посредством интеграции α IIb β 3 или интеграции α 5 β 1 с последовательностью RGD*, находящейся в домене фибронектина, ответственном за связывание клеток. Уже идентифицированы другие, не относящиеся к RGD связывающие участки, специфичные для α IIb β 3 в других лигандах, включая и сам фибронектин. *RGD-последовательность (аргинин-глицин-аспарагин-

новая кислота) — распознается большинством интегринов, которая обнаружена во многих адгезивных протеинах, связывающихся с интегринами, в том числе и в vWF.

Фибриноген в основном циркулирует в текущей крови, но может также присутствовать в атеросклеротической бляшке и трансформируется в фибриновую сеть, участвуя в свертывающем и репаративном процессах. Mr фибриногена = 340 кДа, молекула состоит из двух пар трех отдельных цепей: A α , B β и γ . Амино-терминальные части этих соединений входят в состав дисульфида, образующего центральный E-домен. C-терминальная часть некоторых из этих соединений присутствует в D-доменах. Основной тромбоцит-связывающий участок, не относящийся к RGD, расположен в карбоксил-терминальной части цепи фибриногена γ .

Адгезивные рецепторы тромбоцитов. Тромбоцитарный комплекс GP1b-V-IX

Данный комплекс опосредует адгезию тромбоцитов к адгезивному протеину vWF в условиях нормального ранозаживления, следующего за повреждением артерии, и способствует тромбогенезу в стенозированных артериях. vWF локализован в субэндотелии и экспонируется на эндотелии при повреждении сосуда. Комплексу GP1b-V-IX при осуществлении адгезии не требуется активация тромбоцитов. Хотя vWF также присутствует в плазме, тромбоцитарные GP1b не связываются с этой формой, за исключением случаев значительной деэндотелизации сосуда, давая основания предполагать, что для адгезии тромбоцитов необходима особая конформация vWF. Для решения этого вопроса можно экспериментально изменить структуру vWF с помощью ристоцитина или ботроцитина, которые присоединяются к vWF и видимо преобразуют его в активную форму, распознаваемую GP1b. Форма vWF при этом меняется от шаровидной до удлинненной, в том числе в условиях значительной деэндотелизации сосуда, что объясняет изменение биологических свойств vWF. Возможно, vWF в субэндотелии также находится в активном состоянии.

Исследования адгезии *in vitro* показали, что тромбоцитарный GP 1b наиболее эффективно функционирует в как адгезивный рецептор для иммобилизованного vWF или для vWF в составе внеклеточного матрикса в условиях значительной деэндотелизации сосуда. При этих обстоятельствах, возможно, такой механизм является одним из главных механизмов начального присоединения тромбоцитов к поврежденной сосудистой стенке.

Важность взаимодействия комплекса GP1b-V-IX с vWF иллюстрируется наследственными нарушениями при синдроме Бернара-Сулье. Здесь тромбоциты не содержат или содержат в малой степени комплекс GP1b, либо содержат дисфункциональный комплекс. У этих пациентов наблюдаются тяжелые нарушения, связанные с кровотечением, которые характеризуются тромбоцитопенией с продолжительным кровотечением различной тяжести. Тромбоциты имеют гигантские размеры, соединяются с vWF.

Различные компоненты GP1b-V-IX встречаются и в других клетках; в основном в клетках эндотелия. Присутствие некоторых из этих гликопротеинов в эндотелиальных клетках может быть повышено за счет выделения цитокинов, таких как TNF- α и INF- γ . GP1b в этих клетках задействован в адгезии к иммобилизованному vWF и может способствовать связыванию vWF субэндотелиального матрикса с эндотелием.

Интегрины — наиболее изученный класс рецепторов, опосредующих адгезию к компонентам внеклеточного матрикса и представляющих огромное значение для функционирования тромбоцитов. Все интегрины являются гетеродимерами, состоящими из трансмембранных α и β -субъединиц. На сегодняшний день насчитывают около 14 α и 8 β субъединиц, комбинация которых определяет специфику лиганда. Существует большое количество избыточных интегринов, это ведет к тому, что несколько разных интегринов могут соединяться с одним и тем же лигандом, а интегрины могут связываться с несколькими лигандами. Внеклеточный домен α имеет 3 или 4 бивалентных катион-связывающих участка, которые

связывают Ca^{2+} , Mg^{2+} или Mn^{2+} . Бивалентное катионное соединение существенно для функционирования интегринов, поскольку интегрин-опосредованная клеточная адгезия нарушается при наличии катион-хелатора EDTA, образующего хелатные соединения с этими катионами. Некоторые из α -субъединиц интегринов, включая αIIb и αV , протеолитически расщепляются на тяжелые и легкие цепи, которые соединяются посредством дисульфидного мостика. Некоторые α -субъединицы, включая α2 , содержат наружный домен, называемый вставным или I доменом, который также важен для связи с лигандами. На сегодняшний день считается, что интегрины всегда представлены в форме гетеродимеров из субъединиц. Цитоплазматические домены α и β субъединиц определяют субклеточную локализацию, связь интегринов с цитоскелетом и локализацию интегринов в специальных структурах. Цитоплазматические домены интегринов также необходимы для участия в активации и трансдукции внеклеточных сигналов в клетку. Многие современные исследования сфокусированы на идентификации сигнальных молекул, которые связываются с цитоплазматическими доменами интегринов.

Интегрин $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ (GPIIb-IIIa)

Интегрин $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ является наиболее распространенным белком тромбоцитарной мембраны и составляет 1—3% от всех белков тромбоцита. Подсчитано, что неподвижные тромбоциты обычно содержат от 40 000 до 60 000 $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ молекул на поверхности, хотя последние подсчеты показывают, что их может быть до 80 000. Этот интегрин способствует агрегации тромбоцитов путем связывания с растворимым фибриногеном в плазме, который вызывает перекрестное соединение множества тромбоцитов через образование фибриновых мостиков. Необходимость этого интегрина для осуществления агрегации тромбоцитов лучше всего

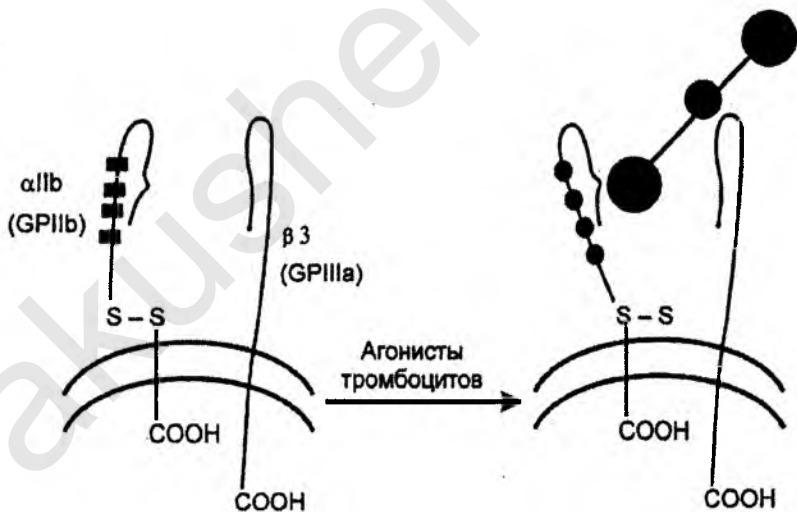


Рис. 15. Структура и активация тромбоцитарного рецептора фибриногена $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$.

$\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ интегрин, подобно другим интегринам, состоит из нековалентно связанных α - и β -субъединиц. Экстрацеллюлярный домен интегрина играет важную роль в регуляции конформации и, соответственно, функции интегрина. $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ интегрин имеет «спокойную» конформацию на нестимулированных тромбоцитах. После стимуляции агонистами тромбоцитов передается каскад сигналов, что ведет к формированию «активной» конформации интегрина таким образом, что становится возможным связывание фибриногена с α - и β -субъединицами. Связанный фибриноген, как «мостик», способствует связыванию тромбоцитов друг с другом с образованием агрегатов.

демонстрируется у пациентов с тромбастенией Гланцмана. У этих пациентов отсутствует данный интегрин, вследствие чего они страдают тяжелыми кровотечениями.

Кроме того, $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ может связывать фибронектин, vWF, витронектин и тромбоспондин. Связь с этими лигандами осуществляется путем адгезии с RGD пептидной последовательностью, обнаруженной в каждом из этих белков.

$\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ интегрин на поверхности тромбоцитов имеет низко-аффинную конформацию, так что он не способен соединять растворимый фибриноген (рис.15). Низкий аффинитет $\alpha\text{2}\beta\text{3}$ интегрин предупреждает спонтанную агрегацию циркулирующих тромбоцитов в ответ на избыток фибронектина в плазме. Тем не менее, низкоаффинная форма этого интегрин может соединяться с фибриногеном, который находится в неподвижном состоянии на стенке кровеносного сосуда или на поверхности другой клетки или тромбоцита. При активации тромбоцитов, внутриклеточные сигналы вызывают изменение конформации в $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ интегрине, переводя его в разряд высокоаффинных интегринов, способных к соединению с растворимым фибриногеном.

Другие тромбоцитарные интегрины

Тромбоциты адгезируются к субэндотелиальному коллагену в области сосудистого повреждения преимущественно посредством $\alpha\text{2}\beta\text{1}$ интегрин. Этот интегрин является рецептором для фибриллярных коллагенов I, II, III и V, а также для нефибриллярных коллагенов IV, VI, VII и VIII. Интегрин $\alpha\text{2}\beta\text{1}$ может служить в то же время рецептором для ламинина в некоторых типах клеток, но в тромбоцитах его функция ограничена связыванием коллагенов. Тромбоциты имеют от 1000 до 2000 молекул $\alpha\text{2}\beta\text{1}$ на своей поверхности.

Дефицит интегринов $\alpha\text{2}\beta\text{1}$ встречается редко. Такие пациенты страдают умеренными кровотечениями вследствие дефекта коллаген-индуцированной тромбоцитарной агрегации, но демонстрируют нормальную реакцию тромбоцитов на другие агонисты, такие, как, например, тромбин.

Тромбоциты также имеют три других интегрин на поверхности, каждый из которых присутствует в малых количествах (от 100 до 500 молекул на тромбоцит). Это $\alpha\text{5}\beta\text{1}$ интегрин, рецептор фибронектина; $\alpha\text{5}\beta\text{3}$ интегрин-рецептор фибронектина, тромбоспондина, фибриногена, vWF, остеопонтина, денатурированного коллагена и др. Эти интегрины возможно способствуют адгезии тромбоцитов ко множеству компонентов субэндотелиального матрикса, которые обнаруживаются на участках повреждения сосуда.

Среди прочих тромбоцитарных гликопротеинов уже идентифицированы GPVI и GPIV (CD36), хотя окончательно их роль еще не ясна, предполагается, что GPVI является коллагеновым рецептором, так как у пациентов с дефицитом этого рецептора обнаруживается нарушение агрегации в ответ на коллаген, но не другие агонисты. Дефицит GPVI может иметь место при аутоиммунной тромбоцитопении, в результате циркуляции анти-GPVI-антител.

Роль GPIV в функции тромбоцитов связывают с участием в сигнальной активации тромбоцитов.

Агрегация тромбоцитов

После адгезии тромбоциты начинают менять свою форму из дискоидной в сферическую, при этом происходит либо экспозиция агонистов, активирующих тромбоцит, либо их синтез, либо высвобождение. К таким агонистам относятся: коллаген, который присутствует в субэндотелии, тромбин, который образуется на поверхности активированного тромбоцита или на другой анионной фосфолипидной поверхности; АДФ, который высвобождается из поврежденных эритроцитов или секретируется из плотных гранул активированных тромбоцитов; циркулирующий адреналин и арахидоновая кислота, освобождаемая

из липидных депо тромбоцитов и метаболизирующаяся в мощный агонист тромбоксан А2.

В основном, эти агонисты вызывают изменение формы тромбоцитов, которые, становясь шаровидными, образуют длинные псевдоподии, вслед за чем следует агрегация тромбоцитов. Для осуществления процесса агрегации необходима активация тромбоцитарных интегриновых рецепторов адгезии, и в частности, $\alpha\text{IIb}\beta_3$, который, связываясь с фибриногеном или vWF, способствует связыванию соседних тромбоцитов друг с другом с образованием агрегатов.

Агонисты тромбоцитов, взаимодействуя с мембранными рецепторами тромбоцитов, вызывают трансдукцию сигнала или, иначе, передачу сигнала внутрь клетки, что в свою очередь, вызывает дегрануляцию и высвобождение веществ с высокой прокоагулянтной активностью (реакция высвобождения), среди которых АДФ, серотонин, β тромбоглобулин (βTG), антигепариновый фактор PF4, тромбоксан А2, vWF и др., которые еще больше активируют тромбоциты, активируя $\alpha\text{IIb}\beta_3$ и другие интегриновые рецепторы.

Простагландины, являясь по своей сути липидами, играют важную роль в осуществлении реакции освобождения и агрегации. Коллаген и адреналин могут вызывать активацию фосфолипаз, присутствующих в тромбоцитарной мембране. Эти фосфолипазы вызывают гидролиз мембранных фосфолипидов с освобождением арахидоновой кислоты. Арахидоновая кислота метаболизируется под действием циклооксигеназы с образованием нестабильных простагландиновых эндоперекисей, которые, в свою очередь, превращаются в тромбоксан А2 (ТхА2) (рис.7). ТхА2 является мощным, хотя лабильным (время полужизни 30 сек), индуктором агрегации и секреции тромбоцитов.

Каким образом столь многочисленные агонисты вызывают агрегацию тромбоцитов еще не до конца ясно. Однако по последним данным уже известно, что одним из составляющих механизмов является повышение концентрации ионов Ca^{2+} ; кроме того, абсолютно необходимо для агрегации тромбоцитов наличие фибриногена, который образует своеобразные «мостики» между агрегирующимися тромбоцитами. Тромбоспондин, который является содержимым а-гранул, также играет роль в агрегации.

Хотя основные механизмы (feed-back-механизмы) ингибиции в коагуляционном каскаде уже известны, очень мало пока изучены вопросы контроля адгезии и агрегации тромбоцитов.

Основные сигнальные механизмы активации тромбоцитов

Большинство, но не все агонисты тромбоцитов активируют их посредством «оккупации» 7 трансмембранных G-протеин-связанных рецепторов (рис. 16). Активация этих рецепторов индуцирует активацию фосфолипазы C_2 (PLC) и гидролиз фосфоинозитида. PLC вызывает гидролиз фосфатидилинозитола 4,5-бифосфата (PIP2) с образованием инозитола 1,4,5-трифосфата (IP3) и диацилглицерола (DAG). Как IP3, так и DAG играют важную роль в активации тромбоцитов. IP3, взаимодействуя со специфичными рецепторами, вызывает внутриклеточное освобождение Ca^{2+} из плотной тубулярной системы (рис. 16) — аналога оргanelл саркоплазматического ретикулула., выступающих в роли внутриклеточных хранилищ Ca^{2+} в скелетных мышцах. Тем не менее, точный механизм, который приводит к агрегации тромбоцитов, как уже указывалось, не ясен; поскольку IP3-индуцированная агрегация тромбоцитов также зависит от продукции тромбоксана А2 (ТхА2) и освобождения АДФ. DAG взаимодействует непосредственно с протеин-киназой С (PKC), активируя ее (рис. 16). Активированная PKC играет ключевую роль, опосредуя активацию $\alpha\text{IIb}\beta_3$ и связывание фибриногена; специфические ингибиторы PKC блокируют связывание фибриногена и агрегацию тромбоцитов под действием некоторых агонистов.

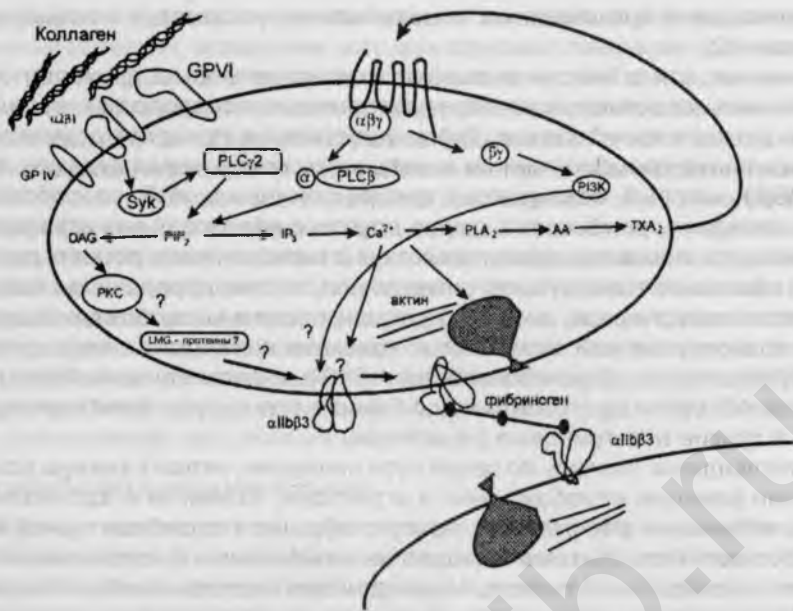


Рис. 16. Трансдукция сигнала в процессе активации тромбоцитов.

Существует две модели активации тромбоцитов. Хотя различные агонисты могут индуцировать сигнал различным образом, тем не менее, трансдукция сигнала имеет много общих элементов. Например, большинство агонистов, как тромбин, действуют через 7 трансмембранных рецепторов, индуцируя гидролиз фосфоинозиотида под действием $PLC\beta$ и образование IP_3 и DAG, высвобождение Ca^{2+} из плотных гранул, высвобождение арахидоновой кислоты и ее метаболизм. Коллаген индуцирует активацию подобным же образом, за исключением того, что активирует тромбоцит не через 7 трансмембранных белков, а через интегрин («outside — in» сигнал), что ведет к активации Syk и $PLC\beta 2$ с последующим образованием DAG и IP_3 . Важным этапом активации тромбоцитов является активация $\alpha IIb\beta 3$, которая связывается с фибриногеном и опосредует агрегацию тромбоцитов, секрецию гранул и, возможно, участвует в ретракции сгустка.

Трансдукция сигнала «извне — внутрь» («outside — in»):

$\alpha IIb\beta 3$ -интегрин участвует в передаче сигнала извне внутрь тромбоцита при связывании с фибриногеном (рис. 16). Такая передача сигнала по принципу «outside-in» необходима для активации тромбоцитов такими агонистами как коллаген, который связывается с интегрином $\alpha 2\beta 1$, и другими рецепторами адгезии тромбоцитов; а также для других проявлений тромбоцитарной активации, как, например, ретракция сгустка через $\alpha IIb\beta 3$.

Феномен сигнала «outside-in» возможно характерен для всех интегринов на всех клетках. Кроме того, хотя термин «outside-in» изначально относили к интегриновой передаче сигнала, уже обсуждается возможность использования этого термина и в отношении других рецепторов адгезии, как, например, $GP1b-V-IV$.

Проявлением передачи сигнала «outside-in» в результате занятости $\alpha IIb\beta 3$ является индукция тирозин фосфорилизации внутриклеточных протеинов. Когда интегрин $\alpha IIb\beta 3$ перекрестно связывается с первичными антителами, а затем со вторичными антителами или димерными молекулами, как например, фибриноген (связывание с которым индуцируется $\alpha IIb\beta 3$ -активирующими антителами), они индуцируют тирозин-фосфорилизацию протеинов в пределах от 50 до 68 кДа, а также 140 кДа, равно как и фосфорилизацию тирозин-киназы Syk.

Взаимодействие фибриногена и тромбоцитов

Взаимодействие растворимого фибриногена и тромбоцитов в растворе.

Рецептором фибриногена на тромбоците является интегрин $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$. Количество молекул этого интегрина составляет 80000 и увеличивается при стимуляции тромбоцитов. При этом находящиеся в особых пулах (α гранулах и тубулярной системе) интегринины выходят на поверхность. Фибриноген находится в плазме в значительных количествах (3 мг/мл). Неактивированные тромбоциты, циркулирующие в плазме, не могут связываться с фибриногеном, что предотвращает спонтанную агрегацию. Для взаимодействия с фибриногеном тромбоциты должны быть активированы тромбином, АТФ, адреналином или коллагеном. Эти вещества выбрасываются в значительных количествах при повреждении сосудистой стенки, и, связываясь со специфическими рецепторами на поверхности тромбоцитов, запускают каскад внутриклеточных активаторов. Активирующие влияния приводят к экспрессии рецептора фибриногена и изменению его конформации, что ведет к активации рецептора.

Для взаимодействия интегрина с активаторами тромбоцита необходима оптимальная концентрация катионов: Ca^{2+} , Mn^{2+} и Mg^{2+} . Эти катионы, соединяясь с катион-связывающим доменом αIIb , в котором имеется как минимум четыре функционирующих связывающих участка, изменяют сродство. Один кальций-связывающий участок выявлен в субъединице β3 . Мутации в участке, кодирующем последовательность катионсвязывающего фрагмента в β3 нарушают работу интегрина. Это свидетельствует о том, что кальций играет огромную роль в поддержании конформации, необходимой для связи с фибриногеном.

Участки связывания фибриногена

Начальное взаимодействие между фибриногеном и интегрином заключается в связывании С-конца (цепи фибриногена, называемой γ -декапептидом) с α субъединицей интегрина в области второго катионсвязывающего участка, γ -цепь также может связываться с β3 субъединицей, в связи с наличием RGD последовательности. Фибриноген содержит две различные RGD последовательности в области $\text{A}\alpha$ цепи, однако они не участвуют в начальных этапах связывания фибриногена. Возможно, эти участки задействованы в реакции ретракции сгустка и связывании с другими интегрининами, например $\alpha\text{v}\beta\text{3}$. Фибриноген, взаимодействуя с $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ клеток эндотелия и $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ тромбоцитов, возможно, обеспечивает удержание тромба в области дефекта сосудистой стенки.

Торможение связывания фибриногена

Синтетические белки, содержащие RGD последовательности, способны ингибировать взаимодействие фибриногена с активированным тромбоцитом. Для связывания 50% фибриногена необходимо 10mM RGD пептидов и 200mM додекапептида. Были созданы и новые, более эффективные ингибиторы связывания фибриногена. Для этого RGD последовательности была придана циклическая форма, либо добавлена еще одна аминокислота (триптофан). Наиболее перспективным явилось создание химических безбелковых аналогов RGD последовательности, обладающих теми же качествами, что аспарагин и аргинин. Пептидомиметики обладают большей специфичностью и прочностью связи с интегрином.

Существуют естественные антагонисты рецепторов фибриногена на тромбоцитах, которые были выделены из яда гадюки, гремучей змеи и пиявки, а также из секрета слюнных желез клеща. Эти низкомолекулярные белки содержат RGD последовательности и обладают достаточно слабой активностью. Все эти вещества, благодаря своей способности непосредственно связываться с интегрининами, были выделены в группу дезинтегринов. Дезинтегрины входят в группу металлопротеиназ и неферментных ингибиторов агрегации тромбоцитов. Дезинтегрины способны в 1—3 раза сильнее связываться с интегрининами, чем RGD содержащие пептиды, но их антигенность не позволяет использовать их в качестве лекар-

ственных средств. Изучение дезинтегринов дало возможность создания нового пептидомиметика Integrilin TM, который представляет собой циклический RGD пептид, синтезированный из барбурина (barbourin). Препарат прошел клинические испытания у больных с нестабильной стенокардией и в отделениях пластической сосудистой хирургии.

Первыми антагонистами интегрина $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ были антитела. Один из них, ReoPro, представляющий собой рекомбинантный Fab фрагмент, сейчас используется для предупреждения ишемических осложнений после ангиопластики коронарных артерий. Другой антагонист, проходящий клинические испытания — Tirofiban.

Активация тромбоцитов растворимыми агонистами

Тромбин и тромбиновые рецепторы

Изучение участков связывания тромбина на тромбоцитах показали, что на поверхности тромбоцита имеется около 50—100 участков с высоким сродством и 1500—2000 участков с умеренным сродством к тромбину. Предполагается наличие различных типов тромбиновых рецепторов.

GPIb — это один из возможных рецепторов тромбина. При синдроме Бернара-Сулье в тромбоцитах отсутствует GPIb, что приводит к уменьшению их взаимодействия с тромбином. Необъяснимым остается отсутствие связи между количеством связывающих участков тромбина и молекул GPIb (25000) на поверхности тромбоцита. Долгое время отсутствовала какая-либо информация о структуре рецепторов тромбина и механизмах рецепции. Только совсем недавно была выделена структура одного из них.

Структура тромбинового рецептора

Выявленная последовательность нуклеотидов показала, что тромбиновый рецептор — это белок, состоящий из одной цепи, его домен, содержащий N конец, является внеклеточной частью. Участок после 42-й аминокислоты этого домена называется связанным лигандом. Он отрицательно заряжен и полностью повторяет участок связывания тромбина у ингибитора тромбина пивяки. Тромбиновый рецептор также содержит семь гидрофобных доменов и G белок. Цитоплазматический конец удерживает рецептор у внутренней стороны мембраны. Внутриклеточный домен содержит участки-мишени для фосфорилирования протеинкиназой A.

Механизм действия тромбинового рецептора

Активация. Рецептор служит субстратом для действия тромбина, который расщепляет N-конец, содержащий внеклеточный домен (между arg41 и ser42) с выделением участка из первых 40 аминокислот тромбинового рецептора. Удаление этого пептида открывает связанный лиганд, который, взаимодействуя с другим отделом рецептора, активирует его (сам себя). Считается, что тромбин необходим для взаимодействия связанного лиганда с участком связывания. Рядом со связанным лигандом располагается отрицательно заряженный участок рецептора, который способствует взаимодействию рецептора и анион-связывающего фрагмента тромбина. Активированный рецептор существует лишь несколько минут, и затем его чувствительность снижается. Деактивация рецептора происходит либо в результате его инвагинации внутрь клетки в 75%, либо в результате восстановления структуры на поверхности в 25% случаев. Механизмы, регулирующие деактивацию, неизвестны, но это вполне может быть фосфорилирование цитоплазматических петель рецептора, как в случае других рецепторов этой группы (родопсин, β -адренергический рецептор).

Проведение сигнала от тромбинового рецептора

Внутриклеточная часть тромбинового рецептора взаимодействует с цитоплазматическим гуаниннуклеотидсвязывающим белком (G белком, состоящим из α , β и γ субъединиц). После активации G белка, идущей параллельно с превращением ГДФ в ГТФ, выделяется субъединица $G\alpha$, активирующая фосфолипазу $C\beta$

(PLC β). PLC β гидролизует PIP2 с образованием DAG и ИТЗ. Эти реакции приводят к активации интегрина α IIb β 3 и выделению секрета гранул тромбоцита. Метаболизм арахидоновой кислоты и секретируемый АТФ также влияют на общий ответ, как и другие менее изученные механизмы.

Активация тромбоцитов и фактор активации тромбоцитов (ФАТ)

ФАТ представляет собой фосфолипид. Помимо участия в активации тромбоцитов, ФАТ включается и в воспалительную реакцию в различных тканях. Эти эффекты опосредуются через воздействие на различные мембранные рецепторы. ФАТ-рецептор относится к семейству рецепторов, содержащих G-белок. Активированный ФАТ-рецептор через изменения фосфоинозитола и G-белка приводит к увеличению содержания Ca^{2+} внутри клетки и к активации РКС. В тромбоцитах ФАТ-рецептор регулирует как аденилатциклазу, так и PLC через белок $\text{G}\alpha 41$. Тромбоциты и другие клетки выделяют арахидоновую кислоту в ответ на стимуляцию ФАТ через PLA2. ФАТ также способствует фосфорилированию тирозина в некоторых белках.

Активация тромбоцитов и аденозин 5-дифосфат (АДФ)

В то время как коллаген и тромбин способствуют секреции тромбоцита, АДФ является наиболее важным агентом, с помощью которого тромбоцит активирует сам себя. АДФ выделяется из плотных гранул тромбоцитов в ответ на активацию различными агентами. Секретируемая АДФ усиливает активирующие влияния других агентов. АДФ способствует изменению формы, дегрануляции и агрегации тромбоцитов. Сильные активаторы тромбоцитов обычно стимулируют гидролиз фосфоинозотида, увеличение концентрации свободного Ca^{2+} в цитоплазме, формирование ТХА2 и активацию РКС. АДФ активна только в отношении тромбоцитов, способных к движению: движение и контакт между тромбоцитами необходимы. АДФ незначительно стимулирует гидролиз фосфоинозотида или активацию РКС, но значительно способствует формированию ТХА2, что позволяет предположить связь рецептора АТФ с PLA2, и отсутствие таковой с PLC. АДФ так же способен ингибировать ранее стимулированную аденилатциклазу. Ведется спор о том, являются ли эти два противоположных эффекта опосредованными одним или двумя типами рецепторов АДФ. Рецепторы АДФ относятся к семейству пуринорецепторов и также называются P2т рецепторами. АТФ является агонистом других P2 рецепторов, но относительно P2т рецепторов-антагонистов, что отличает эти рецепторы от других. Исследования с различными аналогами АДФ показали возможность существования нескольких типов рецепторов АДФ на поверхности тромбоцита.

Возможно также, что один рецептор, соединяясь с различными внутриклеточными агентами, вызывает разные ответы. До сих пор вопросы, касающиеся АДФ-рецепторов, остаются открытыми.

Активация тромбоцитов и адреналин

Адреналин усиливает эффекты других агентов, но его собственная агрегирующая способность незначительна. In vivo агрегация отмечается при наличии комбинации адреналина с тромбином, в то время как при наличии ингибитора агрегация тромбоцитов блокируется. Адреналиновый рецептор на поверхности тромбоцита представляет собой $\alpha 2$ -адренорецептор связанный с G белком. Действие этого белкового рецептора с молекулярным весом 64 кДа связано с ингибированием аденилатциклазы. Однако это не способствует агрегации тромбоцитов при воздействии на рецептор адреналина, но необходимо для усиления влияния других агентов, способствующих агрегации.

Активация тромбоцитов коллагеном

Взаимодействие коллагена с тромбоцитами через рецепторы к коллагену приводит к быстрой активации двух протеинкиназ — Syk и Src. Их активация связана с фосфорилированием тирозиновых остатков. SRC содержит специализированный фосфотирозинсвязывающие домены SH2 и SH3, а также домен катализатор.

SH2 и SH3 домены способствуют соединению Src с другими белками. Src широко распространена в тромбоцитах, но ее функция до конца не изучена. Syk содержит два SH2 домена, которые способствуют связыванию с белками, содержащими фосфорилированный тирозин, а также каталитический домен. Результатом стимулирующего коллагеном тромбоцитов и активирования тирозинкиназ Syk и Src является фосфорилирование тирозина и активация PLC γ 2. Считается, что активация фосфолипазы непосредственно связана с действием Syk, так как ингибирование Syk селективным ингибитором также блокирует и фосфорилирование фосфолипазы. Активация PLC γ 2 приводит к высвобождению PIP2 и IP3, что в свою очередь способствует выделению Ca²⁺, а также DAG, который активирует PKC. Воздействие коллагена на клетку может быть опосредовано и другими путями передачи сигнала, еще не изученными.

Стимуляция коллагеном тромбоцитов отличается от стимуляции другими агентами. Во-первых, цАМФ не способен препятствовать коллаген-опосредованной активации тромбоцитов, в то время как она является мощным ингибитором активации тромбоцита, опосредованной тромбином. Эта разница может быть связана с воздействием на различные типы фосфолипазы C, так как коллаген активирует PLC γ 2, которая не блокируется цАМФ, а тромбин активирует PLC β , которая блокируется цАМФ. Это свидетельствует о большой роли неизвестной фосфатазы в процессе активации тромбоцитов коллагеном.

Рецепторы, участвующие в активации тромбоцитов коллагеном

В активации тромбоцитов коллагеном участвуют, по меньшей мере, два рецептора. Необходим как интегрин α 2 β 1 так и GPIV, так как утрата одного из них делает невозможной агрегацию тромбоцитов в ответ на стимуляцию коллагеном.

Тромбоциты взаимодействуют с фибриллами коллагена. Стабильная связь с коллагеном обеспечивается интегрином α 1 β 2. Блокада этого рецептора препятствует связи с коллагеном, также нарушается нормальный процесс передачи сигнала, включая активацию Syk киназы.

GPIV играет меньшую роль в процессе адгезии тромбоцитов на фибриллах коллагена. Он необходим в дальнейшем при агрегации тромбоцитов. В эксперименте было показано, что взаимодействие GPIV с антителами к нему, может запустить процессы активации Syk киназы и агрегации тромбоцитов. В отличие от GPIV, α 2 β 1 сам по себе не может запускать агрегацию тромбоцитов.

Активация тромбоцитов антителами

Помимо активации нормальными физиологическими агонистами, тромбоциты также могут активироваться иммуноглобулинами (IgG) в патологических условиях. Антитромбоцитарные антитела, аллоантитела и моноклональные антитела (MAb) связываются с поверхностными гликопротеинами или фосфолипидами тромбоцитов через Fab-часть молекулы IgG. IgG и MAb также могут связываться с тромбоцитарными Fc-рецепторами (Fc γ RII) через их Fc-часть и активировать тромбоциты. Связывание Fc γ RII рецепторов вызывает активацию тромбоцитов при циркуляции антифосфолипидных антител и представляет собой важное звено в патогенезе тромбофилии и тромбозов при АФС (см. главу III).

Хотя стимулирующие MAB связывают различные протеины посредством своей Fab-части, связывание Fc-части с Fc γ RII-рецептором абсолютно необходимо для активации тромбоцитов. Трансдукция сигнала, индуцированная MAB, включает образование IP3 и DAG, повышение содержания внутриклеточного Ca²⁺, активацию PKC, что в свою очередь, ведет к экспозиции на тромбоцитах фибриногеновых рецепторов.

Fc γ RII-рецептор

Среди множества субтипов Fc-рецепторов, тромбоциты экспрессируют только Fc γ RII (CD32). Fc γ RII является одноцепочечным трансмембранным гликопротеином.

ном с молекулярной массой 40 кДа. Как уже указывалось, FcγRII играет важную роль в активации тромбоцитов под действием стимулирующих моноклональных и анти-фосфолипидных антител. В тромбоцитах растворимые иммунные комплексы или перекрестное связывание FcγRII со вторичными антителами индуцируют сильный сигнал, который включает фосфоинозитидный метаболизм, повышение уровня внутриклеточного Ca²⁺ и активацию протеин-киназы C (PKC). Перекрестное связывание FcγRII также индуцирует тирозин-фосфорилиацию множества протеинов, включая сам FcγRII. FcγRII-рецептор также обнаруживает свойство активировать FcγRII-ассоциированную тирозин-киназу-Syk, и киназу фокальной адгезии PP125fak. В свою очередь, активация PP125fak, но не Syk зависит от активации PKC.

Естественные ингибиторные механизмы, противостоящие активации и агрегации тромбоцитов

Формирование тромбоцитарного тромба в области повреждения сосуда строго локализовано. Тромб в норме никогда не возникает бесконтрольно и не препятствует нормальному току крови. Кроме того, тромбоциты не способны связываться с неповрежденной стенкой сосуда. Существуют механизмы, препятствующие адгезии тромбоцитов на неповрежденном эндотелии и ограничивающие формирование тромбоцитарного тромба. Эти механизмы включают продукцию простагландинов-ингибиторов, NO, тромбоцитарной системы эктопротеинкиназы и др.

Активированный тромбоцит выделяет АДФ и серотонин из плотных гранул. Серотонин играет роль местного вазоконстриктора. Параллельно усиливается метаболизм эйкозаноидов, и тромбоксан усиливает эффект АДФ в привлечении новых тромбоцитов. Очевидно, что контролирующая система должна находиться в области образования и консолидации тромбоцитарной массы и ограничивать этот процесс участком повреждения. Отрицательно заряженные протеогликаны сосудистой стенки отталкивают отрицательно заряженные тромбоциты. Количество тромбоцитов, оказавшихся в области поврежденного участка, время, за которое произошли процессы адгезии и агрегации, зависят от скорости тока крови. Эритроциты располагаются в центре тока крови в сосуде, вследствие этого растет количество тромбоцитов вблизи стенки сосуда. Эритроциты постоянно сталкиваются с тромбоцитами. Эти столкновения обеспечивают биохимическое взаимодействие между ними. Эритроциты отвечают на появление продуктов секреции тромбоцита выделением проагрегантов, которые повышают реактивность тромбоцита. Низкие дозы аспирина не уменьшают этой эритроцитарной активности *in vivo*.

Циркулирующие тромбоциты не активны до тех пор, пока эндотелий, выстилающий сосуд биохимически и физически не поврежден. Кроме того, тромбоцит производит вещества, ответственные за целостность сосудистой стенки. Эти вещества препятствуют спонтанному кровотечению из сосуда и оказывают защитное действие. При активации тромбоцитов во время повреждения сосуда интактный эндотелий ограничивает аккумуляцию тромбоцитов в области неповрежденной сосудистой стенки.

Эти эндотелиальные клетки участвуют в процессах тромборегуляции. В случае если тромбоцит расположен вблизи этих клеток, он не способен отвечать на воздействия агонистов.

Блокирующие простагландины

PGE1, PGE2, PGI2 (простациклин) блокируют агрегацию тромбоцитов, вызываемую многочисленными факторами, связанными с цАМФ. Простациклин и PGE2 синтезируются эндотелием и другими тканями. Указанные простагландины взаимодействуют с особыми G-протеин-связанными рецепторами на поверхности тромбоцита. Это приводит к активации аденилатциклазы, которая вызывает образование цАМФ. Количество синтезируемого цАМФ уравнивается активностью фосфотидиэстераз, которые разрушают цАМФ. Активность фосфодиэс-

тераз ингибируется большим количеством препаратов, в том числе теофилином и дипиридамолом, что приводит к повышению уровня цАМФ внутри клетки. цАМФ активизирует цАМФ-зависимые киназы (также называются А киназы или протеин киназы А), которые фосфорилируют особые протеины, которые, по всей вероятности, блокируют реакционную способность тромбоцитов. В настоящей момент не до конца выяснено, каковы функции цАМФ-зависимых киназ, которые блокируют реакционную способность тромбоцитов. Существует несколько возможностей, причем блокада может происходить не в одном месте и несколькими путями. Например, недавно было обнаружено, что повышенный уровень цАМФ блокирует в тромбоцитах рецептор IP₃, очевидно, путем фосфорилирования указанного рецептора, что ведет к понижению уровня Ca²⁺ внутри клетки. повышенный уровень цАМФ также блокирует активность PLC и PLA₂, хотя механизм этого процесса не достаточно ясен. Кроме этого, фосфорилирование GPIIb/IIIa, вызванное PGE₁, очевидно, блокирует полимеризацию актина, которая наблюдается в тромбоцитах, стимулированных коллагеном.

Оксид азота

Оксид азота II (NO) синтезируется из L-аргинина клетками эндотелия, тромбоцитами и другими клетками под действием NO-синтетазы. NO вырабатывается в ответ на повреждение эндотелия и агонисты тромбоцита, например, тромбин или АДФ, и активно проникает из эндотелия в плазматическую мембрану тромбоцитов. NO одновременно блокирует активацию тромбоцитов и вызывает дезагрегацию тромбоцитарных агрегатов, но, в отличие от PGI₂ и PGE₁, этот процесс зависит от цАМФ. Так как активность NO-синтетазы увеличивается в процессе активизации тромбоцитов, было выдвинуто предположение, что синтез NO тромбоцитами представляет собой способ ограничения агрегации. Таким образом, NO и простагландин обладают синергичным ингибиторным эффектом на активацию тромбоцитов.

Интегрин α IIb β 3 — интернализация

Интегрин α IIb β 3 способен выступать в качестве проводящей системы внутрь клетки, как в активированных, так и в неактивированных тромбоцитах (α IIb β 3-интернализация). Однако в активированном тромбоците интегрин, связываясь с фибриногеном, быстро проводит его внутрь клетки. Это способствует циркуляции активированных тромбоцитов без их агрегации, обеспечивает отсутствие фибриногена на поверхности тромбоцита и переходу тромбоцита в форму, не способную к адгезии. Дальнейшая судьба проникшего внутрь тромбоцита фибриногена не известна, но некоторые исследования показали его наличие в α гранулах. У пациентов, страдающих первым типом тромбастении Гланцмана, при отсутствии интегрин, не отмечается фибриногена в α -гранулах. Процесс поглощения фибриногена активированными тромбоцитами может служить механизмом транспортировки фибриногена к α -гранулам и, следовательно, антитромботическим механизмом, так как с поверхности тромбоцита удаляется связанный фибриноген.

Киназа эктопротеина

Высокоактивная система протеин-киназы/протеин фосфатазы изучена на поверхности неактивированных тромбоцитов. Очевидно, она отрицательно влияет на активацию тромбоцитов. АТФ, которая секретируется плотными гранулами тромбоцита или высвобождается из других циркулирующих в кровотоке клеток, служит в качестве косубстрата данного фермента. Система эктопротеина (ЕРК) на тромбоцитах фосфорилирует два протеина — массой 39кДа и 42кДа. ЕРК является серин-треонин-киназой. По своим функциям она похожа на РКС. Ее активность зависит от концентрации ионов Ca²⁺, и фермент быстро фосфорилирует комплексный пептидный субстрат из элементов псевдосубстрата РКС. Активность фермента существенно ослабляется активацией тромбоцита, происходящей под

влиянием различных агонистов. Лигандная специфичность GPIV (CD36), являющегося локусом связывания тромбоспондина (TSP) и коллагена, контролируется путем фосфорилирования эктодомена GPIV. Хотя фермент, который, возможно, фосфорилирует GPIV на поверхности тромбоцита не известен, есть основания предполагать, что это ЕРК. Недавно было доказано, что CD36 также фосфорилируется тромбоцитарной АДФ-зависимой ЕРК. Таким образом, экстрацеллюлярное фосфорилирование может контролировать ответную реакцию тромбоцита на различные агонисты.

Реакция высвобождения

Активированные тромбоциты синтезируют и выделяют вещества, которые затем взаимодействуют с другими тромбоцитами и стенкой сосуда. Выделяемые вещества могут находиться в гранулах различных типов в тромбоцитах, либо синтезироваться *de novo* из тромбоцитарных фосфолипидов.

Плотные гранулы содержат АТФ, АДФ и кальций и выделяют свое содержимое достаточно стремительно. Наиболее важным компонентом плотных гранул является АТФ. АТФ сам по себе является ингибитором реактивности тромбоцита. Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) является важным вазоконстриктором и синергистом АДФ в активации тромбоцита, но сам 5-НТ выступает как агонист тромбоцитов только у птиц и рептилий. Секреция кальция из плотных гранул является результатом одного или нескольких Ca^{2+} -зависимых процессов, происходящих в микросреде тромба.

Лизосомы, морфологически идентифицированные в тромбоците, функционально отличаются от классических лизосом. Лизосомальная активность определяется в гомогенатах тромбоцитов, но среди выделяемых стимулированными тромбоцитами веществ активность ферментов гидролиза слишком низкая. Тромбоциты не являются истинными фагоцитами и не могут образовывать фагоцитарных вакуолей. Это отличает лизосомальную активность тромбоцитов от таковой у нейтрофилов и моноцитов. В лизосомах тромбоцитов содержится эндогликозидаза. Этот фермент разделяет гликозаминогликаны на поверхности эндотелиальных клеток на фрагменты, не обладающие способностью к пролиферации. Фактор XIII, цитоплазматический фермент тромбоцитов, ответственен за образование ковалентной связи между нитями фибрина и стабилизацию тромба во время вторичного гемостаза. Он также связывает фибронектин и $\alpha 2$ -антиплазмин с фибрином.

α -гранулы тромбоцита содержат вещества, которые являются факторами роста, свертывания и белками адгезии: тромбоцитарный фактор 4, β -тромбоглобулин, тромбоцитарный фактор роста тромбоцитов, фибриноген, фибронектин, витронектин, тромбоспондин, vWF и др. В α -гранулах находятся также и факторы коагуляции. Сюда входят V фактор, высокомолекулярный кининоген, XI фактор, ингибитор активации плазминогена-1. Для выделения содержимого из α -гранул достаточно более низких концентраций агонистов, чем для плотных гранул.

Тромбоцитарный фактор роста (platelet-derived growth factor (PDGF)) способствует пролиферации гладкомышечных клеток, что играет не последнюю роль при атеросклерозе. PDGF имеет три изоформы и рецептор на поверхности гладкомышечных клеток и фибробластов. Следует отметить, что эти рецепторы схожи с трансмембранной тирозинкиназой.

Передача сигнала от PDGF рецептора происходит так же, как и от других тирозинкиназных рецепторов, таких как рецепторы эпидермального фактора роста и инсулина. Пептид, активирующий соединительную ткань III (connective tissue activating peptide III (CTAPIII)) — это еще один фактор роста из альфа гранул. Он, возможно, является предшественником β -тромбоглобулина и близок к антигепариновому фактору — 4 тромбоцитов. CTAPIII вызывает пролиферацию фибробластов. Трансформирующий фактор роста β (transforming growth factor β) — это продукт α гранул, вызывающий образование компонентов матрикса и их рецепторов.

Тромбоспондин представляет собой гликопротеин, выделяемый α -гранулами с молекулярным весом 450kDa. Способность его связываться с поверхнос-

клеток предполагает наличие рецепторов к тромбоспондину. Тромбоспондин выделяется не только в альфа гранулах, но также синтезируется, выделяется и связывается во внеклеточном матриксе. Эндотелиальные и гладкомышечные клетки также могут синтезировать тромбоспондин. Тромбоспондин способен взаимодействовать с фибриногеном, фибронектином, коллагеном, ламинином и vWF.

Тромбоцитарный фактор роста эндотелия (platelet-derived endothelial cell growth factor (PDECGF)) является компонентом цитоплазмы тромбоцитов. Его значение в стимуляции роста клеток эндотелия важно, так как у них нет рецепторов к PDGF. PDECGF появляется на поздних стадиях формирования тромба.

В процессе созревания мегакариоцит извлекает белки из плазмы крови и накапливает их в своих α гранулах (альбумин и IgG). В мегакариоцитах синтезируется и V фактор.

α -гранулы содержат ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-I), что препятствует излишней активации фибринолиза и преждевременному распаду тромба. В α -гранулах находятся такие адгезивные белки как фибриноген, фибронектин, vWF и витронектин.

α -гранулы неактивированных тромбоцитов содержат трансмембранный гликопротеин с молекулярным весом 140 KDa, который появляется на поверхности тромбоцита только после активации. Этот гликопротеин носит название P-селектин (CD62). Он также присутствует в клетках эндотелия, где накапливается в гранулах, называемых тельцами Weibel-Palade. Антитела, синтезируемые к поверхности активированных тромбоцитов, не взаимодействуют с неактивированными тромбоцитами. Это связано с транслокацией P-селектина, который появляется на поверхности только после активации тромбоцита. Функция P-селектина до конца не ясна. Возможно, он участвует во взаимодействии тромбоцита с нейтрофилом и лимфоцитом. Существуют еще два вида селектинов: L-селектины, выявленные в лимфоцитах, моноцитах и нейтрофилах, которые появляются на их поверхности после активации и E-селектины (ELAM-I, эндотелиально-лейкоцитарные адгезивные молекулы).

Система плотных трубочек (dense tubular system — DTS) в тромбоцитах играет роль депо кальция. В тромбоцитах есть и небольшие митохондрии с плохо развитыми кристами.

Реакция высвобождения следует за активацией тромбоцитов. Она связана с продукцией ТХА₂. Выраженность секреции гранул зависит от силы действующего агента. Для слабых агонистов (АДФ и эпинефрин) необходимы активация циклооксигеназы и фаза начинающейся агрегации с низкой концентрацией Са для начала реакции высвобождения. Агонисты со средней степенью активности (ФАТ) вызывают реакцию высвобождения без запуска каскада арахидоновой кислоты и в отсутствие агрегации. Несмотря на это, блокада циклооксигеназы и АДФ не снижает выраженности реакции высвобождения и агрегации.

Реакция высвобождения является селективной. Адениновые нуклеотиды метаболического пула не выделяются при этом, в то время как происходит выделение АДФ, АТФ и 5НТ из пула хранения в плотных гранулах. Наиболее эффективными агонистами, индуцирующими реакцию высвобождения являются тромбин и коллаген, так как они активируют все три механизма секреции: секрецию из α -гранул, плотных гранул и лизосом. АДФ, адреналин и ТХА₂ активируют только выделение содержимого из α - и плотных гранул.

Пути экзоцитоза в тромбоците подробно изучены. В начале происходит миграция гранул к местам расположения инвагинаций мембраны. Затем мембрана гранул встраивается в мембрану инвагинированного участка. Продукты секреции попадают во внеклеточную среду через открытую систему канальцев или связанную с поверхностью канальцевую систему.

Адениновые нуклеотиды

В тромбоците существует два различных пула адениновых нуклеотидов. Один локализован в цитозоле и носит название «метаболического», другой находится

в плотных гранулах и называется «пул хранения». Эти два пула не взаимодействуют между собой биохимически. В метаболическом пуле нуклеотиды не могут синтезироваться *de novo*. Около 40% АТФ и 50% АДФ находятся в пуле хранения. После инкубации тромбоцита с аденином, аденозином и гипоксантином, они захватываются клеткой и метаболизируются до АДФ и АТФ. Гипоксантин находится в плазме в огромных количествах и *in vivo* он является предшественником тромбоцитарных АДФ и АТФ. Во время активации тромбоцита содержимое из пула хранения выходит из плотных гранул.

Участие тромбоцитов в формировании тромба

Формирование тромба является нормальным, физиологически важным итогом первичного гемостаза. Тромбоциты необходимы для формирования тромба. Они связываются со стенкой сосуда, секретируют факторы, активирующие тромбоциты, подвергаются агрегации с образованием тромбоцитарного тромба.

Как уже указывалось, фибрин образуется при разрушении растворимого фибриногена тромбином, с выделением фибринопептидов А и В. Эти пептиды освобождаются от N-концов А α цепи и В β цепи. Фибринопептид В образуется в меньших количествах, чем фибринопептид А. Фибрин спонтанно полимеризуется до состояния нерастворимого геля или фибринового тромба. Тромбоциты связываются с растворимым фибриногеном и нерастворимым тромбином с помощью интегрина α IIb β 3.

Тромбоциты усиливают формирование фибрина, образуя каталитическую поверхность для прокоагулянтных белков, которые превращают протромбин в тромбин. Тромбоциты становятся катализаторами благодаря анионам фосфолипидов, особенно фосфатидилсерину на своей поверхности, которые появляются после активации. Одним из наиболее важных агентов, способствующих их появлению, является коллаген. Как появляются отрицательно заряженные фосфолипиды до сих пор не известно, но это, возможно, связано с блокадой аминокислот-транслоказы, которая в норме препятствует появлению подобных фосфолипидов на мембране тромбоцита. После выполнения своей миссии фосфатидилсерин возвращается в свое прежнее местонахождение на внутренней поверхности мембраны с помощью транслоказы. Этот процесс является АТФ-зависимым.

В результате появления фосфатидилсерина на поверхности тромбоцита формируется прокоагулянтный комплекс, повышается активация X фактора. Протромбиназный комплекс состоит из факторов Xa и Va на поверхности тромбоцита. Он способствует превращению протромбина в тромбин, который, в свою очередь, переводит фибриноген в фибрин. Протромбин и факторы IX и X связываются с тромбоцитом с помощью кальциевых мостиков между γ -карбоксиглутаминовой кислотой или glu -остатками этих факторов и отрицательно заряженными фосфолипидами.

Прокоагулянтный ферментный комплекс может образовываться и на поверхности тромбоцитарных микрочастиц, отделившихся от мембраны тромбоцита во время его активации. Эти частицы содержат тромбоцитарные трансмембранные гликопротеины, такие как α IIb β 3 и белки мембранного скелета, а также фосфатидилсерин. Фосфатидилсерин присутствует на поверхности постоянно, так как из-за отсутствия АТФ его транслокация в микрочастицах невозможна. Участие микрочастиц тромбоцита в активации тромбина является спорным вопросом.

Ретракция сгустка

Для ретракции сгустка необходим нормальный цитоскелет тромбоцита, который представляет собой сократительный аппарат. В сокращение вовлечены структуры цитоскелета, сходные с таковыми в гладкомышечных клетках. Интегрин α IIb β 3 является связующим звеном между тромбоцитом и фибрином. В случае блокирования интегрин антителами ретракция невозможна. Интересно, что связывание интегрин с фибрином во время ретракции сгустка отлича-

ется от взаимодействия их во время агрегации. Эта разница не связана с потерей фибриногеном фибринопептидов А и В, так как фибрин содержит те же два известных интегринсвязывающих белка, что и фибриноген. В случае удаления одного из участков, а именно FGDV белка γ -цепи фибриногена агрегация тромбоцитов нарушается, в то время как ретракция сгустка остается в норме. Это дает возможность предположить, что агрегация тромбоцитов опосредована связью интегрина с γ -цепью, а ретракция сгустка зависит от взаимодействия интегрина с RGD последовательностью а-цепи фибриногена,

Фибринолиз тромба происходит в результате действия плазмина. Он запускается тканевым активатором плазминогена. Тромбы, богатые тромбоцитами, более устойчивы к фибринолизу, во многом благодаря выделяемому из тромбоцитов ингибитору активатора плазминогена (PAI-1). Более того, плотные сети фибрина, связанные с тромбоцитами, более устойчивы к фибринолизу, чем те, которые не связаны с поверхностью тромбоцитов. Это связано с тем, что фибрин, не связанный с интегрином, более доступен лизису.

Участие тромбоцитов в процессах коагуляции

Удаление тромбоцитов из крови приводит к удлинению времени свертывания. Введение же их способствует образованию тромба в течение 5—6 сек. В прошлом, термин тромбоцитарный фактор 3 использовался для обозначения прокоагулянтной активности тромбоцита.

В процессе активации поверхность тромбоцита преобразовывается так, что становится возможным катализ превращения протромбина в тромбин благодаря экспрессии на поверхности тромбоцита высокоспецифичных рецепторов к активированному фактору V. Фактор V либо выделяется из α -гранул, либо извлекается из плазмы. В присутствии ионов кальция связанный активированный фактор V становится рецептором для активированного X фактора (Ха). Активированный V фактор может связываться как с активированными, так и с неактивированными тромбоцитами. По этой причине невозможно создание метаболически неактивных тромбоцитов. Отмытые тромбоциты также обладают прокоагулянтной активностью. Характерно, что переливания тромбоцитов улучшают состояние пациентов с дефицитом V фактора, так как вводимые тромбоциты имеют на своей поверхности связанный V фактор. Тромбоциты также участвуют в активации X фактора, предоставляя фосфолиппротеины своей поверхности для IX фактора в присутствии VIII фактора и кальция («теназная система»).

На ранних стадиях коагуляции АДФ-активированные тромбоциты способствуют активации XII фактора (фактора Хагемана). Подобным образом происходит активация XI фактора коллаген-стимулированными тромбоцитами.

На поздних стадиях коагуляции, связанные с тромбоцитами Ха и XIa факторы защищены от инактивации естественными ингибиторами из плазмы. После образования тромбоцитарного тромба, он закупоривает повреждение в сосуде и переходит в стадию консолидации, опосредованную тромбином. На поверхности тромбоцита и в плазме находятся тромборегуляторы, которые препятствуют активации факторов коагуляции. Они же ингибируют активацию тромбина, таким образом, действие его ограничивается участком повреждения. Антитромбин III инактивирует сывороточные протеазы, такие как тромбин, связываясь с белком и формируя стабильный комплекс с большой молекулярной массой. Гепарин потенцирует действие антитромбина III. Подобным эффектом обладают кофактор гепарина II, ингибитор тромбина, α 2-макрोगлобулин, α 2-антиплазмин и α 2-антитрипсин.

Существует также блокирующая система, которая препятствует функционированию V и VIII факторов — система протеина С. После образования тромбина, он связывается с рецептором на поверхности эндотелиальной клетки тромбоцита. Комплекс тромбин-тромбомодулин активирует витамин К-зависимую сывороточную протеазу протеин С. Активированный протеин С в присут-

ствии его кофактора, протеина S, инактивирует Va и VIIIa факторы на поверхности тромбоцита. Активированный протеин C также способствует фибринолизу (подробнее изложено в главе XII).

Основная стратегия противотромботической терапии

Основные принципы действия антикоагулянтов (ингибиторы факторов коагуляции)

Основными «представителями» этой группы препаратов являются нефракционированный гепарин, низкомолекулярный гепарин и антагонисты витамина K. Хотя гепарин традиционно относится к прямым антикоагулянтам, с точки зрения механизма антикоагулянтного действия, это неверно. Гепарин (в гораздо меньшей степени НМГ) осуществляет свои эффекты с участием эндогенного посредника — АТIII, а варфарин действует «непрямо» — через ингибицию витамин K-зависимых факторов свертывания крови. К таковым относятся варфарин и другие кумарины.

Варфарин и другие антагонисты витамина K являются оральными антикоагулянтами, что и обуславливает возможность их применения в целях длительной антикоагулянтной профилактики. Основной эффект — снижение генерации тромбина — достигается посредством блокады витамин K-зависимой γ -карбоксилирования глутаминовой кислоты в печени с образованием γ -карбоксиглутаматных кислотных остатков, которые крайне важны (эссенциальные) для функции ряда энзимов коагуляционного каскада. Однако антагонисты витамина K ингибируют не только факторы свертывания крови, но и витамин K-зависимые эндогенные антикоагулянты — протеины C и S. Поскольку время полужизни протеинов C и S короче такового для витаминов K-зависимых факторов, то их уровень падает быстрее, чем факторов свертывания, поэтому стабильный антикоагулянтный эффект наступает отсрочено. Подобным образом и реверсия эффекта при отмене варфарина наступает отсрочено. Главной клинической проблемой антагонистов витамина K являются кровотечения, а также необходимость постоянного мониторинга терапии (МНО — международное нормализованное отношение), поскольку дозировка препарата переменна и зависит от многих сопутствующих факторов, как то образ питания, прием одновременно других лекарственных препаратов и прочее.

Гепарин (нефракционированный) инактивирует тромбин, а также факторы IXa, Xa, XIa, а также XIIa посредством акцелерации (интенсификации) реакций взаимодействия этих протеинов с физиологическим ингибитором свертывания — анти-тромбин III (АТ III). Хотя гепарин, в отличие от варфарина, вызывает быструю ингибицию тромбина и других активных энзимов свертывания, он также имеет серьезные недостатки. Во-первых, применение возможно только парентерально. Во-вторых, вследствие «беспорядочного» связывания с другими протеинами плазмы, он обладает «непредсказуемой» фармакокинетикой, а, следовательно, также требует постоянного контроля дозы. В-третьих, он неэффективен у пациентов с дефицитом АТ III, так как АТ III является необходимым кофактором. В-четвертых, у небольшого количества пациентов (в среднем у 3%) гепарин вызывает гепарин-индуцированную тромбоцитопению и тромбозы. Антикоагулянтная функция гепарина нейтрализуется тромбоцитарным фактором 4 (PF4). В-пятых, тромбин, связанный с фибрином в составе тромба или на обнаженном субэндотелиальном матриксе остается активным и резистентен к гепарин-АТ III ингибиции.

Фракционированный (низкомолекулярный) гепарин (НМГ), представляя смесь фракций высокомолекулярного гепарина, имеет меньшую молекулярную массу, а соответственно, и отличные от него свойства. НМГ обладает лучшей биодоступностью и фармакокинетикой. Он относительно резистентен к ингибиции тромбоцитарным фактором PF4 и в большей степени ингибирует фактор Xa, нежели тромбин, то есть в большей степени ингибирует образование тромбина, что более «выгодно» с точки зрения эффективности антикоагулянтной терапии.

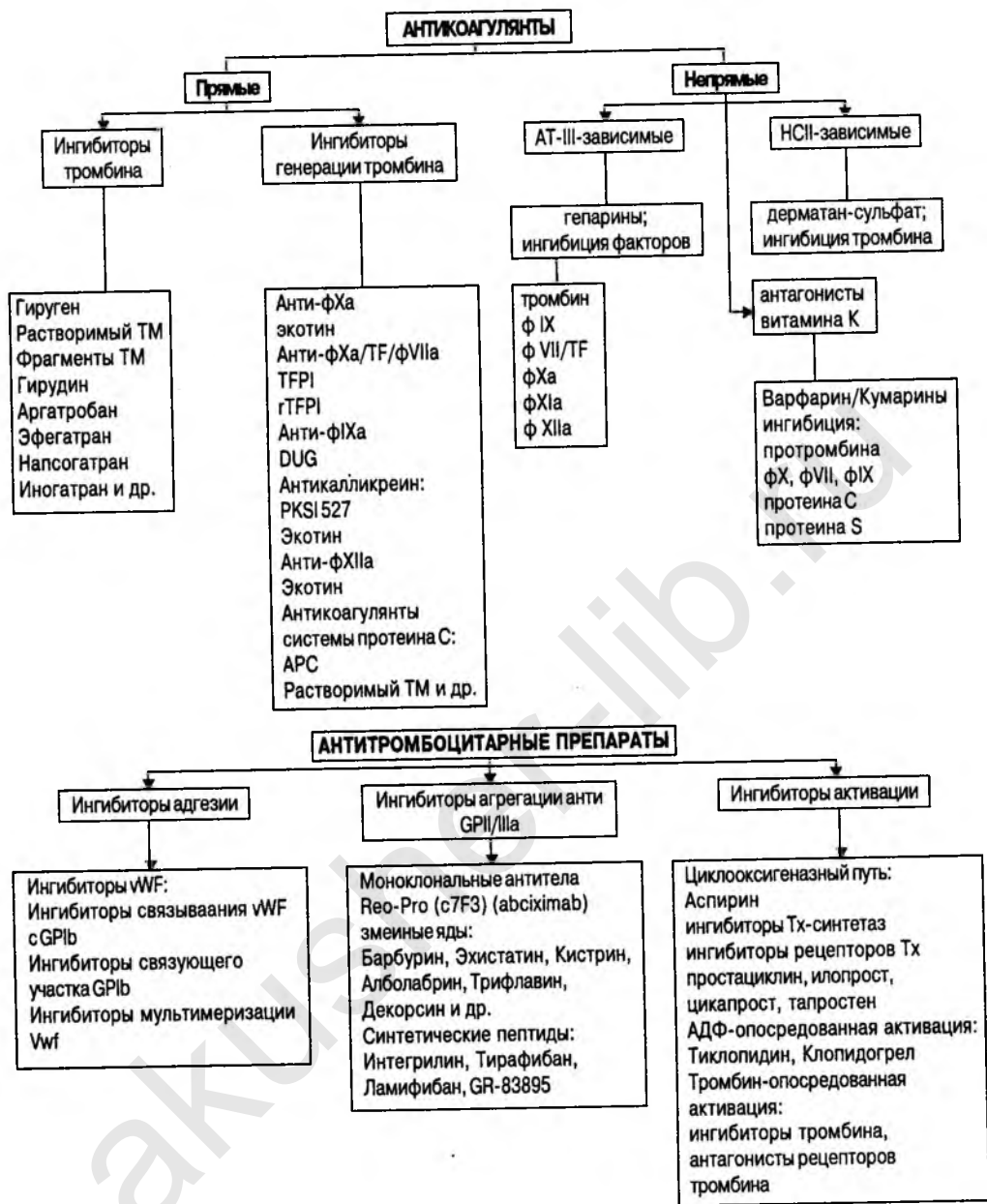


Рис. 17. Современная классификация антитромботических препаратов.

Эффекты НМГ более предсказуемы. Тем не менее, НМГ, полученные с помощью разных химических или физических методов из гепарина могут отличаться по фармакологическим свойствам. Подобно гепарину НМГ также АТIII зависимы, хотя в меньшей степени, чем НГ. Риск кровотечений при применении НМГ ниже, чем при терапии нефракционированным гепарином.

В настоящее время разрабатываются новейшие антикоагулянты. Они селективно ингибируют тромбин или другие энзимы, предшествующие образованию тромбина. В связи с этим современная классификация антикоагулянтов претерпела изменения (рис.17).

Прямые антикоагулянты блокируют факторы свертывания крови, связываясь с ними и предупреждая взаимодействия этих энзимов с их субстратами. В то же время прямые антикоагулянты делятся на прямые ингибиторы тромбина и ингибиторы генерации тромбина.

Непрямые антикоагулянты прямо с энзимами (факторами свертывания) свертывающей системы не взаимодействуют, вместо этого они усиливают эффекты естественных физиологических ингибиторов свертывания (АТ III, гепарин-кофактор II) или блокируют синтез витамин К-зависимых факторов свертывания.

К препаратам — непрямым ингибиторам тромбина — можно отнести и концентрат АТ III, так как степень ингибции антитромбином III тромбина и других коагуляционных энзимов зависит от наличия гликозаминогликанов, в частности — гепаран-сульфата, представленного на сосудистом эндотелии. Если раньше концентрат АТ III применяли лишь с целью заместительной терапии наследственного дефицита АТIII, то на сегодняшний день он успешно используется для профилактики тромбозов при ДВС, и в частности при тяжелых формах гестоза. Риск геморрагий, что важно, при этом не увеличивается.

Прямые ингибиторы тромбина

Разные структурные домены, включая каталитический сайт и 2 экзосайта связывающих сайта, регулируют взаимодействия тромбина с биологическими субстратами, направляют мысль фармакологов на развитие специфических ингибиторов тромбина. Прямые ингибиторы тромбина блокируют либо каталитический сайт тромбина или его анион-связывающие сайты (распознающие сайты на субстратах, таких как фибриноген, рецептор тромбина, трансмодулин и HCII или обоих). Наиболее мощный и селективный ингибитор тромбина — гирудин, пептид, изолированный из слюнных желез пиявки медицинской; в настоящее время доступен благодаря ДНК рекомбинантной технологии. Гирудин образует комплекс с тромбином, непонятно взаимодействуя с участками, примыкающими к тромбиновому каталитическому сайту и взаимодействуя с анион — связывающим экзосайтом.

Бивалентная природа взаимодействия «гирудин-тромбин» привела к разработке гирулога и подобного ему класса ингибиторов тромбина. Эти молекулы формируют связи «мост» между активным сайтом и экзосайтом фибриногена. И гирудин и гирулог проявили свойства эффективных антитромботиков в разных моделях тромбозов. VCH 2763, который имитирует способ бифункционального связывания гирулога и гирудина, но имеет более низкий молекулярный вес компонентов, имеет хороший антитромботический эффект на моделях артериальных и венозных тромбозов у животных. Эти ингибиторы абсолютно специфичны в отношении энзима — тромбина. Их главным недостатком является относительно короткий период полужизни и недостаточная биодоступность при приеме per os. Гирудин и гирулог находятся в стадии клинической разработки, хотя такие большие клинические исследования, как GUSTO IIb (1996) и TIMI 9b (1996) показали, что их преимущества перед гепарином не значительны. В то же время в терапии ТГВ у пациентов, подвергшимся операции на бедре или колене были продемонстрированы значительные преимущества.

Развитие специфических активных сайт-направленных ингибиторов тромбина является главной целью ряда фармакологических компаний. Привлекательность этого типа ингибиторов состоит в их возможностях орального приема с адекватными величинами периода полужизни препарата в плазме. За последние годы разработан ряд ингибиторов, которые взаимодействуют разными путями с аминокислотами каталитического участка (Ser195, His57, Asp102). С биохимической точки зрения эти ингибиторы можно классифицировать в зависимости от типа связывания или структуральной природы молекулы. Аргатробан, РРАСК, НАРАР, эфегатран, напсагатран, иногатран и CVS1123 являются наиболее хорошо известными примерами этих ингибиторов. Прямые ингибиторы тромбина

более эффективны, чем аспирин, гепарин или антагонисты GpIIb/IIIa рецепторов в некоторых моделях тромбозов у животных. Ряд маленьких молекул прямых ингибиторов тромбина находятся на разных стадиях разработки. Оральная биодоступность и адекватный период полужизни остаются основными моментами, требующими доработки. На сегодняшний день аргатробан является единственным прямым ингибитором тромбина, который утвержден для парентерального применения у людей (Япония).

Фибриноген связывающий анионный сайт (экзосайт) на тромбине также использовался как потенциальный сайт для разработки терапевтических препаратов. Гируген, синтетический додекапептид, состоящий из остатков 53—64 карбокситерминального региона гирудина, растворимый ТМ, полученный технологией рекомбинации ДНК и одноцепочечный аптамер ДНК, состоящий из 15 нуклеотидов, все они связываются с экзосайтом 1. Эти препараты предупреждают взаимодействие тромбина с макромолекулярными субстратами, такими как фибриноген и рецепторами тромбина на тромбоцитах, но теряют амидолитическую активность в отношении неповрежденных малых субстратов. Растворимые ТМ комплексы с тромбином приводят к конформационным изменениям в этом энзиме, которые «уничтожают» прокоагулянтную активность и конвертируют его в мощный активатор протеина С. Как гируген, так и ТМ проявляют хороший антитромботический эффект в разных экспериментальных моделях тромбозов. Для разработки ингибитора тромбина на основе ТМ были синтезированы циклические пептиды из 5-го EGF-подобного домена ТМ, оказалось, что они обладают некоторой тромбин-ингибиторной активностью. Недавно же был описан новый класс ингибиторов тромбина, основанных на одноцепочечной ДНК дезоксирибонуклеотидов. Участок одноцепочечных ДНК «аптамер» (GS-522) также способен взаимодействовать со специальным для гепарина сайтом на тромбине, в настоящее время он находится на преклинической стадии разработки как антикоагулянт, применяющийся при кардиопульмональном шунтировании.

Тромбин, кроме того, имеет экзосайт для высоко-аффинного связывания с гепарином. В дополнение у гепарин-связывающему сайту этот экзосайт участвует в активации FV и FVIII. Разработка ингибиторов исключительно этого сайта или в сочетании с каталитическим сайтом также весьма заманчивая идея, хотя, наверное, преждевременная для нынешнего состояния науки и молекулярных технологий.

Прямые ингибиторы тромбина имеют ряд значительных преимуществ перед гепарином, включая небольшие (или отсутствующие) эффекты на другие факторы коагуляции и отсутствие потребления этих факторов. Они не нейтрализуют факторы тромбоцитов, такие как PF4, и остаются эффективными при наличии активированных тромбоцитов, поскольку не инактивируются PF4. Крайне важным преимуществом по сравнению с гепарином является способность прямых ингибиторов тромбина к инактивации связанного тромбина в составе тромба. Это важно, поскольку каталитическая активность тромбина персистирует после его связывания с фибрином при формировании тромба. Потенциальный недостаток гирудина или гирудин-подобных соединений, также как и прямых ингибиторов каталитических сайтов, состоит в том, что они, вероятно, нейтрализуют как прокоагулянтную, так и антикоагулянтную функции тромбина.

Ингибиторы генерации тромбина

Тромбин, внедренный в фибриновый тромб, не только остается способным к каталитической конверсии фибриногена в фибрин, но также продолжает усиливать свое собственное образование через активацию FV и FVIII. Эта генерация тромбина через аутоамплификацию может быть прервана ингибиторами генерации тромбина скорее, чем ингибиторами тромбина, прямо действующими на активность сформированного тромбина. Последние исследования с ингибиторами FIXa или ингибиторами более ранних факторов-предшественников показали, что ингибция тромбина может быть эффективной для профилактики тромбозов так же как и прямая

ингибция активности тромбина. Более того, резонно утверждать, что ингибиторы генерации тромбина могут быть эффективны при клинических состояниях, когда предупреждение формирования тромбов желательнее, чем лечение сформировавшегося тромба.

А) ингибиторы FXa

Улучшение понимания механизмов действия антикоагулянтов и противотромботических препаратов позволило исследованиям сфокусировать внимание на FXa, как потенциальной цели для «интервенции». Активированная сериновая протеаза, FXa, как уже указывалось, играет ключевую роль в коагуляции крови, так как ее активация происходит в точке конвергенции внешнего и внутреннего путей свертывания крови, что приводит к финальной стадии коагуляционного каскада — формированию тромбина из протромбиназного комплекса. Исходя из теоретических знаний, ингибиторы FXa должны быть эффективными, так как будут влиять на каскад коагуляции в кинетически важной точке.

Сегодня гепарин и НМГ являются единственными лекарственными препаратами на рынке с антиFXa активностью. Эта активность зависит от АТIII, то же касается их антипротромбиновой активности, то есть они являются непрямыми ингибиторами FXa. Недавно был изолирован естественно встречающийся ингибитор FXa из пиявок и клещей. Клещевой антикоагулянтный пептид (TAP) и антистатин (ATS) — высоко селективные мощные ингибиторы FXa, одинаково эффективных как против свободных, так и связанных форм энзима, в противоположность гепарину и НМГ. Оба пептида получены с помощью рекомбинантных технологий DX9065a, являются первым нереккомбинантным ингибитором FXa с низким молекулярным весом. По предварительным сообщениям он показал хорошую оральную абсорбцию и эффективность на моделях экспериментальных тромбозов. Ингибиторы FXa могут оказывать меньший повреждающий эффект на гемостаз, чем прямые ингибиторы тромбина. Ограничивая только генерацию тромбина, ингибиторы FXa снижают риск серьезных кровотечений.

Б) ингибиторы других факторов коагуляции

Ингибирование реакций коагуляционного каскада на очень ранних этапах может быть достаточным для эффективного снижения количества антипротромботических препаратов, необходимых для достижения антипротромботических эффектов и лучшей специфичности при тромбоземболических заболеваниях. Активация внешнего пути свертывания играет важную роль в инициации коагуляции *in vivo*. Эта система вовлекает конверсию FVII в FVIIa после его ассоциации с TF. TFPI, ингибиторы формирования комплекса FVIIa/TF FVIIa-ингибиторы, способны блокировать внешний путь коагуляции. TFPI, эндогенный ингибитор коагуляции, при наличии Ca и FXa, ингибирует активность комплекса FVIIa/TF путем обратной связи, так как некоторые количества FXa должны быть «в наличии» перед ингибцией комплекса FVIIa/TF. Реккомбинантный TFPI обладает антипротромботическими эффектами в экспериментальных моделях тромбозов. Большим преимуществом TFPI может быть возможность локальной терапии. Комплекс FVIIa/TF, вероятно, формируется только на месте повреждения, то есть остается ассоциированным с мембраной. Моноклональные антитела против TF или FVII-FVIIa комплекса могут предупреждать формирование внутрисосудистых тромбов. Ингибиторы с меньшим молекулярным весом, созданные для взаимодействия с каталитическим сайтом FVIIa или против формирования комплекса FVIIa/TF, находятся на ранней стадии разработки.

Ингибиторы контактного (внутреннего) пути активации могут также играть важную роль в регуляции тромботических нарушений. В литературе есть сообщения о 2 ингибиторах этого пути свертывания. PKSI-527 — высоко селективный плазменный ингибитор калликреина, которые проявил антипротромботическую активность в ДВС моделях у крыс. Экотин, относительно неселективный серинный протеазный ингибитор, обнаруженный в периплазме *E.coli*, характеризуется как мощный ингибитор FXIIa и калликреина плазмы. Однако экотин также является очень мощным ингибитором FXa, также как ингибитор эластазы лейкоцитов человека.

Другие ингибиторы взаимодействуют с факторами коагуляции, участвующими на ранних ступенях каскада. Мощный низкомолекулярный протеин-антикоагулянт, выделенный из глиста *Анкилостомы канинум*, проявил антиFXa-активность (AcAP5 и AcAP6), а также активность против комплекса FVIIa/TF антикоагулянтом AcAPc2 реально наблюдается вторично после ингибиции FXa, подобно TFPI, но AcAPc2 утилизует экзосайт, который отличается от тех, которые «использует» FXa. Новый гликозаминогликан, DNG (деполимеризованный голотуриан гликозаминогликан) описывается как проявляющий ATIII и HCII — независимую ингибицию активации FX и HCII-независимую ингибицию тромбина.

Генерация тромбина может быть ограничена также через активацию антикоагулянтного пути протеина С (см. выше описание системы протеина С), который ингибирует активированные FV и FVIII, тем самым, подавляя образование тромбина из FXa. В настоящее время как рекомбинантный, так и «естественный» APC успешно применяются (к сожалению, не у нас в стране) в качестве антикоагулянта, при этом эффективные антитромботические дозы не ассоциируются с удлинением времени кровотечения и риском геморрагий.

Растворимый тромбомодулин (ТМ), образуя комплекс с тромбином, «блокирует» прокоагулянтную активность тромбина и «превращает» тромбин в селективный активатор протеина С, проявляя тем самым антитромботическую активность. Таким образом, растворимый тромбомодулин представляется также весьма многообещающим противотромботическим средством.

Крайне интересно, что единственная точечная мутация в гене тромбина может способствовать проявлению *In vivo* мощного антикоагулянтного эффекта. Точечная мутация, ведущая к замене глутаминовой кислоты на аланин в позиции 229 и образованию мутантного Ala-229-тромбина, значительно «сдвигает» в сторону усиления специфичность тромбина по отношению к антикоагулянтному субстрату — протеину С. *In vivo* такой модифицированный тромбин функционирует как эндогенный активатор протеина С.

Основные принципы действия антитромбоцитарных препаратов

Помимо тромбина тромбоциты также играют ключевую роль в развитии артериальных тромбозов, что, собственно, и предопределило создание препаратов, эффективно блокирующих их активность — в частности, адгезивные и агрегационные свойства. Адгезия тромбоцитов к сосудистой стенке ведет к их дальнейшей активации с высвобождением мощных индукторов агрегации тромбоцитов — АДФ, ТхА2 и серотонина, что, в конце концов, ведет к формированию тромба в области эндотелиального повреждения и его росту.

Стратегия антитромбоцитарной терапии подразумевает 3 основных пути — ингибиция инициации адгезии тромбоцитов к участку поврежденного эндотелия — ингибиция активации тромбоцитов — ингибиция агрегации тромбоцитов.

1. Ингибиторы адгезии и активации тромбоцитов

Первый антитромбоцитарный подход состоит в ингибиции адгезии тромбоцитов к сосудистой стенке через влияние на взаимодействие между GPIb и vWF. Это возможно путем а) ингибиции GPIb-FIX связывающего сайта для VWF, б) ингибиции VWF-связывающего сайта для GPIb и в) ингибиции мультимеризации VWF. Ингибиторы адгезии тромбоцитов пока остаются на ранних стадиях разработки. До сих пор не известны селективные антитромботические преимущества, полученные блокированием взаимодействия GPIb-vWF перед ингибиторами других систем агрегации тромбоцитов. Поскольку адгезию тромбоцитов вызывают множество различных лиганд и рецепторов, имеются альтернативные цели для антитромботической стратегии. Потенциальной проблемой этого подхода является риск кровотечений, так как формирование монослоя адгерентных тромбоцитов в ответ на повреждение сосуда обеспечивает важный гемостатический механизм для предотвращения кровопотери.

Как указывалось, тромбоциты быстро реагируют на разные эндогенные агонисты, такие как коллаген, АДФ, арахидонат, ТхА2 и тромбин. Связывание между агонистами и их тромбоцитарными рецепторами индуцирует трансдукцию сигнала через мембрану, что ведет к активации тромбоцитов. Второй антитромбоцитарный подход состоит в предотвращении активации тромбоцитов с применением агентов, которые ингибируют специфические ступени в трансдукции сигнала или взаимодействие между агонистом и его рецептором. Аспирин и подобные ему лекарства (ингибиторы Тх-синтетазы, антагонисты рецепторов Тх, простаглицлин), тиенопиридины (тиклопидин и клопидогрел), прямые ингибиторы тромбина и ингибиторы рецепторов тромбина являются препаратами, которые влияют на активацию тромбоцитов. Аспирин является наиболее широко применяемым в клинической практике антитромботическим препаратом для длительного лечения *per os*. Аспирин ингибирует агрегацию тромбоцитов через ингибцию генерации ТхА2 активированными тромбоцитами благодаря необратимой ацетилизации энзима циклооксигеназы. Необратимая природа ингибиции означает, что продукция ТхА2 исчезает на период жизни тромбоцита. Эффективность аспирина отчасти объясняется относительно низкой частотой тяжелых побочных явлений. Тем не менее, тромбоциты могут активироваться агонистами, такими как тромбин и АДФ обходным путем, минуя циклооксигеназную систему, что лимитирует эффективность аспирина. Кроме того, аспирин не ингибирует адгезию тромбоцитов и секрецию гранул. Формирование ТхА2 и его действие может также прямо блокироваться ингибиторами Тх синтазы и антагонистами Тх-рецепторов. Селективные ингибиторы синтеза Тх и/или рецепторов Тх имеют несколько преимуществ перед аспирином. К ним относятся селективная природа ингибиции, а также генерация простаглицлина и простаглицдина Д2, которые являются тромбоцит-ингибиторными и ткань-протекторными простаглицдинами. Клинические эксперименты с этими препаратами ограничены и широких данных по этим препаратам пока еще нет. Простаглицлин является наиболее мощным эндогенным ингибитором агрегации тромбоцитов. Простаглицлин и подобные ему синтетические составы, такие как илопрост, цикапрост и тапростен повышают содержание цАМФ тромбоцитов посредством рецептор-зависимой стимуляции аденилат-циклазы. Это приводит к снижению цитоплазматических уровней Ca^{2+} , что в свою очередь поддерживает тромбоциты в состоянии покоя и ингибирует ответ тромбоцитов на агонист. Главной проблемой с простаглицлином является рецептор, но опосредованная природа ответа и факт, что его эффект не ограничивается тромбоцитами. Это может привести к неспецифическим феноменам.

АДФ является другим важным эндогенным агонистом тромбоцитов, выделяющимся в месте повреждения как из эритроцитов, так из тромбоцитов. Его механизм действия ясен не полностью. Тиенопиридины (тиклопидин и клопидогрел) селективно и специфически влияют на АДФ-вызванную активацию тромбоцитов. Тиенопиридины не повреждают метаболизм арахидоновой кислоты в тромбоцитах и не взаимодействуют с GPIIb/IIIa рецепторами. Тиенопиридинам необходимо 3—5 дней при оральном назначении для развития полного антитромбоцитарного действия, а антитромбоцитарные эффекты персистируют более чем 10 дней после отмены. Тиенопиридины также имеют некоторые недостатки (как и пирин) в эффективности: тромбоциты все же могут активироваться с помощью других механизмов. Тромбин является наиболее важным агонистом тромбоцитов, образующимся в месте сосудистого повреждения. Вызванная тромбином активация тромбоцитов может «отменяться» прямыми ингибиторами тромбина или воздействием на активацию тромбиновых рецепторов. Недавно была клонирована последовательность гена рецептора тромбина, что открыло новую дорогу для разработки лекарств, которые будут селективно ингибировать эффекты тромбина на клетки. Тромбин расщепляет свой тромбоцитарный рецептор, трансмембранный протеин, создавая новую третичную лиганду, для которой может быть создан синтети-

ческий аналог, мимикрирующий лиганду. Направленные скорее на рецептор, чем на тромбин, ингибиторы должны подавлять клеточные эффекты на тромбин без повышения риска кровотечения (поскольку ингибирование образования фибрина не происходит). Исследования экспериментальных моделей на животных подтвердило, что ингибирование тромбин-рецепторной активации может обеспечить эффективный подход к ограничению сосудистого ответа на повреждение. Мощные специфические ингибиторы рецептора тромбина, охарактеризованные недавно, вероятно в ближайшем будущем, пройдут клинические испытания.

2. Антагонисты рецепторов фибриногена

Рецепторы фибриногена (GPIIb/IIIa), пожалуй, играют главную роль в процессе агрегации тромбоцитов и тромбообразования. Эти рецепторы представлены, помимо тромбоцитов, на клетках эритроцитарной линии и некоторых опухолевых клетках.

Активация тромбоцитов происходит при конформационном изменении кальций-зависимого гетеродимера GPIIb/IIIa. Активированный комплекс превращается в высокоаффинный рецептор для белков адгезии (ответственных за формирование тромбоцитарных агрегатов), включая фибриноген, vWF, витронектин и фибронектин. Все эти лиганды связываются через RGD-распознающий сайт (аргинин-глицин-аспартат). В настоящее время синтезировано несколько классов ингибиторов GPIIb/IIIa, включая моноклональные антитела (7E3, фрагменты моноклональных антител-химер с 7E3Fab (ReoPro)), синтетические пептидомиметики (пригодные для использования *per os*), а также молекулы, экстрагированные из змеиных ядов.

Эти химические агенты действуют исключительно на тромбоциты и потому более специфичны, чем аспирин или ингибиторы тромбина. Блокада GPIIb/IIIa рецепторов вызывает выраженное снижение тромботических окклюзий в экспериментах на животных. В клинической практике Рео-Про также демонстрирует высокую эффективность, хотя и не лишен некоторого геморрагического риска.

Оральные ингибиторы GPIIb/IIIa находятся в стадии развития и, возможно, в ближайшем будущем будут внедрены в клиническую практику.

Список литературы

1. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов Н.И., Тлепшуков И.К. Физиология системы гемостаза. // Москва, «Медицина» 1995. — 243 с.
2. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. // Москва, 1988. — 528 с.
3. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. // Москва, изд-во «Ньюдиамед-АО», 1999г. — 224с.
4. Бышевский А.М., Тарсенов О.А., Галян С.Н. и др. Биохимические компоненты свертывания крови. // Свердловск 1990. — 210 с.
5. Витковский Ю.А. Роль цитокинов в регуляции системы гемостаза. Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук, Чита, 1997. — 40 с.
6. Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. Казань, изд-во ФЭК, 2000 г. — 367 с.
7. Кузник Б.И., Витковский Ю.А. Иммунный ответ и система гемостаза — проблемы физиологии и патологии системы гемостаза: труды проблемной комиссии при межведомственном Науч. Совете по гематологии и трансфузиологии РАМН. — Барнаул, 2000г. — с.119—127.
8. Abbink J.J., Nuthens J.H., Eerenberg J.M. et al. Quantification of functional and inactivated α 2-macroglobulin in sepsis. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 65: 32—39.
9. Alife M.E., Sigmon D.H., Pomposiello S.I., Carretero O.A. Effect of high salt intake in mutant mice lacking bradykinin-B2 receptors. // *Hypertension*, 1997; 29: 483—487.

10. Ameri A., Kuppuswamy M.N., Basu S. et al. Expression of tissue factor pathway inhibitor by cultured endothelial cells in response to inflammatory mediators. // *Blood*, 1992; 79: 2319—3226.
11. Ammar I., Scudder L.E., Collier B.S. In vitro effects of the platelet glycoprotein lib/IIIa receptor antagonist c7E3 Fab on the activated clotting time. // *Circulation*, 1996; 95: 614—617.
12. Anwar R., Miloszewski K., Markham A.F. Identification of a large deletion, spanning exons 4 to 11 of the human factor XIIIa gene, in a factor XIII deficient family. // *Blood*, 1998; 91: 149.
13. Anwar R., Miloszewski K.J., Markham A.F. New splicing mutations in the human factor XIIIa gene, each producing multiple mutant transcripts of varying abundance. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 1151.
14. Arbini A., Pollak E.S., Bayleran J.K., High K.A., Bauer K.A.. Severe factor VII deficiency due to a mutation disrupting hepatocyte nuclear factor 4 binding site in the factor VII promoter. // *Blood*, 1997; 89: 176.
15. Archipoff G., Berets A., Bartha K. et al. Role of cyclic AMP in promoting the thromboresistance of human endothelial cells by enhancing thrombomodulin and decreasing tissue factor activities. // *Br. J. Pharmacol.*, 1993; 109: 18—28.
16. Aslam S., Standen G.R., Bruce L.J., Gialeraki R., Mandaiaki T. A novel insertion mutation (1286insC) in exon 9 of the factor XIII-A subunit gene. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1998; 9: 441.
17. Bagila F.A., Jameson B.A., Walsh P.N. Identification and chemical synthesis of a substrate-binding site for factor IX on coagulation factor XIa. // *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 24190—24197.
18. Bajzar L., Manuel R., Nesheim M.E. Purification and characterization of TAFI, a thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 14477—14484.
19. Bajzar L., Morser J., Nesheim M. TAFI, or plasmin procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 16603—16608.
20. Bajzar L. TAFI, or plasma procarboxypeptidase B, couples the coagulation and fibrinolytic cascades through the thrombin-thrombomodulin complex. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 16603—16608.
21. Bakker H.M., Tans G., Janssen-Claessen T. et al. The effect of phospholipids, calcium ions and protein S on rate constants of human factor Va inactivation by activated human protein C. // *Eur. J. Biochem.*, 1992; 208: 171—8.
22. Banner D.W., D'Arcy A., Chene C. et al. The crystal structure of the complex of blood coagulation factor VIIa with soluble tissue factor. // *Nature*, 1996; 380: 41—46.
23. Bar-Shavit R., Eldor A., Vlodavsky I. Binding of thrombin to subendothelial extracellular matrix: Protection and expression of functional properties. // *J. Clin. Invest.*, 1989; 84: 1096—1104.
24. Bauer K.A.. Coumarin-induced skin necrosis. // *Arch. Dermatol.*, 1993; 129: 766—768.
25. Beacham D.A., Cruz M.A., Handin R.I. Glycoprotein Ib can mediate endothelial cell attachment to a von Willebrand factor substratum. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 73:309—317.
26. Bernardi F., Arcieri P., Bertina R.M. et al. Contribution of factor VII genotype to activated FVII levels. Differences in genotype frequencies between northern and southern European populations. // *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 2548—2553.

27. Berndt M.C., Ward C.M., De Luca M. et al. The molecular mechanism of platelet adhesion. // *Aust. N. Z. J. Med.*, 1995; 25: 822—830.
28. Bertina R.M., Broekmans A.W., van der Linden I.K., Mertens K. Protein C deficiency in a Dutch family with thrombotic disease. // *Thromb. Haemost.*, 1982; 48: 1—5.
29. Bertina R.M., Koeleman B.C., Koster T. et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. // *Nature*, 1994; 369: 64—67.
30. Bharadwaj D., Iino M., Kantayianni M., Smith K.J., Foster D.C., Kisiel W. Factor VII central. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 30685.
31. Bizzozero J. Sul midollo della ossa. Naples: Tipografia Italiana, 1869.
32. Bizzozero J. On a new blood particle and its role in thrombosis and blood coagulation. (Translated by E.A. Beck from the original: *Virchows Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med.* 90: 261—332, 1882) (Bern, Hans Huber 1982).
33. Blomback B. Fibrinogen structure, activation, polymerization and fibrin gel structure. // *Thromb. Res.*, 1994; 75: 327—328.
34. Bolton-Maggs P.H.B., Jones P., Rizza C.R., Stowell K.M., Figueriredo M.S., Brownlee G.G.. Hemophilia B Liverpool: a new British family with mild hemophilia B associated with a G to A mutation at a —6 in the factor IX promoter. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 69: 848.
35. Borth W. α 2-Macroglobulin. A multifunctional binding and targeting protein with possible roles in immunity and autoimmunity. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1994; 737: 267—272.
36. Brass L.F., Pizzarro S., Ahuja M. et al. Changes in the structure and function of the human thrombin receptor during activation, internalization and recycling. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 2943—2952.
37. Brenner B., Sanches-Vega B., Wu S.M., Lanir N., Stafford D.W., Solera J. A mis-sense mutation in gamma-glutamyl carboxylase gene causes combined deficiency of all vitamin K-dependent blood coagulation factors. // *Blood*, 1998; 92: 4554—4559.
38. Bristol J.A., Ratcliffe J.V., Roth D.A. et al. Biosynthesis of prothrombin: Intracellular localization of the vitamin K-dependent carboxylase and the sites of γ -carboxylation. // *Blood*, 1996; 88: 2585—2593.
39. Brown N.J., Nadeau J.H., Vaughan D.E. Selective stimulation of tissue-type plasminogen activator (t-PA) in vivo by infusion of bradykinin. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 522—525.
40. Broze G.J. Jr., Gailani D. The role of factor XI in coagulation. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 70: 72—74.
41. Broze G.J. Jr. The role of tissue factor pathway inhibitor in a revised coagulation cascade. // *Semin. Hematol.*, 1992; 29: 159—169.
42. Buchanan A. On the coagulation of blood and other fibriniferous liquids. *Proc. R. Phil. Soc. Glasgow* 2: 16—22, 1845.
43. Bugge T.H., Flick M.J., Daugherty C.C. et al. Plasminogen deficiency causes severe thrombosis but is compatible with development and reproduction. // *Genes. Dev.*, 1995; 9: 794—807.
44. Bugge T.H., Xiao Q., Kombrinck K.W. et al. Fatal embryonic bleeding events in mice lacking tissue factor, the cell-associated initiator of blood coagulation. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 6258—6263.
45. Busse R., Mulsch A. Induction of nitric oxide synthase by cytokines in vascular smooth muscle cells. // *FEBS Lett.*, 1990; 275: 87—90.

46. Butenas S., van't Veer C., Mann K.G. Evaluation of the initiation phase of blood coagulation using ultrasensitive assays for serine proteases. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 21—27.
47. Butler S.P., van-Cott K., Subramanian A., Gwazduaskas F.C. Current progress in the production of recombinant human fibrinogen in the milk of transgenic animals. // *Thromb. Hemost.*, 1997; 78: 537.
48. Bysova I.V., Rabbani R., D'Sousa S., Plow E.F. Role of integrin avb3 in vascular biology. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 726—734.
49. Carmeliet P., Moons L., Dewerchin M. et al. Insights in vessel development and vascular disorders using targeted inactivation and transfer of vascular endothelial growth factor, the tissue factor receptor, and the plasminogen system (Review). // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1997; 811: 191—206.
50. Casella J.F., Bontempo F.A., Markel H. et al. Successful treatment of homozygous protein C deficiency by hepatic transplantation. // *Lancet*, 1988; 1: 435—438.
51. Catto A.J., Kohler H.P., Coore J., Mansfield M.W., Stickland M.H., Grant P.J. Association of a common polymorphism in the factor XIII gene with venous thrombosis. // *Blood*, 1999; 93: 906.
52. Caveda L., Corada M., Martin-Padura I. et al. Structural characteristics and functional role of endothelial cell to cell junctions. // *Endothelium*, 1994; 2: 1—10.
53. Chu C.T., Howard G.C., Misra U.K., Pizzo S.V. a₂—Macroglobulin: A sensor for proteolysis. // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1994; 737: 291—307.
54. Clozel M., Clozel J.P., Hesse P. Endothelin receptor antagonism: a new therapeutic approach in experimental hypertension. // *Circulation*, 1993; 88: 1326.
55. Colman R.W., Hirsh J., Marder V., Salzman E.W. Hemostasis and Thrombosis Basic Principles and Clinical Practice. // Philadelphia: Lippincott, 1994.
56. Coughlin S.R. Sol Sherry lecture in thrombosis: how thrombin «talks» to cells: molecular mechanisms and roles in vivo. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 514—518.
57. Crossley M., Ludwig M., Siowell K.M. et al. Recovery from hemophilia B Leyden: An androgen-responsive element in the factor IX promoter. // *Science*, 1992; 257: 377—379.
58. Cumming A.M., Keeney S., Salden A., Bhavnani M., Shwe K.H., Hay C.R. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 98: 353—355.
59. Dahlback B., Carlsson M., Svensson P.J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 1004—1008.
60. Dahlback B. Human coagulation factor V purification and thrombin-catalyzed activation. // *J. Clin. Invest.*, 1980; 66: 583—591.
61. Dahlback B. Protein S and C4b-binding protein: Components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 66: 49—61.
62. Dahlback B. Resistance to activated protein C caused by the factor V R⁵⁰⁶Q mutation is a common risk factor for venous thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 483.
63. De Caterina R., Libby P., Peng H.B. et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. // *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 60—68.
64. De Marco L., Mazzucato M., Masotti A. et al. Function of glycoprotein Iba in platelet activation induced by α -thrombin. // *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 23776—23783.

65. De Stefano V., Finazzi G., Mannucci P.M. Inherited thrombophilia: Pathogenesis, clinical syndromes, and management. // *Blood*, 1996; 87: 3531—3544.
66. Declerck P.J., De Mol M., Vaughan D.E. et al. Identification of a conformationally distinct form of plasminogen activator inhibitor-1, acting as a noninhibitory substrate for tissue-type plasminogen activator. // *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 11693—11696.
67. Declerck P.J., Lijnen H.R., Verstreken M. et al. Role of alpha 2-antiplasmin in fibrin-specific clot lysis with single-chain urokinase-type plasminogen activator in human plasma. / *Thromb. Haemost.*, 1991; 65: 394—398.
68. Dembinska-Kiec A., Zmuda A., Wenhrynowics O. et al. Selectin-P mediated adherence of platelets to neutrophils is regulated by prostanoids and nitric oxide. // *Int. J. Tissue React.*, 1993; 15: 55—64.
69. Didisheim P., Mibasham R.S. Activation of Hageman factor (factor XII) by long chain saturated fatty acids. // *Thromb. Haemorrh.*, 1963; 9: 346.
70. Dittman W.A., Majerus P.W. Structure and function of thrombomodulin: A natural anticoagulant. // *Blood*, 1990; 75: 329—336.
71. Dittman W.A. Thrombomodulin: Biology and potential cardiovascular applications. // *Trends Cardiovasc. Med.*, 1991; 1: 3313—3336.
72. Doggen C.J.M., Cats V.M., Bertina R.M., Reitsma P.H., Vanderbroucke J.P., Rosendaal F.R. A genetic propensity to high factor VII is not associated with the risk of myocardial infarction in men. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 338: 79—285.
73. Dray A., Perkins M. Bradykinin and inflammatory pain. // *Trends Neurosci.*, 1993; 16: 99—104.
74. Du X., Gu M., Weisel J.W. et al. Long range propagation of conformational changes in integrin allbb3. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 23087—23092.
75. Ellis V., Behrendt N., Dano K. Cellular receptor for urokinase-type plasminogen activator: Function in cell-surface proteolysis. // *Methods Enzymol.*, 1993; 223: 223—233.
76. Ernost E. Fibrinogen: Its emerging role as a cardiovascular risk factor. // *Angiology*, 1994; 45: 87—93.
77. Esmon C.T., Taylor F.B., Snow T.R. Inflammation and coagulation: Linked processes potentially regulated through a common pathway mediated by protein C. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 66: 160—165.
78. Esmon C.T. The regulation of natural anticoagulant pathways. // *Science*, 1987; 235: 1348—52.
79. Esmon C.T. Thrombomodulin as a model of molecular mechanisms that modulate protease specificity and function at the vessel surface. // *FASEB J.*, 1995; 9: 946—955.
80. Fan Z.Q., Larson P.J., Bognacki J. et al. Tissue factor regulates plasminogen binding and activation. // *Blood*, 1998; 91: 1987—1998.
81. Feener E.P., Northrup J.M., Aiello L.P. et al. Angiotensin II induces plasminogen activator inhibitor-1 and -2 expression in vascular endothelial and smooth muscle cells. // *J. Clin. Invest.*, 1995; 95: 1353—1362.
82. Felding-Habermann B., Cheresh D.A. Vitronectin and its receptors. // *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1993; 5:864—868.
83. Ferraresi P., Marchetti G., Legnani C. et al. The heterozygous 20210 G/A prothrombin genotype is associated with early venous thrombosis in inherited thrombophilias and is not increased in frequency in artery disease. // *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 2418—2422.

84. Finney S., Seale L., Sawyer R.T., Wallis R.B. Tridegrin, a novel peptidic inhibitor of factor XIIIa, from the blood-sucking leech. // *Haementeria ghilianii*. *Biochem. J.*, 1997; 234: 797.
85. Flynn D.M., Buda A.J., Jeffords P.R. et al. A sialyl Lewis^x-containing carbohydrate reduces infarct size: role of selectins in myocardial reperfusion injury. // *Am. Physiol.*, 1996; 271: 82086—82096.
86. Foster D.C., Rudinski M.S., Schach B.G. et al. Propeptide of human protein C is necessary for γ -carboxylation. // *Biochemistry*, 1987; 26: 7003—7011.
87. Fox J.E.B., Lipfert L., Clark E.A. et al. On the role of the platelet membrane skeleton in mediating signal transduction. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 25973—25984.
88. Fox J.E.B. Regulation of platelet function by the cytoskeleton. In: KS Authi et al., ed. *Mechanisms of platelet activation and control*. New York: Plenum Press, 1993; 175—185.
89. Foxall C., Watson S.R., Dowbenko D. et al. The three members of the selectin receptor family recognize a common carbohydrate epitope, the sialyl Lewis x oligosaccharide. // *J. Cell Biol.*, 1992; 117: 895—902.
90. Francis R.T., McDonagh J., Mann K.G. Factor V is a substrate for transamidase factor XIIIa. // *J. Biol. Chem.*, 1986; 157: 115.
91. Frenette P.S., Johnson R.C., Hynes R.O., Wagner D.D.. Platelets roll on stimulated endothelium in vivo: an interaction mediated by endothelial P-selectin. // *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1995; 92: 7450—7454.
92. Fukudome K., Esmon C.T. Identification, cloning, and regulation of a novel endothelial cell protein C/activated protein C receptor. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 26486—26491.
93. Gaboury J., Woodman R.C., Granger D.N. et al. Nitric oxide prevents leukocyte adherence: role of superoxide. // *Am. J. Physiol.*, 1993, 265: 8862—8867.
94. Gerard C., Gerard N.P. C5a anaphylatoxin and its seven transmembrane segment receptor. // *Annu Rev. Immunol.*, 1994; 12: 775—808.
95. Gitel S.N., Medina V.M., Wessler S. Inhibition of human activated factor X by anti-thrombin III and α 1-proteinase inhibitor. // *J. Biol. Chem.*, 1984; 259: 6890—6895.
96. Giuguid D.L., Rabiet M.J., Furie B.C. et al. Molecular basis of hemophilia B: A defective enzyme due to an unprocessed propeptide is caused by a point mutation in the factor IX precursor. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83: 5803—5807.
97. Graier W.F., Simeček S., Sturek M. Cytochrome P₄₅₀ mono-oxygenase-regulated signalling of Ca²⁺ entry in human and bovine endothelial cells. // *J. Biol. Physiol.*, 1995; 482: 259—274.
98. Greco N.J., Tandon N.N., Jones G.D. et al. Contributions of glycoprotein Ib and the seven transmembrane domain receptor to increases in platelet cytoplasmic Ca²⁺ induced by α -thrombin. // *Biochemistry*, 1996; 35: 906—914.
99. Grey S.T., Tsuchida A., Hau H. et al. Selective inhibitory effects of the anticoagulant, activated Protein C, on the response of human mononuclear phagocytes to lipopolysaccharide, interferon- γ or phorbol ester. // *J. Immunol.*, 1994; 153: 1664—1672.
100. Guasch J.F., Lensen R.P.M., Bertina R.M. Molecular characterization of a type I quantitative factor V deficiency in a thrombosis patient that is pseudo homozygous for activated protein C resistance. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 252—257.
101. Gumbiner B.M. Breaking through the tight junction barrier. // *J. Cell. Biol.*, 1993; 123: 1631—1633.
102. Habib A., Creminon C., Frobert Y. et al. Demonstration of the inducible cyclooxygenase in human endothelial cells using antibodies raised against the

- carboxylterminal region of the cyclooxygenase-2. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 23448—23454.
103. Hackeng T.M., Helsing M., van't Veer C. et al. Protein C binding to human endothelial cells is required for expression of cofactor activity for activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 3993—4000.
 104. Hackeng T.M., van't Veer C., Meijers J.C.M., Bouma B.N. Human protein S inhibits prothrombinase complex activity on endothelial cells and platelets via direct interactions with factors Va and Xa. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 21051—21058.
 105. Hajjar K.A., Jacovina A.T., Chacko J. An endothelial cell receptor for plasminogen/tissue plasminogen activator. I. Identity with annexin II. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 21191—21197.
 106. Hamer R.J., Koedam J.A., Beeser-Visser N.H. et al. Factor VIII binds to von Willebrand factor via its Mr-80,000 light chain. // *Eur. J. Biochem.*, 1987; 166: 37—43.
 107. Hamilton K.K., Hattori R., Esmon C.T., Sims P.J. Complement proteins C5b-9 induce vesiculation of the endothelial plasma membrane and expose catalytic surface for assembly of the prothrombinase enzyme complex. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 3809—3814.
 108. Handagama P., Scarborough R.M., Shuman M.A. Endocytosis of fibrinogen into megakaryocyte and platelet alpha-granules is mediated by alpha IIb beta 3 (glycoprotein IIb-IIIa). (published erratum appears in *Blood* 1993;82:2936.) // *Blood*, 1993; 82: 135—138.
 109. Harlan J.M. Leukocyte-endothelial interactions. // *Blood*, 1985; 65: 513—525.
 110. Hatmi M., Cavaret J-M., Elalamy I. et al. Evidence for cAMP-dependent platelet ectoprotein kinase activity that phosphorylates platelet glycoprotein IV (CD36). Platelet surface protein kinase. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 24776—24780.
 111. Healy A.M., Rayburn H.B., Rosenberg R.D., Weiler H. Absence of the blood-clotting regulator thrombomodulin causes embryonic lethality in mice before development of the functional cardiovascular system. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995; 92: 850—854.
 112. Hedner U. Recombinant activated factor VII as a universal haemostatic agent. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1998; 9: 8147—8152.
 113. Heeb M.J., Kojima Y., Greengard J.S., Griffin J.H. Activated protein C resistance: Molecular mechanisms based on studies using purified Gln506-factor V. // *Blood*, 1995; 85: 3405—3411.
 114. Heeb M.J., Mesters R.M., Tans G. et al. Binding of protein S to factor Va associated with inhibition of prothrombinase that is independent of activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 2872—2877.
 115. Heeb M.J., Rosing J., Bakker H.M. et al. Protein S binds to and inhibits factor Xa. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 2728—2732.
 116. Herwald H., Hasan A.A., Godovac-Zimmermann J. et al. Identification of an endothelial cell binding site on kininogen domain D3. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270:14634—14642.
 117. Hickey M.J., Hagen F.S., Yagi M., Roth G.J.. Human platelet glycoprotein V: characterization of the polypeptide and the related Ib-V-IX receptor system of adhesive, leucine-rich glycoproteins. // *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1993; 90: 8327—8331.
 118. Hillarp A., Zoller B., Svensson P.J., Dahlback B. The 20210 A allele of the prothrombin gene is a common risk factor among Swedish outpatients with verified deep venous thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 990—992.

119. Hill-Eubanks D.C., Lollar P. Von Willebrand factor is a cofactor for thrombin-catalyzed cleavage of the factor VIII light chain. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 17854—17858.
120. Hindriks G., Ijsseldijk M.J., Sonnenberg A. et al. Platelet adhesion to laminin: role of Ca²⁺ and Mg²⁺ ions, shear and platelet membrane glycoproteins. // *Blood*, 1992; 79: 928—935.
121. Hoffman G. S., Weyand C.M. *Inflammatory Diseases of Blood Vessels*. Marcel Dekker, Inc. New York — Basel, 2002, 815 p.
122. Ho G., Toomey J.R., Broze G.J. Jr., Schwatz A.L. Receptor-mediated endocytosis of coagulation factor Xa requires cell surface-bound tissue factor pathway inhibitor. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 9497—9502.
123. Hornyak T.J., Shafer J.A. Role of calcium ion in the generation of factor XIII activity. // *Biochemistry*, 1991; 30: 6175—6182.
124. Howard T.E., Marusa M., Channell C., Duncan A. A patient homozygous for a mutation in the prothrombin gene 3'-untranslated region associated with massive thrombosis. // *Blood Coagul. Fibrinol.*, 1997; 8: 316—319.
125. Huang M.-M. Indik Z., Brass L.F., et al. Activation of FcγRII induces tyrosine phosphorylation of multiple proteins including FcγRII. // *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 5467—5473.
126. Humbert M., Kunicki T.J., Bihour C., et al. Visualization of activation-dependent epitopes on glycoprotein IIb-IIIa complexes of platelets stimulated by thrombin: Immunogold staining of ultrathin sections. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1996; 22: 279—88.
127. Humphries S.E., Panahloo A., Montgomery H.E., Green F., Yudkin J. Gene-environment interaction in the determination of levels of haemostatic variables involved in thrombosis and fibrinolysis. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 457—561.
128. Hunt B.J., Poston L., Schachter M., Halliday A. *An introduction to Vascular Biology*. Cambridge University press, 2002, 458 p.
129. Iacoviello L., Di Castelnuovo A., De Knijff P., et al. Polymorphism in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338: 79—85.
130. Ichinose A., Izumi T., Hashiguchi T. The normal and abnormal genes of the a and b subunits in coagulation factor XIII. // *Semin. Thromb. Hemost.* 1996; 22: 385.
131. Iino M., Foster D.C., Kiesel W. Functional consequences of mutation of Ser-52 and Ser-60 in human blood coagulation factor VII. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1998; 352: 182.
132. Iino M., Takeya H., Nishioka J., et al. The role of human factor X activation peptide in activation of factor X by factor IXa. // *J. Biochem.* 1994; 116: 335—340.
133. Imada S., Yamaguchi H., Nagumo M., et al. Identification of fetomodulin, a surface marker protein of fetal development, as thrombomodulin by gene cloning and functional assays. // *Dev. Biol.*, 1990; 140: 113—122.
134. Jaffe E.A. *Biochemistry, immunology, and cell biology of endothelium*. In: Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Salzman E.W. (eds). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott, 1994; 718—744.
135. Kalafatis M., Bertina R.M., Rand M.D., Mann K.G. Characterization of the molecular defect in factor VR506Q. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 4053—4057.
136. Kalafatis M., Rand M.D., Mann K.G. The mechanism of inactivation of human factor V and human factor Va by activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 31869—31880.

137. Keiler J., Ehrlich H.J., Linders M. et al. Vitronectin governs the interaction between plasminogen activator inhibitor 1 and tissue-type plasminogen activator. // *J. Biol. Chem.*, 1001; 266: 10700—10707.
138. Kembail-Cook G., Tuddenham E.G. The factor VIII mutation database on the world wide web: the haemophilia A mutation, search, test and resource site. HAMSTeRS update (version 3,0). // *Nucleic Acids Res.*, 1997; 25: 128—132.
139. Kembail-Cook G., Tuddenham E.G.D., Wacey A.I. The factor VIII structure and mutation resource site. HAMSTERS Version 4. // *Nucleic Acids Res.* 1998; 26: 216.
140. Keyt B.A., Paoni N.F., Refino C.J. et al. A faster-acting and more potent form of tissue plasminogen activator. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 3670—3674.
141. Kirchhofer D., Tschopp T.B., Steiner B., Baumgartner H.R. Role of collagen-adherent platelets in mediating fibrin formation in flowing whole blood. // *Blood*, 1995; 86: 3815—3822.
142. Knezevic I., Leisner T.M., Lam S.C.-T. Direct binding of the platelet integrin α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) to talin. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 16416—16421.
143. Koppelman S., Hackeng T.M., Sixma J.J., Bouma B.N. Inhibition of the intrinsic factor X activating complex by protein S: Evidence for a specific binding of protein S to factor VIII. // *Blood*, 1995; 86: 1062—1071.
144. Kotkow K.J., Deitcher S.R., Furie B., Furie B.C. The second kringle domain of prothrombin promotes factor Va-mediated prothrombin activation by prothrombinase. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 4551—4557.
145. Krishnaswamy S., Field K.A., Edgington T.S. et al. Role of the membrane surface in the activation of human coagulation factor X. // *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 26110—26120.
146. Kurachi S., Furukawa M., Sailer J.P., et al. Regulatory mechanism of human factor IX gene: Protein binding at the Leyden-specific region. // *Biochemistry*, 1994; 33: 1580—1591.
147. Lasky L.A. Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. // *Science*, 1992; 258: 964—969.
148. Lawson J.H., Butenas S., Ribarik N., Mann K.G. Complex-dependent inhibition of factor VIIa by antithrombin III and heparin. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 767—770.
149. Lee M.H., Vosburgh E., Anderson K. et al. Deficiency of plasma plasminogen activator inhibitor 1 results in hyperfibrinolytic bleeding. // *Blood*, 1993; 81: 2357—2362.
150. Lefer D.J., Flynn D.M., Phillips M.L. et al. A novel sialyl Lewis^x analog attenuates neutrophil accumulation and myocardial necrosis after ischemia and reperfusion. // *Circulation*, 1994; 90: 2390—2401.
151. Legres L.G., Pochon F., Barray M., et al. Evidence for the binding of a biologically active interleukin-2 to human α 2-macroglobulin. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 8381—8384.
152. Levi M., ten Cate H., Bauer K.A., et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of coagulation and fibrinolysis by pentoxifylline or by a monoclonal anti-tissue factor antibody in chimpanzees. // *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 114—120.
153. Levin E.G., Marzes U., Anderson J., Harker L.A. Thrombin stimulates tissue plasminogen activator release from cultured human endothelial cells. // *J. Clin. Invest.*, 1984; 74: 1988—95.
154. Lewis S.D., Janus T.J., Lorand L., Shafer J.A. Regulation of formation of factor XIIIa by its fibrin substrates. // *Biochemistry*, 1985; 24: 6772—6777.
155. Lidbury P.S., Thiemermann C., Korbut R. et al. Endothelin release tissue plasminogen activator and prostanoids. // *Eur. J. Phtmacol.*, 1990; 186: 205—212.

156. Loskutoff D.J. Carboxypeptidases: New regulators of plasminogen activation in vivo? (Editorial). // *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 2104—2105.
157. Louache F., Debili N., Cramer E., et al. Fibrinogen is not synthesized by human megakaryocytes. // *Blood*, 1991; 77: 311—316.
158. Lusher T.F., Boulanger C.M., Dohi E. et al. Endothelium-derived contracting factors. // *Hypertension*, 1992; 19: 117—130.
159. Macfarlane K.G. Clinical review: the mechanism of haemostasis. // *Q. J. Med.*, 1941; 10 (37): 1—29.
160. Macfarlane K.G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier. // *Nature (London)* 1964; 202 (2): 498—499.
161. Mackman N. Regulation of the tissue factor gene. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 747.
162. Marciniak E. Factor Xa inactivation by antithrombin III: Evidence for biological stabilization of factor Xa by factor V-phospholipid complex. // *Br. J. Haematol.*, 1973; 24: 391—400.
163. Marcus A.J. Thrombosis and inflammation as multicellular processes: Pathophysiological significance of transcellular metabolism. // *Blood*, 1990; 76: 1903—1907.
164. Matsuda T., Nagasawa S., Kishimoto T. Identification of $\alpha 2$ -macroglobulin as a carrier protein for IL-6. // *J. Immunol.*, 1989; 142: 7210—7216.
165. Mayhew M., Handford P., Baron M., et al. Ligand requirements for Ca²⁺ binding to EGF-like domains. // *Protein Engineering*, 1995; 5: 489—494.
166. McCallum C.D., Su B.X., Neuenschwander P.F., Morrissey J.H. Johnson A.E. Tissue factor positions and maintains the factor VIIa active site far above the membrane surface even in the absence of the factor VIIa Gla domain. A fluorescence resonance energy transfer study. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 30160—30166.
167. McGee M.P., Li L.C., Xiong H. Diffusion control in blood coagulation. Activation of factor X by factors IXa/VIIIa assembled on human monocyte membranes. // *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 24333—24339.
168. McGehee W.G., Klotz T.A., Epstein D.J., Rapaport S.T. Coumadin necrosis associated with hereditary protein C deficiency. // *Ann. Intern. Med.*, 1984; 100: 59—60.
169. McMillen M.A., Sumpio B.E. Endothelins: polyfunctional cytokines. // *J. Am. Coll. Surg.*, 1995; 180: 621—637.
170. Miao Ch., Uo W.T., Greenberg D.L., Davie E.W. Transcriptional regulation of the gene coding for human protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1996; 271: 9587.
171. Mignatti P., Rifkin D.V. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis (Review). // *Enzyme Protein*, 1996; 49: 117—137.
172. Miller G.J. Postprandial lipaemia and haemostatic factors. // *Atherosclerosis*, 1998; 141: 847—851.
173. Misra U.K., Chu C.T., Pizzo S.V. Evidence for a second $\alpha 2$ -macroglobulin receptor. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 12541—12547.
174. Moll T., Czyz M., Holzmüller H., et al. Regulation of the tissue factor promoter in endothelial cells. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 3849—3857.
175. Moncada S., Palmer R.M.J., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. // *Pharmacol. Rev.* 1991; 43: 109—142.
176. Montalescot G., Ankri A., Vicaut E., et al. Fibrinogen after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis. // *Circulation*, 1995; 92: 31—8.

177. Morawitz P. Beitrage zur Kenntis der Blutgerinnung. // Mitteilug Deutsche Arch. Klin. Med., 79: 215—233, Feb. 18, 1904.
178. Morgan B.P. Effects of the membthane attack complex of complement on nucleated cells. // Curr. Top. Microbiol. Immonol., 1992; 178: 115—140.
179. Morgan G.E., Rowley G., Green P.M., Chisholm M., Giannelli F., Brownlee G.G. Further evidence for the importance of an androgen response element in the factor IX promoter. // Br. J. Haemotol., 1997; 98: 79—85.
180. Moroi M., Jung S.M. Platelet receptors for collagen. // Thromb. Haemost., 1997; 78: 439—444.
181. Morris D.P., Soute B.A.M., Vermeer C., Stafford D.W. Characterization of the purified vitamin K-dependent gamma-glutamyl carboxylase. // J. Biol. Chem., 1993; 268: 8735—8742.
182. Mottonen J., Strand A., Symersky J. et al. Structural basis of latency in plasminogen activator inhibitor-I. // Nature 1992; 355: 270—273.
183. Muller Y.A., Uitsch M.H., De Vos A.M. The crystal structure of the extracellular domain of human tissue factor refined to 1,7 A resolution. // J. Mol. Biol. 1996; 256: 144—159.
184. Muller-Esterl W., Iwanaga S., Nakanishi S.. Kininogens revisited. // Trends. Biochem. Sci., 1986; 11: 336—339.
185. Mulligan M.S., Pualson J.C., DeFrees et al. Protective effects of oligosaccharides in P-selectin-dependent lung injury. // Nature, 1993; 364: 149—151.
186. Naik U.P., Ehrlich Y.H., Kornecki E. Mechanism of platelet activation by a stimulatory antibody: crosslining of a novel platelet receptor for mAb F11: with FcgRII and sequence similarity ti T-cell receptor. // Biochem. J., 1995; 310: 155—162.
187. Naik U.P., Kornecki E., Ehrlich Y.H. Phosphorylation and dephosphorylation of human platelet surface proteins by an ectoprotein kinase/phosphotase system. // Biochim. Biophys. Acta., 1991; 1092: 256—264.
188. Naito K., Fujikawa K. Activation of human blood coagulation factor XI independent of factor XII. // J. Biol. Chem., 1991; 266: 7353—7358.
189. Nelson R.M., Long G.L. Binding of protein S to C4b-binding protein. Mutagenesis of protein S. // J. Biol. Chem., 1980; 255: 5521—5524.
190. Nesheim M.E., Canfield W.M., Kisiel W., Mann K.G. Studies of the capacity of factor Xa to protect factor Va from inactivation by activated protein C. // J. Biol. Chem., 1082; 257: 1443—1447.
191. Nesheim M.E., Kettner C., Shaw E., Mann K.G. Cafactor dependence of factor Xa incorporation into the prothrombin complex. // J. Biol. Chem., 1981; 256: 6537—6540.
192. Nesheim M.E., Taswell J.B., Mann K.G. The contributopn of bovine factor V and factor Va to the activity of prothrombinase. // J. Biol. Chem., 1979; 254: 10952—10962.
193. Nichols W.C., Seligsohn U., Zivelin A. et al. Linkage of combined factors V and VII deficiency to chromosome 18q by homozygosity mapping. // J. Clin. Invest., 1997; 399: 596—601.
194. Nicoloso G., Hauert J., Kruithof E.K. et al. Fibrinolysis in normal subjects — Comparison between plasminogen activator inhibitor and other components of fibrinolytic system. // Thromb. Haemost., 1988; 59: 299—303.
195. Norton P.A., Slayter H.S. Immune labeling of the D and E regions of human fibrinogen by electron microscopy. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1981; 78: 1661—1665.

196. Okajima K., Koga S., Kaji M., et al. Effect of protein C and activated protein C on coagulation and fibrinolysis in normal human subjects. // *Thromb. Haemost.*, 1990; 63: 48—53.
197. Oldenburg J., Quenzel E.M., Harbrecht U. et al. Missense mutations at ALA-10 in the factor IX propeptide: an insignificant variant in normal life but a decisive cause of bleeding during oral anticoagulant therapy. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 98: 240—244.
198. Oscar D. Ratnoff, Charles D. Forbes. Disorders of Hemostasis. 1996.
199. Palmer R.M., Bridge L., Foxwell N.A. et al. The role of nitric oxide in endothelial cell damage and its inhibition by glucocorticoids. // *Br. J. Pharmacol.*, 1992; 105: 11—12.
200. Parameswaran K.N., Cheng X.F., Chen E.C., Velasco P.T., Wilson J.H., Lorand L. Hydrolysis of gamma:epsilon isopeptides by cytosolic transglutaminases and by coagulation factor XIIIa. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 10311.
201. Parry G.C., Erloich J.H., Carmeliet P., Luther T., Mackam N. Low levels of tissue factor are compatible with development and hemostasis in mice. // *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 560—569.
202. Peake I. Molecular genetics and counselling in haemophilia. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 374: 40—44.
203. Pedersen L.C., Yee V.C., Bishop P.D., et al. Transglutaminase factor XIII uses proteinase-like catalytic triad to crosslink macromolecules. // *Protein Sci.*, 1994; 3: 1131—1135.
204. Peretz H., Mulai A., Usher S et al. The two common mutations causing factor XI deficiency in Jews stem from distinct founders: one of ancient Middle Eastern origin and another of more recent European origin. // *Blood*, 1997; 90: 2654—2659.
205. Perlmutter D.H., Joslin G., Nelson P., et al. Endocytosis and degradation of alpha 1-antitrypsin-proteinase complexes is mediated by the serpin-enzyme complex (SEC) receptor. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 16713—16716.
206. Person E., Hogg P.J., Stenflo J. Effects of Ca²⁺ binding on the protease module of factor Xa and its interaction with factor Va. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 22531—22539.
207. Peters J., Luddington R., Brown K., Baglin C., Baglin T. Should patients starting anticoagulant therapy be screened for missense mutations at ALA-10 in the factor IX propeptide? (letter) // *Br. J. Haematol.*, 1997; 99: 467—468.
208. Pfister S.L., Spitzbarth N., Edgmond W. et al. Vasorelaxation by an endothelium-derived metabolite of arachidonic acid. // *Am. J. Physiol.*, 1996; 270: 81021—81030.
209. Philippou H., Davidson S.J., Mole M.T., Pepper J.R., Burman J.F., Lane D.A. Two-chain factor VIIa generated in the pericardium during surgery with cardiopulmonary bypass. Relationship to increased thrombin generation and heparin concentration. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 248—254.
210. Phillips M.L., Nudelman E., Gaeta F.C.A. et al. ELAM-1 mediates cell adhesion by recognition of a carbohydrate ligand, Sialyl-Le^x. // *Science*, 1990; 250: 1130—1132.
211. Podack E.R., Muller-Ederhard H.J., Horst H. et al. Membrane attack complex of complement (MAC): three-dimensional analysis of MAC-phospholipid vesicle recombinants. // *J. Immunol.*, 1982; 128: 2353—2357.
212. Polley M.J., Phillips M.L., Wayner E. et al. CD62 and endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1 (ELAM-1) recognize the same carbohydrate ligand, sialyl-Lewis x. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88: 6224—6228.

213. Poort S.R., Landofi R., Bertina R.M. Compound heterozygosity for two novel missense mutations in the prothrombin gene in a patient with a severe bleeding tendency. // *Thromb. Haemost.*, 1994; 72: 819—824.
214. Prescott S.M., Zimmerman G.A., McIntyre T.M. Platelet-activating factor. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 17381—17384.
215. Rao L.V., Nordfang O., Hoang A.D., Pendurthi U.R. Mechanism of antithrombin III inhibition of factor VIIa/tissue factor activity of cell surfaces. Comparison with tissue factor pathway inhibitor/factor Xa induced inhibition of factor VIIa/tissue factor activity. // *Blood*, 1995; 85: 121—129.
216. Rao Z., Handford P., Mayhew M., et al. The structure of a Ca²⁺-binding epidermal growth factor-like domain: its role in protein-protein interactions. // *Cell*, 1995; 82: 131—141.
217. Rapaport S.I., Rao L.V.M. Initiation and regulation of tissue factor-dependent blood coagulation. // *Arterioscler. Thromb.*, 1992; 12: 1111—1121.
218. Redlitz A., Nicolini F.A., Malycky J.L. et al. Inducible carboxypeptidase activity. A role in clot lysis in vivo. // *Circulation*, 1996; 93: 1328—1330.
219. Rezaie A.R., Neuenschwander P.F., Morrissey J.H., Esmon C.T. Analysis of the function of the first epidermal growth factor-like domain of factor X. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 8176—8180.
220. Rinder H.M., Tracey J.L., Rinder C.S., et al. Neutrophil but not monocyte activation inhibits P-selectin-mediated platelet adhesion. // *Thromb. Haemost.*, 1994; 72: 750—756.
221. Risau E.C. Differentiation of endothelium. // *FASEB J.*, 1995; 9: 926—933.
222. Robbins K.C. Dysplasminogenemias (review). // *Prog. Cardiovasc. Dis.*, 1992; 34: 295—308.
223. Rodgers G.M., Shuman M.A. Prothrombin is activated on vascular endothelial cells by factor Xa and calcium. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1983; 80: 7001—7005.
224. Rosales C., O'Brien V., Kornberg L., Juliano R. Signal transduction by cell adhesion receptors. // *Biochem. Biophys. Acta.*, 1995; 1242: 77—98.
225. Rosenberg J.B., Newman P.J., Mosesson M.W., et al. Paris I dysfibrinogenemia: A point mutation in intron 8 results in insertion of a 15 amino acid sequence in the fibrinogen gamma chain. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 69: 217—220.
226. Rosendal F.R., Doggen C.J., Zivelin A. et al. Geographic distribution of the G20210A prothrombin variant. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 706—708.
227. Rosendal F.R., Doggen C.J., Zivelin A. et al. Geographic distribution of the 20210 G to A prothrombin variant. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 706.
228. Rosing J., Zwaal R.F.A., Tans G. Formation of meizothrombin as intermediate in factor Xa-catalyzed prothrombin activation. // *J. Biol. Chem.*, 1987; 262: 3291—3299.
229. Ruggeri Z.M. Mechanism initiating platelet thrombus formation. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 611—616.
230. Saenko E., Scandella D. A mechanism for inhibition of factor VIII binding to phospholipid by von Willebrand factor. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 13826—13833.
231. Sakharov D.V., Plow E.F., Rijken D.C. On the mechanism of the antifibrinolytic activity of plasma carboxypeptidase B. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 14477—14482.
232. Salom R.N., Maguire J.A., Hancock W.W. Endothelial activation and cytokine expression in human acute cardiac allograft rejection. // *Pathology*, 1998; 30: 24—29.
233. Sartori M.T., Patrassi G.M., Theodoridis P. et al. Heterozygous type I plasminogen deficiency is associated with an increased risk for thrombosis: A statistical analysis in 20 kindreds. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1994; 5: 889—893.

234. Savage B., Saldivar E., Ruggeri Z.M. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. // *Cell*, 1996; 84: 289—297.
235. Schini V.B., Durante W., Catovasky S. et al. Thrombin inhibits the induction of nitric oxide synthase in cultured vascular smooth muscle cells. // *Am. J. Physiol.*, 1993; 264: 8611—8616.
236. Schloesser M., Zeerleder S., Lutze G. et al. Mutations in the human factor XII gene. // *Blood*, 1997; 90: 3967—3977.
237. Schmidt A. Neue Untersuchungen uber die Faserstoffgerinnung Pfluegecs. // *Arch. Ges. Physiol.*, 1872, 6: 413—538.
238. Schwartz S.M., Majesky M.W. Structure and function of the vessel wall. In: Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Salzman E.W. (eds). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott, 1994; 705—717.
239. Seghatchian M.J., Samama M.M., Hecker S.P. *Hypercoagulable States*. 1996.
240. Sheng N., Fairbanks M., Heinrichson R., et al. The integrin CD11b/CD18 (Mac-i) is a major cell receptor for high molecular weight kininogen (HK). // *FASEB J.*, 1997; ii: A920.
241. Shimada T., Kato H., Maeda H., Iwanaga S. Interaction of factor XII, high-molecular-weight (HMW) kininogen and prekallikrein with sulfatide: Analysis by fluorescence polarization. // *J. Biochem.*, 1985; 97: 1637—1644.
242. Siebenlist K.R., Meh D.A., Mosesson M.W. Plasma factor XIII binds specifically to fibrinogen molecules containing gamma chains. // *Biochemistry*, 1996; 35: 10448—10453.
243. Siebenlist K.R., Meh D.A., Wall J.S., et al. Orientation of the carboxy-terminal regions of fibrin gamma-chain dimers determined from the crosslinked products formed in mixtures of fibrin, fragment D, and factor XIIIa. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1113—1119.
244. Siess W. Molecular Mechanisms of platelet activation. // *Physiol. Rev.*, 1989; 69: 58—177.
245. Smith J.A., Henderson A.H., Randall M.D.. Endothelium-derived relaxing factor, prostanoids and endothelins. In: Bloom A.L., Forbes C.D., Thomas D.P., Tuddenham E.G.D. (eds). *Haemostasis and Thrombosis*. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1994; 183—197.
246. Smith R.D., Chiu A.T., Wong P.C. et al. Pharmacology of nonpeptide angiotensin II receptor antagonists. // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 1992; 32: 135—165.
247. Smyth S.S., Joneckis C.C., Parise L.V. Regulation of vascular integrins. // *Blood*, 1993; 81: 2827—2843.
248. Solymoss S., Tucker M.M., Tracy P.B. Kinetics of inactivation of membrane-bound factor Va by activated protein C: Protein S modulates factor Xa protection. // *J. Biol. Chem.*, 1988; 263: 14884—14890.
249. Sottrup-Jensen L., Glemann J., Van Leuven F. Domain structure of human α 2-macroglobulin. Characterization of a receptor-binding domain obtained by digestion with papain. // *FEBS Lett.*, 1986; 205: 20—24.
250. Sottrup-Jensen L., Hansen H.F., Pedersen H.S., Kristersen L. Localization of epsilon-lysyl-gamma-glutamyl cross-links in five human alpha 2-macroglobulin-proteinase complexes. Nature of the high molecular weight cross-linked products. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 17727—17737.
251. Spiess B.D. *The Relationship Between Coagulation Inflammation and Endothelium — A Pyramid Toward Outcome*. Lapincott Williams a Wilkins, 2000, 234 p.
252. Stefansson S., Lawrence D.A. The serpin PAI-1 inhibits cell migration by blocking integrin alpha V beta3 binding to vitronectin. // *Nature*, 1996; 383: 441—443.

253. Steinberg S.D., Stern D., Nawroth P., Bielzikian J. Factor Xa elevates cytosolic calcium in cultured endothelial cells. // *Thromb. Haemost.*, 1985; 54: 994.
254. Stenflo J., Ohlin A.K., Persson E. et al. Epidermal growth factor-like domains in the vitamin K-dependent clotting factors. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1991; 614: 11—29.
255. Suehrio K., Gailit J., Plow E.F. Fibrinogen is a ligand for integrin α v β 1 on endothelial cells. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 5360—5366.
256. Suttie J.W. Synthesis of vitamin K-dependent proteins. // *FASEB J.* 1993; 7: 445—452.
257. Suzuki K., Dahlback B., Stenflo J. Thrombin-catalyzed activation of human coagulation factor V. // *J. Biol. Chem.*, 1982; 257: 6556—64.
258. Tagliavacca L., Moon N., Dunham W.R., Kaufman R.J. Identification and functional requirement of Cu (I) and its ligands within coagulation factor VIII. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 27428.
259. Takahashi N., Tsukamoto H., Umeyama H., Castaman G., Rodeghiero F., Ichinose A. Molecular mechanisms of type II factor XIII deficiency: novel Gly562-Arg mutation and C-terminal truncation of the α -subunit cause factor XIII deficiency as characterized in a mammalian expression system. // *Blood*, 1998; 91: 2830.
260. Tandon N.N., Kralisz U., Jamieson R.L. Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor for platelet-collagen adhesion. // *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 7576—7583.
261. Tanimura L.K., Weddell J.A., McKown C.G., et al. Oral management of a individual with a plasminogen activator inhibitor (PAI-1) deficiency: Case report. // *Pediatr. Dent.*, 1994; 16: 133—135.
262. Taylor F.B. Jr., Chang A., Ruf W., et al. Lethal E.Coli septic shock is prevented by blocking tissue factor with monoclonal antibody. // *Circulatory Shock*, 1991; 93: 127—134.
263. Tedder T.F., Steeber D.A., Chen A. et al. The selectins: vascular adhesion molecules. // *FASEB J.*, 1995; 9: 866—873.
264. Thiagarajan P., Rippon A.J., Farrei D.H. Alternative adhesion sites in human fibrinogen for vascular endothelial cells. // *Biochemistry*, 1996; 35: 4169—4175.
265. Ting A.T., Dick C.J., Schoon R.A., et al. Interaction between lck and syk family tyrosine kinases in Fcg receptor-initiated activation of natural killer cells. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 16415—16421.
266. Toomey J.R., Smith K.J., Stafford D.W. Localization of the human tissue factor recognition determinant of human factor VIII. // *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 19198—19202.
267. Ueki S., Takagi J., Saito Y. Dual function of transglutaminase in novel cell adhesion. // *J. Cell. Sci.*, 1996; 190: 2727.
268. Ugarova T.P., Budzynski A.Z., Shattil S.J., et al. Conformational changes in fibrinogen elicited by its interaction with platelet membrane glycoprotein GPIIb-IIIa. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 21080—21087.
269. Van't Hooft F.M., Silveria A., Tornvall P., et al. Two common functional polymorphisms in the promoter region of the coagulation factor VII gene deterring plasma factor VII activity and mass concentration. // *Blood*, 1999; 93: 3432—3441.
270. Van't Veer C., Golden N.J., Kalafatis M., Mann K.G. Inhibitory mechanism of the protein C pathway on tissue factor-induced thrombin generation: synergistic effect in combination with tissue factor pathway inhibitor. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 7983—7994.

271. Van't Veer C., Mann K.G. Regulation of tissue factor initiated thrombin generation by the stoichiometric inhibitors tissue factor pathway inhibitor, antithrombin III, and heparin cofactor II. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 4367—4377.
272. Vanhoutte P.M., Boulanger C.M., Mombouli J.V. Endothelium-derived relaxing factors and converting enzyme inhibition. // *Am. J. Cardiol.*, 1995; 76: 3E-12E.
273. Vassalli J.D., Sappino A.P., Belin D. The plasminogen activator/plasmin system. // *J. Clin. Invest.*, 1991; 88: 1067—1072.
274. Vaughan D.E., Lazos S.A., Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor I in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. // *J. Clin. Invest.*, 1995; 95: 995—1001.
275. Vaughan D.E., Rouleau J.L., Pfeffer M.A. Role of the fibrinolytic system in preventing myocardial infarction. // *Eur. Heart. J.*, 1995; 16: 31—36.
276. Wallin R., Stanton C., Hutson S.M. Intracellular maturation of the gamma-carboxyglutamic acid (Gla) region in prothrombin coincides with release of the propeptide. // *Biochem. J.*, 1993; 291: 723—727.
277. Walsh P.N. Factor XI deficiency and hemostasis. // *Am. J. Hematol.*, 1994; 45: 73—8.
278. Warren D.L., Morrissey J.H., Neuenschwander P.F. Proteolysis of blood coagulation factor VIII by the factor VIIa-tissue factor complex: generation of an inactivate factor VIII cofactor. // *Biochemistry*, 1999; 38: 6529—6536.
279. Warshawsky I., Broze G.J.Jr., Schwatz A.L. The low density lipoprotein receptor-related protein mediates the cellular degradation of tissue factor pathway inhibitor. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 6664—6668.
280. Weisel J.W., Francis C.W., Nagaswami C., Marder V.J. Determination of the topology of factor XIIIa-induced fibrin gamma-chain cross-links by electron microscopy of ligated fragments. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 26618—26624.
281. Weiss E., Yamaguchi Y., Falabella A., Crane S., Tocuda Y., Falanga V. Un-cross-linked fibrin substrates inhibit keratinocyte spreading and replication: correction with fibronectin and factor XIII cross-linking. // *J. Cell. Physiol.*, 1998; 174: 58.
282. Weitz J.I., Hudoba M., Massel D., et al. Clot-bound thrombin is protected from inhibition by heparin-antithrombin III but is susceptible to inactivation by antithrombin III-independent inhibitors. // *J. Clin. Invest.*, 1990; 86: 385—391.
283. Wiggins R.C., Bouma B.N., Cochrane C.G., Griffin JH. Role of high-molecular-weight kininogen in surface-binding and activation of coagulation factor XI and prekallilrein. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977; 74: 4636—46340.
284. Wilcox J.N., Subramanian R.R., Runge M., Ellis S.E., Huber A.R. Synthesis of thrombin receptors by activated neutrophils in vitro and in vivo after denuding vascular injuries. (Abstract). // *Circulation*, 1993; 88(suppl I): 1—619.
285. Wildgoose P., Foster K., Schiodt J., et al. Identification of a calcium binding site in the protease domain of blood coagulation factor VII: Evidence for its role in factor VII-tissue factor interaction. // *Biochemistry*, 1993; 32: 114—119.
286. Williams M.J., Du X., Loftus J.C., Ginsberg M.H. Platelet adhesion receptors. // *Semin. Cell. Biol.*, 1995; 6: 305—314.
287. Wistnghausen B., Reischer A., Oddoux C., Oster H., Nardi M., Karparkin M. Severe factor XI deficiency in an Arab family associated with a novel mutation in exon II. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 99: 575—577.
288. Wuillemin W.A., Minnema M., Meijers J.C., et al. Inactivation of factor XIa in human plasma assessed by measuring factor XIa-protease inhibitor complexes: Major role for C2-Inhibitor. // *Blood*, 1995; 85: 1517—1526.

289. Yanagisawa M. The endothelin system. A new target of therapeutic intervention. // *Circulation*, 1994; 89: 1320—1322.
290. Zehnder J.L., Jain M. Recurrent thrombosis due to compound heterozygosity for factor V Leiden and Factor V deficiency. // *Blood Coagul. Fibrinolys.*, 1996; 7: 361—362.
291. Zhang E., St. Charles R., Tulinsky A. Structure of extracellular tissue factor complexed with factor VIIa inhibited with a BPTI mutant. // *J. Mol. Blood.*, 1999; 285: 2089—2104.
292. Zhang J.Z., Redman C. Fibrinogen assembly and secretion. Role of intrachain disulfide loops. // *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 30083.

akusher-lib.ru

Глава II.

Генетические формы тромбофилии и беременность

Термин тромбофилия впервые был введен Egeberg в 1965 году для описания тенденции к венозным тромбозам в одной из норвежских семей с дефицитом АТ III. Позже этот термин широко внедрился и стал объединять множество расстройств, сопровождающихся повышенной склонностью к тромбозам, включая как наследственные, так и приобретенные.

Со времени открытия Egeberg дефицита антитромбина III взгляды на патогенез тромбозов и тромбоэмболических осложнений претерпели значительные изменения. Это связано с открытием новых форм генетически обусловленных и приобретенных дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозам. Вне всякого сомнения, эти последние открытия можно назвать поистине революционными, поскольку выяснилась роль тромбофилии не только в структуре тромбозов и тромбоэмболических осложнений, но и в патогенезе ряда заболеваний и патологических состояний, среди которых и акушерские осложнения: привычные выкидыши, гестоз, HELLP-синдром и пр.

В настоящее время уже не вызывает сомнений, что АФС и циркуляция АФА играют ведущую роль в структуре тромбозов, обусловленных патологией гемостаза. Будучи самым распространенным тромбофилическим дефектом гемостаза, АФС может значительно усугублять уже имеющуюся тромбофилию. Наиболее опасным сочетанием является ассоциация АФС с одним или несколькими генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозам. Идея о наследственно обусловленной тенденции к тромбоэмболическим осложнениям не нова: акушеры давно наблюдают тот факт, что беременность, роды и послеродовый период у женщин, матери или сестры которых имели тромбозы в анамнезе, часто также осложнялись тромбозами и тромбоэмболиями. Более того, часто первая манифестация в виде тромбоэмболических осложнений может быть как раз во время беременности. Это связано с тем, что физиологически беременность сопровождается состоянием гиперкоагуляции в связи с увеличением почти на 200% факторов свертывания крови на фоне снижения фибринолитической и естественной антикоагулянтной активности. Помимо этого, в III триместре скорость кровотока в венах нижних конечностей уменьшается наполовину, что обусловлено частично механической обструкцией беременной маткой венозного оттока, частично — снижением тонуса венозной стенки вследствие гормональной перестройки организма во время беременности. Таким образом, тенденция к стазу крови в сочетании с гиперкоагуляцией во время беременности создают дополнительные условия, благоприятствующие развитию тромбоза на фоне предсуществующей генетической, приобретенной или комбинированной (генетической + приобретенной) тромбофилии.

Хотя некоторые генетически обусловленные дефекты гемостаза были открыты уже 20—30 лет назад, учение о них получило большое развитие с начала 90-ых годов нашего столетия. Ниже будут описаны наиболее известные на сегодняшний день генетически обусловленные дефекты гемостаза, предрасполагающие к тромбозам.

APC-резистентность и мутация фактора V Leiden

APC-R и мутация фактора V Leiden в настоящее время считаются наиболее частой генетически обусловленной причиной тромбофилии. Впервые резистентность к активированному протеину С (APC-R) как причина наследственной тромбофилии была описана в 3 разных семьях Dahlbaeck et al. в 1993 году. В условиях APC-R добавление APC к плазме не вызывало ожидаемого удлинения времени свертывания. В первой семье с обнаруженной APC-R у 14 из 19 членов семьи (4 из них имели эпизоды венозных тромбозов в анамнезе) отмечался «недостаточный» антикоагулянтный ответ на введение в плазму APC. В других семьях также были получены аналогичные результаты. В результате дальнейших наблюдений была выдвинута гипотеза, что дефект наследуется аутосомно-доминантно с неполной пенетрантностью.

Dahlbaeck et al. связали феномен APC-R с дефектом одного из кофакторов APC. В процессе выявления этого кофактора были исключены такие возможные причины как наличие аутоантител к протеину С, протеазного ингибитора протеина С быстрого действия, дефицит протеина S и мутация гена, кодирующего фактор VIII и фактор фон Виллебранда (vWF). Добавление нормальной плазмы к плазме пациентов с APC-R корригировало недостаточный антикоагулянтный ответ. Dahlbaeck и Hildebrand обнаружили, что искомым кофактором APC, ответственным за феномен APC-R является фактор V. Поскольку уровень фактора V у пациентов с APC-R был нормальным, была выдвинута гипотеза о специфическом дефекте антикоагулянтной функции фактора V.

Bertina et al. (1994) провели серию экспериментов с целью идентификации дефекта, ответственного за APC-R. Он обнаружил, что причиной специфического дефекта фактора V является дефект гена, кодирующего фактор V. Одновременно связь между внутригенным полиморфизмом гена, кодирующего фактор V, и APC-R была обнаружена Dahlbaeck и Zoller (1994).

Bertina et al. (1994) независимо от Dahlbaeck et al. обнаружил дефект гена, кодирующего фактор V: была описана CGA→CAA точечная мутация — замена G→A в позиции 1691 гена FV, замена аргинина на глутамин в позиции 506 фактора V. Ген FV находится в 1 хромосоме (1q21-25) в непосредственной близости от гена, кодирующего антитромбин. Обнаруженная точечная мутация была названа мутацией фактора V Leiden (FV:Q506; FVR506Q:R; R и Q — однобуквенные коды для Arg и Gln соответственно). Теперь известно, что мутация имеет двойной эффект. Она является не только причиной нарушения деградации фактора Va с помощью APC, но и деградации фактора VIIIa.

Следствием этой мутации являются нарушения в функционировании системы протеина С, представляющей важнейший естественный антикоагулянтный путь. В условиях нормы APC ингибирует коагуляцию путем расщепления ограниченного числа пептидных связей как в интактном, так и в активированном факторе V (FV/FVa), а также в VIII факторе (FVIII/FVIIIa). APC-зависимое расщепление FVa стимулируется протеином S, в то время как для инактивации FVIIIa необходимо синергичное взаимодействие кофакторной функции протеина S и протеолитической модифицированного FV под действием APC. Таким образом, в норме фактор V потенциально опосредует две противоположные функции: а) прокоагулянтную — после кливажа тромбина или фактором Ха (FXa) и б) антикоагулянтную — после кливажа активированным протеином С (APC) (рис. 18). Для лучшего понимания механизмов действия APC в норме, необходимо отметить, что расщепление FVa начинается в области Arg 506, которое предшествует расщеплению Arg306 и Arg679. Существует два объяснения последовательному расщеплению в Arg506, Arg306 и Arg679. Согласно одному из них расщепление на Arg506 облегчает последующие расщепления в Arg306 и Arg679. Согласно другому, Arg506 кинетически предпочтительнее, чем Arg306 и Arg679, хотя расщепления происходят независимо друг

от друга. После расщепления в области Арг506, проявляется 40% кофакторной активности FVa в протромбин-активирующей системе, которая содержит высокие концентрации FXa (5нМ), но кофакторная активность при низких концентрациях FXa (0,3нМ) практически отсутствует. Таким образом, FVa, который расщепляется в Арг506, утрачивает свою способность взаимодействовать с FXa. Полная инактивация FXa происходит только после расщепления в Арг306.



Рис. 18. Ограниченный протеолиз фактора V, обуславливающий про- или антикоагулянтные эффекты.

Фактор V — молекула с двойственной функцией. Протеолитическая модификация FV ведет к экспрессии как про-, так и антикоагулянтных свойств. В области сосудистого повреждения тромбин и FXa расщепляют, и активируют FV с образованием прокоагулянтного фактора Va, функционирующего как кофактор для фактора Xa в процессе активации протромбина.

FVa защищён от инактивации APC, когда он в составе протромбиназного комплекса. Только Арг506 в FVa защищён фактором FXa, что соответствует предположению, что участок связывания для FXa на FVa включает остатки аминокислот 493—506. Эти остатки также могут являться участком связывания с протеином S, таким образом влияя на способность протеина S противодействовать защитному эффекту FXa относительно действия APC на фактор FVa. Функция протеина S как кофактора APC в процессе деградации фактора FVa заключается в ускорении расщепления в области Арг306 в 20 раз, в то время как кофакторная активность протеина S не проявляет себя в области Арг506.

Механизм, благодаря которому протеин S выборочно способствует расщеплению в Арг306 Fva, до конца не известен. Протеин S вовлечён в множественные межпротеиновые взаимодействия на отрицательно заряженных мембранах фосфолипидов, включая взаимодействия с APC, FV/FVa, и, возможно, с FXa. Кофакторная активность протеина S заключается в формировании мембран-связанного комплекса между APC и протеином S. Наличие протеина S на фосфолипидной мембране увеличивает сродство активного участка APC к мембране примерно в 10 раз. Неактивированный FV обеспечивает пятикратное увеличение сродства APC к мембране, что убедительно свидетельствует о возможности взаимодействия APC как с Fva, так и с FV. Взаимодействие между протеином S и APC на поверхности мембраны влияет на ориентацию активного участка APC. Перемещение активного участка APC к поверхности мембраны может быть структурным объяснением специфической стимуляции протеином S расщепления в Арг306 фактора Fva с участием APC.

APC расщепляет также 3 пептидные связи в тяжёлых цепях FVIII в области Arg336, Arg562 и Arg740. Участок Arg562 в FVIII защищён в теназном комплексе фактором FIXa, аналогично защите Arg306 в факторе FVa фактором FXa. В отличие от FV, в котором протеин S селективно способствует расщеплению Arg306, но не Arg506, в FVIIIa протеин S потенцирует расщепление Arg562 с медиатором APC.

Как указывалось, APC способен расщеплять интактный FV и FVIII на отрицательно заряженной мембране фосфолипидов. Расщепление интактного FVIII возможно играет незначительную роль *in vivo*, так как FVIII циркулирует в комплексе с фактором фон Виллебранда, который защищает FVIII от APC. Наоборот, расщепление интактного FV физиологически важно, так как протеолитическая модификация фактора FV с помощью APC требуется для превращения FV в кофактор APC, участвующий вместе с протеином S в деградации мембран-связанного FVIIIa, опосредованной APC. FV, связанный с отрицательно заряженным фосфолипидом, может быть расщеплен с помощью APC в участках Arg306, Arg506, Arg679 и Лиз994. В отсутствие фосфолипидных мембран расщепление FV с помощью APC не происходит. Для появления APC-кофакторной активности FV требуется только расщепление в Arg506. После полной активации тромбина APC-кофакторная активность FV утрачивается. Используя рекомбинантные FV, было доказано, что расщепления в Arg709 и Arg1018 в FV не влияет на способность FV функционировать как APC-кофактор. Наоборот, результатом расщепления в Arg1545 является полная потеря APC-кофакторной активности. Это предполагает, что для выражения APC-кофакторной активности необходим В-домен FV. Два участка FV важны для возникновения APC-кофакторной активности, один — в области Arg506, другой — С-конец В-домена. Фосфолипидная связь с FV также важна для экспрессии антикоагулянтной активности.

Механизмы APC-резистентности

Молекулярные механизмы APC-резистентности более сложны, чем ожидалось во время идентификации мутации гена FV. Единичная точечная мутация Arg506Gln в FV влияет на регуляцию свёртывания крови на уровне FVa и FVIIIa. Один из трёх APC расщепляемых участков в факторе FVa утрачивается во время мутации FV, что замедляет разрушение FVa с помощью APC. Однако мутация незначительно влияет на FVa, который входит в состав протромбиназного комплекса, так как в этой ситуации более важна связь Arg306.

В свободном FVa, который не находится в комплексе с FXa на фосфолипидной мембране, APC-расщепление в Arg506 ассоциируется с более благоприятной кинетикой по сравнению с Arg306 и Arg679. Концентрация FVa влияет на скорость расщепления. Расщепление в Arg506 в 10 раз быстрее, чем в Arg306 при физиологических концентрациях FVa, а активность FVa:Q506 угнетается в 10 раз медленнее, чем FVa:R506. Как следствие, FVa, образующийся в результате активации тромбином FV, дольше персистирует на поверхности мембран, где он готов образовывать протромбиназные комплексы с FXa. В результате увеличивается образование тромбина, усиливается активация FV и FVIII, что приводит к гиперкоагуляции. Отражением этого является увеличение уровня фрагментов активации протромбина в плазме у пациентов с наследственной APC-резистентностью.

Деградация FVa, который является частью протромбиназного комплекса, отличается от таковой свободного FVa по причине защиты Arg506 фактором Ха от деградации APC. Следовательно, расщепление Arg306 более важно для регуляции активности FVa в протромбиназном комплексе. Эффективность расщепления этого участка увеличивается под влиянием протеина S, который выступает как кофактор APC прежде всего при расщеплении Arg306, а не Arg506. В присутствии протеина S, регуляция активности протромбиназного комплекса, содержащего нормальный или мутантный FVa, значительно не отличается. Это объясняет, почему

FVa:Q506 угнетается почти с такой же скоростью как и FVa:R506, когда свёртывание инициирует FXa или ТФ. Молекулярный механизм, при помощи которого Arg506Глн в FV нарушает деградацию FVIIIa начинает проясняться. FVIIIa, находящийся с FIXa в теназном комплексе, защищён от деградации APC. Даже протеин S не способен повлиять на активность FVIIIa в теназном комплексе. Только совместное действие APC, протеина S и FV приводит к эффективному контролю теназного комплекса. Расщепление в Arg506 является необходимым для возникновения APC-кофакторной активности FV. Расщепления в Arg306 или Arg679 с помощью APC не требуются для обретения FV антикоагулянтной активности (рис. 19).

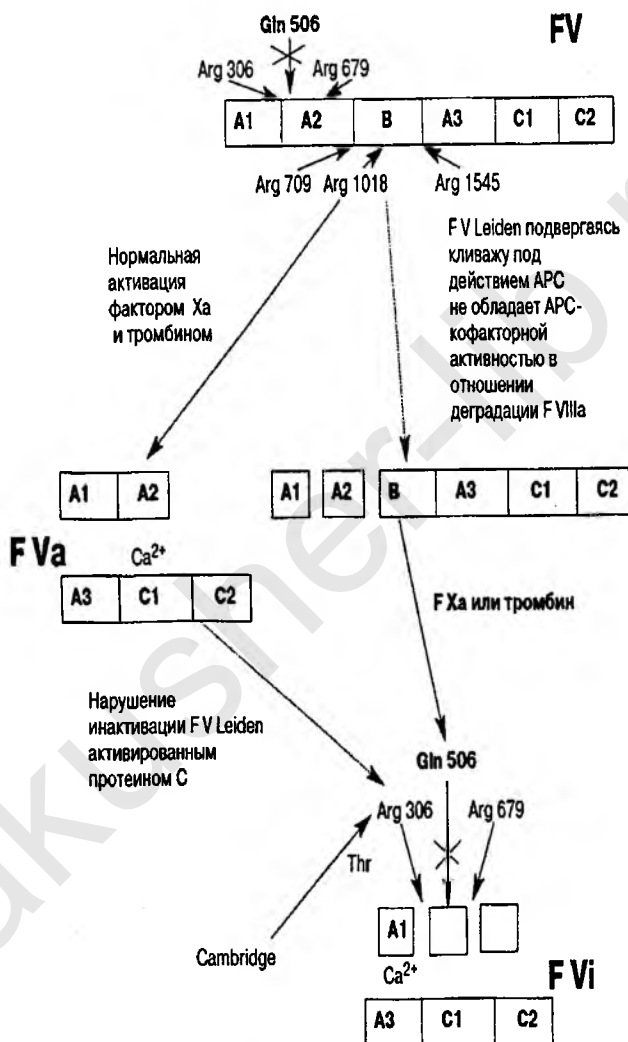


Рис. 19. Молекулярный механизм APC – R.

FV мутация с заменой Arg506 на Gln506 ведет не только к нарушению деградации фактора Va под действием APC, но также и к потере антикоагулянтной активности FV. Для того, чтобы выступать в роли кофактора APC синергично с протеином S в процессе деградации фактора VIIIa, FV должен расщепляться активированным протеином C в области Arg506 (но не Gln506), таким образом, APC-R при мутации FV обладает двойным эффектом на регуляцию свертывания крови, нарушая не только деградацию FVa, но и регуляцию активности FVIIIa. При мутации FV Cambridge происходит замена аргинина в позиции 306 на треонин.

Взаимодействия протеин-протеин, возникающие в результате APC-опосредованного расщепления в Arg506 до сих пор не ясны, но вероятно, расщепление FV приводит к высвобождению участков связывания для протеина S и APC. Три-молекулярный комплекс APC, протеина S и APC-расщепленного FV угнетает FVIIIa в теназном комплексе. Независимо от молекулярных механизмов примечательно, что мутация FV действует на регуляцию активности FVIIIa.

FVLeiden мутация, таким образом, вызывает не только частичную резистентность FVa к APC, но также нарушает процесс деградации FVIIIa, поскольку APC-опосредованный кливаж FV в участке Arg506 необходим для осуществления антикоагулянтной активности FV. Нарушения деградации (расщепления) как FVIIIa, так и Fva, ведут к состоянию гиперкоагуляции, что повышает риск возникновения тромбоза.

Интактный FV также высоко чувствителен к кливажу под действием APC с образованием FVas с антикоагулянтной активностью. FVas функционирует как синергичный кофактор APC вместе с протеином S и участвует в деградации FVIIIa в теназном комплексе. Антикоагулянтные свойства FVas исчезают при дальнейшем его протеолизе под действием тромбина или фактора Ха. Подобным же образом, прокоагулянтный эффект FVa исчезает в результате кливажа его под действием APC. FV, следовательно, играет ключевую роль, обеспечивая баланс между про- и антикоагулянтной активностью.

Таким образом, как стало недавно известно, протромботический эффект APC-R при FV-мутации Лейдена имеет по меньшей мере 2 объяснения:

1. нарушение деградации FVa под действием APC, в то время как прокоагулянтный эффект мутировавшего FVa сохраняется.

2. Нарушение в процессе деградации FVIIIa, поскольку нормальный кливаж FV в области Arg506 необходим для осуществления синергичной APC-кофакторной активности FV наряду с протеином S в деградации фактора VIIIa (рис. 19).

Наряду с описанными выше эффектами фактора V Leiden, весьма значимы и эффекты этой мутации на фибринолиз. В настоящее время хорошо известны профибринолитические свойства APC. Vajzar et al. (1996) обнаружил, что для укорочения времени лизиса сгустка, содержащего фактор V Leiden, от 140 мин до 50 мин требуется в 10 раз больше APC, чем для лизиса сгустка, содержащего нормальный фактор V. Тем не менее, в отсутствие тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (TAFI), APC не влияет ни на лизис сгустка, содержащего фактор V Leiden, ни на лизис сгустка, содержащего нормальный фактор V. Таким образом, нарушение профибринолитического ответа на APC у пациентов с FV Leiden является TAFI-зависимым. Этот феномен представляет один из немаловажных механизмов протромботической тенденции у пациентов с мутацией FV Leiden.

Вскоре после описания APC-резистентность стала довольно часто (20—60%) обнаруживаться среди пациентов с тромбозами в Западном мире. Наоборот, не было слышно о ней в Азии. Причина оказалась в том, что аллель FV:Q506, вызывающий APC-резистентность, обнаруживался лишь в европейских родословных (кавказская раса) и отсутствует у местного населения Азии, Африки, Америки и Австралии. В Западных странах встречаемость данного аллеля также колеблется. FV Leiden мутация обнаружена у 15% населения южной Швеции, известной своей высокой частотой тромбозов. Другие страны с высокой частотой — это Германия, Дания и Греция. В Израиле мутация встречается как у арабов, так и евреев, но среди последних с большими вариациями, зависящими от их этнического происхождения. Частота в Нидерландах, Великобритании и США 3—5%, ниже она среди американцев испанского происхождения (2%), а также в Италии и Испании. Не обнаружено мутации среди японцев и китайцев. Большие колебания могут быть и внутри одной страны, например во Франции частота колеблется от 1% (Лилль) до 10% (Страсбург). Высокая выживаемость мутации и, как результат, гиперкоагуляционное состояние происходят из высокого превалирования аллеля FV:Q506. Возможно, тенденция к уменьшению кровотечений после родов у

женщин с данной мутацией долгое время определяла и высокую выживаемость аллеля. В то же время увеличение риска тромбозов не являлось фактором смертности в истории человечества, так как тромбоз обычно возникал в старшем возрасте и, значит, не влиял на фертильность. Вдобавок к этому, наши предки не испытывали влияния других факторов риска тромбозов, таких как операции, оральные контрацептивы, курение и относительно сидячий образ современной жизни. Все вышеперечисленное способствовало закреплению мутации в процессе естественного отбора.

Предполагают, что единичная мутация гена, кодирующего фактор V, произошла около 30 000 лет назад, т.е. после миграции населения из Африки 100 000 лет назад, и после сегрегации азиатов от европейцев. Это объясняет частоту мутации в Европе, и отсутствие ее в Японии и Китае, а также среди местного населения Азии, Африки и Америки.

Иногда APC-резистентность обнаруживается среди пациентов с тромбозами, не имеющих аллель FV:Q506, что свидетельствует о наличии других, ещё не идентифицированных дефектов. При гомозиготном дефиците FV возможен фенотип APC-резистентности, что, вероятно, является результатом потери APC-кофакторной активности FV, вследствие низкой его концентрации. FV — гетерозиготный дефицит в сочетании с аллелем FV:Q506 является причиной псевдогомозиготной APC-резистентности, характеризующейся очень низким APC ответом. В этих условиях уровень FV — 50% от нормы, и весь циркулирующий фактор FV APC-резистентен, так как он произошёл из аллеля FV:Q506. Гаплотип FV, обозначенный как HR2, характеризуется совокупностью шести полиморфизмов в FV и крайне низким уровнем FV, ассоциируется с незначительным уменьшением APC-ответа. Механизм уменьшения APC-ответа может быть связан с незначительным снижением уровня FV, заменой аминокислот, обусловленной гаплотипом HR2, или нарушением равновесия с другими мутациями в гене FV. Частота гаплотипа HR2 одинакова у пациентов с тромбозами и у здоровых пациентов, что свидетельствует о небольшой роли HR2 как фактора риска тромбозов.

Мутации, повреждающие другие APC-расщепляемые участки (сайты) FVa или FVIII потенциально также могут вести к APC-резистентности, состоянию гиперкоагуляции и венозным тромбозам. Тем не менее, до настоящего времени еще не выявлено ни одной мутации, вызывающей изменения в APC-расщепляемых сайтах FVIII. В то же время в рекомбинантном FVIII мутагенез APC-расщепляемого сайта не сопровождался развитием APC-R. Фенотип APC-R наблюдался лишь в случае, когда оба APC-расщепляемых сайта FVIII подвергались мутации.

Недавно была обнаружена новая мутация гена, кодирующего фактор V (FV Cambridge) с заменой аргинина на треонин в позиции 306 (Arg306Thr) у одного из 17 пациентов с тромбозами и необъяснимой APC-резистентностью.

Кроме того, совсем недавно была открыта еще одна мутация фактора V с заменой Arg в позиции 306 на глицин (Arg306Gly), которая получила название фактор V Hong-Kong. По данным В. Dahlbaeck она была выявлена у 2 из 43 пациентов с тромбозами и у 1 из 40 здоровых из контрольной группы в Гонконге.

APC-R мутация фактора V Leiden, являясь генетически детерминированной, обуславливает пожизненный риск тромбозов. Однако для проявления тромбоза необходимы дополнительные факторы, как правило, приобретенные, наиболее частыми из которых являются прием гормональных контрацептивов, беременность, операции, иммобилизация и пр.

Однако следует отметить, что, несмотря на то, что у 60% женщин с тромбозами, связанными с беременностью, выявляется APC-R, у большинства женщин-носителей FV:Q506 аллеля при беременности тромбозы не развиваются. Тем не менее при сочетании нескольких генетических дефектов, предрасполагающих к тромбозу или одновременном наличии АФС, а также ряда экстрагенитальных заболеваний (СКВ и пр.) и патологических состояний (хроническое бактерио-вирусоносительство и пр.), риск развития тромбоза многократно увеличивается.

Последнее обуславливает соответственно дифференцированный подход к тромбопрофилактике в различных клинических ситуациях.

Мутация протромбина G20210A

Мутация протромбина G20210A впервые была описана Poort и соавт. в 1996 году, когда были обследованы 28 больных с семейным анамнезом венозных тромбозов. Путем ПЦР-диагностики у 18% была выявлена мутация гена протромбина G20210A в 3'-нетранслируемом участке. В контрольной группе мутация была обнаружена у 1%. Риск возникновения тромбозов при этой мутации возрастает почти в 3 раза.

Частота мутации протромбина G20210A почти так же высока, как и частота мутации FV. Наследуется мутация протромбина G20210A аутосомно-доминантно.

Функциональные исследования в ряде случаев (почти у 87% с мутацией протромбина) выявляют повышенный уровень протромбина >115%. Тем не менее, поскольку мутация протромбина G20210A является одной из наиболее частых причин врожденных тромбофилий, а функциональные тесты на протромбин не могут быть использованы в качестве полноценных скринирующих тестов, наряду с выявлением мутации FV Лейден, необходимо проводить ПЦР-диагностику с целью выявления возможного дефекта гена протромбина. Это тем более важно, что в ряде случаев может иметь место комбинированная форма тромбофилии: сочетание мутации FV Лейден с мутацией протромбина G20210A. По данным Brown et al. из 504 пациентов с венозными тромбозами у 3 было выявлено сочетание этих 2 форм врожденных тромбофилий. Согласно данным мультицентрового трайла, проводимого в 9 странах и включающего 5527 пациентов, была выявлена гетерозиготная форма мутации протромбина G20210A. При этом заболеваемость в Южной Европе составила около 3%, а в Северной Европе — примерно 1,7%. Подобно мутации FV Лейден, мутация протромбина очень редка среди населения Африки и Азии. Частота данной мутации у представителей кавказской расы составляет 2%.

Согласно последним данным мутация протромбина G20210 помимо тромбоза глубоких вен может быть причиной цереброваскулярных тромбо-окклюзионных заболеваний. Подобно мутации FV Лейден, мутация протромбина G20210 при приеме оральных контрацептивов, беременности в десятки и сотни раз повышает риск тромбозов.

Хотя для мутации протромбина наиболее характерны венозные тромбозы, этот дефект следует исключать при необъяснимых венозных и артериальных тромбозах.

Синдром липких тромбоцитов (Sticky Platelet Syndrome, SPS)

Синдром липких тромбоцитов представляет собой дисфункцию тромбоцитов, сопровождающуюся артериальными и венозными тромбозами и наследуемую аутосомно-доминантным путем. Впервые SPS был открыт в 1982 году E.F. Mammen. Он был выявлен у 24-летней женщины с острым инфарктом миокарда во время беременности в сроке 28 недель. При выяснении семейного анамнеза оказалось, что мать пациентки тоже перенесла инфаркт миокарда во время одной из трех беременностей, а брат пациентки страдал приступами стенокардии в отсутствие болезни коронарных артерий. Отец и сестра пациентки были клинически асимптоматичны.

Базисные тесты коагуляции и количество тромбоцитов у пациентки были нормальными. Кроме того, исследования, направленные на выявление известных на то время дефектов, связанных с семейной тромбофилией (AT III, протеин C, S, а также АФА) были отрицательными. Рутинные исследования агрегации тромбоцитов в богатой тромбоцитами плазме (PRP), в присутствии обычных концентраций коллагена, арахидоновой кислоты, ристоцетина и тромбина, также не выявили отклонений. Однако поскольку агрегационный ответ на стандартные концентрации

АДФ и адреналина (2,3 и 11мМ соответственно) составлял почти 100%, были использованы АДФ и адреналин в разных разведениях. Дозо-зависимый ответ также был нарушен по сравнению с контролем. С другими агонистами разницы с контрольной группой не было обнаружено.

При обследовании матери и брата пациентки были выявлены такие же нарушения агрегации, в то время как у отца и сестры агрегация тромбоцитов в ответ на АДФ и адреналин была нормальной. Это подтверждало наличие генетического дефекта.

Согласно современной классификации, SPS-синдром занимает III место среди причин тромбозов.

Выделяют 3 типа SPS:

Тип I — повышение агрегации под действием АДФ и адреналина;

Тип II — повышение агрегации только под действием адреналина;

Тип III — повышение агрегации только под действием АДФ.

Клинически SPS может проявляться как «angina pectoris», острый инфаркт миокарда, транзиторные церебральные ишемические атаки, инсульты, тромбозы сетчатки, периферические артериальные и венозные тромбозы, часто рецидивирующего характера на фоне оральной антикоагулянтной терапии. Клинические симптомы, особенно артериальные, часто имеют место после эмоционального стресса (выброс адреналина!).

Описаны случаи комбинации SPS с другими генетическими тромбофилиями. Так, в 1998г. Andersen опубликовал данные анализа причин артериальных и венозных тромбозов у 195 обследованных пациентов. Оказалось, что у 28% был обнаружен SPS, у 16% — гипергомоцистеинемия, у 16% — нарушение PAI-1, у 15% — APC-R; у 18 пациентов SPS сочетался с другими врожденными дефектами.

Характерно, что низкие дозы аспирина (80—100 мг) весьма эффективны для нормализации агрегации. Точная этиология этого дефекта до сих пор не ясна, однако возможно имеет место дефект поверхностных тромбоцитарных рецепторов. Нормальный уровень тромбоцитарного фактора 4 (PF4) и β -тромбоглобулина свидетельствуют, что тромбоциты не постоянно находятся в активированном состоянии: они активируются под действием АДФ или при высвобождении адреналина. In vivo же агрегация тромбоцитов приводит к временной или перманентной окклюзии сосудов с соответствующей клинической манифестацией. Поэтому SPS необходимо исключать у больных с необъяснимой артериальной окклюзией сосудов.

Полиморфизм генов тромбоцитарных гликопротеинов (рецепторов) как фактор риска тромбозов

Последние годы, в связи с успехами в понимании роли тромбоцитарных рецепторов в процессах тромбообразования, атеросклероза, ангиогенеза и пр., все более пристальное внимание исследователей стали привлекать генетические формы полиморфизма тромбоцитарных гликопротеинов в качестве причины повышенной склонности к артериальным тромбозам и, соответственно, инфаркту миокарда, инсультам и пр. клиническим осложнениям. Тем не менее, роль генетических полиморфизмов различных гликопротеинов при этом неодинаковая, а имеющиеся на сегодняшний день данные весьма противоречивы. Однако уже обнаружена некоторая взаимосвязь между теми или иными формами полиморфизма генов тромбоцитарных гликопротеинов и тромбозами.

Прежде чем приступить к изложению клинических эффектов некоторых форм полиморфизма тромбоцитарных гликопротеинов, целесообразно коротко охарактеризовать возможные механизмы вовлечения этих рецепторов в процесс тромбообразования.

Большинство адгезивных тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов непосредственно вовлеченных в процесс тромбоцит-опосредованного тромбооб-

разования, представляют собой протеиновые комплексы, состоящие из 2 или более полипептидных субъединиц, нековалентно связанных с тромбоцитарной мембраной. Гены, кодирующие тот или иной гликопротеин, опосредуют различные клеточные взаимодействия.

Большинство генов гликопротеиновых рецепторов обычно содержат полиморфизмы (т.е. замены нуклеотидов, которые происходят, по крайней мере, у 1% общей популяции).

Такие внутригенные полиморфизмы могут потенциально влиять на функцию тромбоцитарных гликопротеиновых рецепторов одним из нескольких возможных путей.

Полиморфизм нуклеотида, развивающийся в регуляторном участке гена или который нарушает м-РНК или стабильность протеина, может модулировать уровень экспрессии рецептора на поверхности тромбоцита. Полиморфизм нуклеотида, который ведет к замене аминокислоты, может изменять третичную структуру рецептора (т.е. вызывать конформационные изменения) и потенциально нарушать адгезивную функцию. В большинстве случаев такой полиморфизм ведет к образованию неопитопа на поверхности тромбоцита.

На сегодняшний день говорить о каузальной роли того или иного полиморфизма гена тромбоцитарного гликопротеина в возникновении тромбоза весьма сложно, поскольку тромбоз, как правило, является следствием одномоментного сочетания нескольких «тромбогенных» факторов. А, как правило, у пациентов с острым инфарктом миокарда или ишемическим инсультом одновременно обнаруживаются и другие факторы риска тромбоза. Осложняет эпидемиологические исследования и тот факт, что различные формы полиморфизма генов встречаются с неодинаковой частотой в различных этнических группах. Поэтому исследования типа случай-контроль должны учитывать это обстоятельство.

Гликопротеин IIb/IIIa

Гликопротеин IIb/IIIa (интегрин $\alpha IIb\beta_3$, CD41/ CD61) — наиболее обильно «покрывающий» поверхность тромбоцита рецептор. Связывание фибриногена и фактора фон Виллебранда (vWF) с конформационно активным гликопротеином IIb/IIIa необходимо для стабильной адгезии тромбоцитов к субэндотелию сосуда в условиях кровотока, а также для когезии связанных с субэндотелием тромбоцитов с другими тромбоцитами и роста тромба.

Важная роль рецептора IIb/IIIa в патогенезе артериальных тромботических заболеваний была подтверждена эффектами антитромбоцитарных препаратов нового поколения — антагонистов рецепторов IIb/IIIa. Эти препараты демонстрируют снижение заболеваемости и смертности у пациентов с острым коронарным синдромом, в частности, у пациентов, перенесших чрезкожную коронарную реваскуляризацию.

Циркулирующие в кровотоке «неактивизированные» тромбоциты не способны связывать фибриноген или vWF. Лигандное связывание с IIb/IIIa требует активации тромбоцита одним из нескольких возможных агонистов, что ведет к превращению рецептора в конформационно активное состояние («inside-out» — сигнал). За этим следует целая серия внутриклеточных процессов (активация киназ, фосфолипаз и цитоскелетные изменения), что, в конце концов, ведет к изменению формы тромбоцита, адгезии и ретракции сгустка («outside-in» — сигнал).

Каждая из субъединиц IIb/IIIa содержит тот или иной диморфизм аминокислоты. Субъединица IIIa может содержать две изоформы: PL^{A1} (HPA-1a) и PL^{A2} (HPA-1b). PL^{A2} является тромбоцитарным антигеном, часто связанным с такими клиническими расстройствами, как посттрансфузионная пурпура и неонатальная аллоиммунная тромбоцитопения.

Диморфизм PL^{A1}/ PL^{A2} ведет к замене нуклеотида Т на С в позиции 1565 в экзоне 2, что в свою очередь ведет к замене аминокислоты Leu 33 на Pro 33.

Частота аллеля Pro 33 составляет около 15% в кавказской популяции (т.е. у белого населения), около 8% — среди африканцев, и крайне редко встречается у азиатов.

Два других диморфизма GP IIIa — Arg143Gln и Arg489Gln встречается у 1—3% азиатов и, по-видимому, не встречаются у европейцев и в африканской популяции.

Субъединица GbII тромбоцитарного фибриногенового рецептора состоит из двух наиболее частых изоформ Вак^a/Вак^b (HPA-3a/3b). Менее частый Вак^b (HPA-3b) вариант имеет частоту аллеля почти 35% и ведет к замене Т на G в экзоне 26 гена GPIIb, что, в свою очередь, ведет к замене аминокислоты Ile на Ser в позиции 843.

Замена Leu33Pro в молекуле GPIIIa вызывает множественные конформационные изменения в пределах GPIIb/GPIIIa — рецептора. Такие структурные изменения могут теоретически нарушать:

а) лигандное связывание с конформационно активным GPIIb/GPIIIa рецептором и/или

б) «пострецепторные» эффекты («outside-in» — сигнал).

Согласно экспериментальным данным PL^{A2} вариант GPIIb/IIIa ассоциируется с повышением связывания с «иммобилизованным» фибриногеном, тирозин-фосфорилирования, актинового изменения цитоскелета и ретракции сгустка.

Таким образом, Leu33Pro полиморфизм гена может индуцировать «тонкие» изменения функции тромбоцита, которые включают влияние на сигнальные пути.

Считается, что Pro33 — аллель может индуцировать мягкую протромботическую тенденцию.

Следует также отметить, что β_3 -интегриновые субъединицы, содержащие Leu33Pro полиморфизм, также присутствуют на других клетках — эндотелиальных и сосудистых гладкомышечных — в составе витронектинового рецептора. Поскольку витронектиновый рецептор опосредует пролиферативный ответ на сосудистое повреждение, возможно, Leu33Pro полиморфизм обладает множественными эффектами, включая тромбоз и атеросклероз.

Согласно результатам множества клинических исследований, которые весьма противоречивы, тем не менее, подтверждается возможная роль Leu33Pro полиморфизма в возникновении коронарного тромбоза у пациентов с клиническими проявлениями коронарной болезни, подвергшихся процедурам чрезкожной или хирургической реваскуляризации.

В итоге, замена Leu33Pro в молекуле GPIIIa ассоциируется с некоторым повышением тромбогенности тромбоцитов *in vitro*, но не является большим фактором риска артериальных тромботических заболеваний в общей популяции. Согласно результатам двух недавних мета-анализов, Pro33 аллель может ассоциироваться с небольшим (5—10%) общим повышением риска инфаркта миокарда (ИМ).

Поскольку Leu33Pro полиморфизм может сочетаться с другими — более «функциональными» — как в пределах GPIIIa, так и GPIIb генов, возможно, в таких случаях риск артериальных тромбозов значительно повышается.

Согласно последним данным полиморфизм Ile843Ser гликопротеина демонстрирует *in vitro* повышенную агрегацию тромбоцитов и снижение ретракции.

Эпидемиологические и биологические данные не свидетельствуют о значительной роли полиморфизма Ile843Ser в возникновении атеротромбоза и связанных с ним осложнений. Возможно, существует взаимосвязь между Ser843 вариантом GPIIb и повышенным риском артериальных тромботических заболеваний у женщин в менопаузе при условии одновременного присутствия других кардиоваскулярных факторов риска. Тем не менее, интересен тот факт, что у молодых женщин с полиморфизмом Ser843 отмечается повышенная активация GPIIb/GPIIIa в ответ на тромбоцитарные агонисты, по сравнению с молодыми мужчинами, имеющими тот же полиморфизм.

Другие полиморфизмы GPIIb/GPIIIa (Arg145Gln и Arg489Gln в субъединице IIIa) не ассоциируются с повышенным риском инфаркта миокарда.

Гликопротеин Ia/IIa

Гликопротеин Ia/IIa ($\alpha_2\beta_1$ интегрин, VLA-2, CD49b/CD29) опосредует бивалентную катион-зависимую адгезию тромбоцитов к коллагену и участвует в активации и стабильной адгезии тромбоцитов к экспонированному субэндотелию сосудов через тромбообразование. Врожденный или приобретенный дефицит GPIa/GPIIa ассоциируется, как правило, клинически с геморрагическим диатезом и дефектным ответом на коллаген — *in vitro*. Помимо тромбоцитов, ($\alpha_2\beta_1$ интегринальный рецептор присутствует на фибробластах, активированных Т-лимфоцитах, эпителиальных и эндотелиальных клетках. На клетках двух последних типов рецептор связывается с коллагеном и ламинином, участвуя в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса и миграции клеток.

Описано несколько единичных нуклеотидных полиморфизмов GPIa (α_2 -интегрин) субъединицы: С807Т полиморфизм (кодон для Phe224) без замены аминокислотной последовательности, который часто ассоциируется с другим полиморфизмом G873A (кодон для Thr246), а также с рядом других полиморфизмов.

Аллель 807Т встречается у 35% представителей кавказской расы, чуть реже среди афроамериканцев и более характерен для коренного населения Америки.

Полиморфизм G1648A гена GPIa сопровождается заменой аминокислотной последовательности Glu505Lys и отвечает за тромбоцитарную HPA-5 — систему.

Частота Lys505 — аллели — около 15% у афроамериканцев, 10% — среди кавказской расы и 5% — у азиатов. Аллель Lys505 всегда встречается в комбинации с аллелем 807С гена GPIa. Таким образом, диморфизм С807Т и Glu505Lys определяет 3 гаплотипа GPIa: 807С/Glu505 (аллель А1), 807Т/Glu505 (аллель А2) и 807С/Lys505.

Следует отметить, что поверхностная концентрация рецепторов GPIa/GPIIa весьма незначительна (около 1000 на тромбоцит) по сравнению с другими адгезивными рецепторами тромбоцитов. Однако количество рецепторов может сильно варьировать среди здоровых людей (в 5—10 раз). В свою очередь «плотность» рецепторов на поверхности тромбоцитов коррелирует с коллаген-индуцированной адгезией тромбоцитов и агрегацией *in vitro*. По сравнению с 807С, нуклеотидный вариант 807Т GPIa ассоциируется с повышением плотности рецептора GPIa/GPIIa и коллаген-индуцированной адгезии *ex vivo* в условиях нарушений кровотока, характерных для артериальных сосудов. Важная роль полиморфизма GPIa С807Т в гемостазе подтверждается фактом, что у пациентов с болезнью Виллебранда этот полиморфизм сочетается со сниженным риском серьезных геморрагий и повышенным риском раннего начала артериальных тромботических заболеваний.

Аллель 807Т также ассоциируется с повышением плотности рецептора на других клетках (в частности, моноцитах и активированных лимфоцитах), что потенциально может способствовать развиту атеротромботических заболеваний через модулирование воспалительного ответа на сосудистое повреждение.

Клинические исследования свидетельствуют, что вариант 807Т гликопротеина Ia может ассоциироваться с повышенным риском артериальных тромботических заболеваний в молодом возрасте и является своеобразным генетическим маркером склонности к ним, а также, возможно, и к микрососудистым нарушениям у больных диабетом. Безусловно, необходимы дополнительные исследования для подтверждения взаимодействия 807Т варианта GPIa с традиционными факторами кардиоваскулярного риска, а также изучение потенциальных взаимодействий с другими возможными факторами, которые влияют на адгезию тромбоцитов к коллагену (например, плазменный уровень vWF).

Glu505Lys (HPA 5) полиморфизм ведет к замене положительно заряженной аминокислоты — на отрицательно заряженную в бивалентном катион-связывающем участке GPIa.

Glu505Lys замена не нарушает адгезию тромбоцитов к коллагену в статических условиях. Glu505Lys также ведет к конформационным изменениям третичной структуры GPIa/GPIIa.

Результаты клинических исследований, имеющиеся на сегодняшний день, не подтверждают каузальной роли генотипа Glu505Lys в повышении риска атеротромбоза.

Гликопротеин Ib/IX/V

Гликопротеин Ib/IX/V (CD-42) является главным тромбоцитарным рецептором для vWF, плотность его составляет 25000 на тромбоцит. Связывание тромбоцитов с субэндотелиальным vWF через гликопротеин Ib/IX/V важно для начальных этапов адгезии тромбоцитов в области поврежденной сосудистой стенки при условии быстрого кровотока (как в артериолах или в атеросклеротических артериях). GPIb/IX/V — рецептор также содержит высокоаффинный связывающий сайт для тромбина и вносит вклад в тромбин-опосредованную активацию тромбоцитов и прокоагулянтную активность. Наконец, GPIb/IX/V является контр-рецептором для эндотелиального Р-селектина и опосредует «роллинг» тромбоцитов вдоль «воспаленного» эндотелия.

Мутации, развивающиеся в vWF-связывающем участке, ассоциируются с двумя редкими геморрагическими дефектами. Синдром Бернара-Сулье является серьезным аутосомно-рецессивным расстройством, вызванным дефектом связывания тромбоцитов с vWF.

Болезнь Виллебранда тромбоцитарного типа наследуется аутосомно-доминантно и вызвана увеличением связывания и клиренса vWF — в результате мутации в области дисульфидной «петли» (Cys209-Cys248), локализованной между лейцин-богатыми последовательностями и анионным сульфатированным участком.

Полиморфизмы GPIb α

Наиболее частыми генетическими вариантами GPIb α являются 2 замены. Первая, Thr145Met, отвечает за HPA-2 тромбоцитарную антигенную систему. Менее частый Met145 — вариант встречается почти у 7% всего белого населения, у 14% японцев и 18% — чернокожего населения.

Второй полиморфизм представляет собой варьирующее количество tandem-повторов (variable number of tandem repeats, VNTR) 13 аминокислотных последовательностей в макрогликопептидном участке GPIb α (Ser399-Thr411). В зависимости от количества повторов — один, два, три или четыре — различаются и аллели (D, C, B или A, соответственно). VNTR-C аллель наиболее распространена в общей популяции (от 55% у японцев до 85% — у кавказской расы). Частота других VNTR аллелей широко варьирует среди разных этнических групп.

D-вариант встречается у 30% японцев, 8% белой расы и 4% — черной расы.

A-аллель обнаруживается исключительно у восточных азиатов.

VNTR и Thr145Met полиморфизм часто сочетаются. При этом в европейской и азиатской популяциях Thr145 аллель ассоциируется исключительно с VNTR-C и VNTR-D вариантами, в то время как Met145 — с VNTR-A и VNTR-B вариантами.

Однако у чернокожего населения Met145/ VNTR-C и Thr145/ VNTR-B гаплотипы имеют частоту 2% и 6% соответственно.

Thr145Met диморфизм ведет к конформационным изменениям в области пятого богатого лейцином повторяющего участка N-концевого глобулярного домена GPIb α . Хотя этот участок рецептора участвует в связывании с vWF, исследования *in vitro* не свидетельствуют о влиянии замены Thr145Met на связывание с vWF или на ристоцетин — индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Нет также данных за то, что диморфизм Thr145Met влияет на плотность рецепторов GPIb/IX/V.

Ряд клинических исследований свидетельствуют о взаимосвязи между полиморфизмом GPIb α Thr145Met и риском тромботических заболеваний, хотя эти данные неоднородны.

Так, в испанском исследовании типа «случай-контроль» обнаружено 2-кратное увеличение риска как заболеваний коронарных артерий, так и ишемических цереброваскулярных расстройств в присутствии аллеля Met145.

Аналогичные результаты получены в японском исследовании 200 случаев цереброваскулярных заболеваний.

Интересно, что при анализе подгрупп был обнаружен более высокий риск у женщин и некурящих. Кроме того, была выявлена большая ассоциация с транзиторными ишемическими атаками или лакунарными инфарктами, чем с атеротромботическими инсультами.

Более того, недавние исследования продемонстрировали отсутствие взаимосвязи между Thr145Met и развитием атеротромботического инсульта.

Что касается клинических исследований взаимосвязи между полиморфизмом VNTR и атеротромботическими заболеваниями, то по предварительным данным VNTR-A и VNTR-B аллели наиболее часто ассоциируются с коронарной болезнью (по данным японского исследования).

В европейской популяции VNTR-B/C генотип ассоциируется с 2—3-кратным увеличением риска коронарной болезни и ишемических цереброваскулярных заболеваний (по данным испанского исследования). В то же время не обнаружено взаимосвязи между генотипом VNTR и риском ИМ во Франции и инсультами — в Англии. По предварительным же данным большого проспективного исследования, проведенного у белых и чернокожих американцев, генотип VNTR-C/C ассоциируется со сниженным риском коронарных проявлений.

WEIN-PENZING-дефект

Wein-Penzing-дефект, впервые описанный в 1991 г. является очень редким дефектом системы гемостаза. Он характеризуется дефицитом липоксигеназного метаболического пути и сопутствующим компенсаторным увеличением продуктов циклооксигеназного пути, включая тромбоксан A₂, простагландин E₂ и простагландин D₂. В обоих описанных случаях у пациентов развился острый инфаркт миокарда. Терапия подразумевает применение антиагрегантов (аспирин).

Наследственный дефицит протеина С

Уровень протеина С плазмы в общей популяции неодинаков. Однако у мужчин концентрация протеина С выше (в среднем 1,07 мкмоль/л, колебания в пределах 0,37—2,11 мкмоль/л), чем у женщин (в среднем 1,01 мкмоль/л, колебания в пределах 0,59—1,61). В то же время уровень протеина С (PC) увеличивается с возрастом и у мужчин, и у женщин.

Первый случай врожденного дефицита протеина С как причины рецидивирующих тромбозов был описан Griffen et al. в 1987 году. Позже многочисленные исследования Conard, Broekmans и др. подтвердили роль дефицита протеина С в возникновении венозных тромбозов. По данным Broekmans et al. (1983) и Gladson et al. (1988) частота гетерозиготного дефицита протеина С составляет 1/16 000 — 1/36 000 в общей популяции.

Врожденный дефицит протеина С наследуется аутосомно-доминантно и клинические проявления его во многом схожи с дефицитом AT III.

Позднее появились данные об аутосомно-рецессивном наследовании дефицита протеина С. Длительное время молекулярная основа противоречивых наблюдений была не понятной, хотя существовало предположение, что в тромбофилических семьях имеет место взаимодействие дефицита протеина С с другим генетическим дефектом. Только в 1995 году первые данные, подтверждающие эту гипотезу, были опубликованы. Примерно у 20% тромбофилических семей с дефицитом протеина С был выделен фактор V Leiden: проявления тромбоза обнаруживались гораздо чаще у лиц, носителей 2 дефектов.

После введения техники полимеразной цепной реакции (ПЦР), скрининг генетических дефектов гена протеина С значительно облегчился. В результате были идентифицированы различные мутации; в настоящее время обнаружено 160 разных независимых мутаций. Анализ мутаций показал, что идентичные мутации в гене протеина С можно обнаружить как у симптоматичных больных из тромбофилических семей, так и у асимптоматичных протеин С-дефицитных родственников, гомозиготных по дефициту протеина С пациентов. Риск венозных тромбозов у гетерозигот по дефициту РС повышается в среднем в 7 раз. В то же время гетерозиготный дефицит РС обнаруживается у 0,3% здоровых лиц, 3% пациентов после первого ТГВ и примерно у 6% отобранных пациентов с тромбофилией.

Уровень протеина С у гетерозиготных пациентов составляет 30—60% от нормы. Рецидивирующие ТГВ и ТЭЛА типично манифестируют в возрасте 20—30 лет. У около 50% пациентов тромбозы развиваются уже к 30 годам, а к 40 годам 80% пациентов симптоматичны. Более чем у 75% пациентов с наследственным дефицитом протеина С возникает 1 или более эпизодов тромбоза. У 7% этих больных тромбозы развиваются спонтанно и у 30% ассоциируются с предрасполагающими факторами. Наиболее частыми клиническими проявлениями дефицита протеина С является ТГВ (63%) и ТЭЛА (40%). Рецидивирующие поверхностные тромбофлебиты также характерны для врожденного дефицита протеина С; артериальные тромбозы весьма редки.

В основном, выделяют 2 типа дефицита протеина С. Наиболее часто встречающийся тип I характеризуется снижением как антигенного уровня, так и функциональной активности протеина С. Тип I может быть результатом дефицита или замены участка гена протеина С, а также точечной мутации. Тип II встречается гораздо реже и характеризуется нормальным антигенным уровнем протеина С, но сниженной функциональной активностью. Подобно дефициту АТ III венозные тромбозы, тромбозмболии, особенно легочные, возникают у гетерозиготных пациентов.

Уникальный синдром неонатальной фульминантной пурпуры был описан у гомозиготных пациентов и пациентов, дважды гомозиготных по типу I и типу II дефицитов протеина С. Синдром развивается в первые дни жизни и проявляется экхимозами в области головы, туловища и конечностей, часто сопровождающимися церебральными тромбозами и инфарктами. Кожные поражения включают множественные изъязвления и некрозы. Будучи чаще всего фатальным, синдром рефрактерен к терапии гепарином или антиагрегантами. Ведение этих больных предполагает применение свежезамороженной плазмы или некоторых концентратов фактора IX (большинство из которых содержат необходимые количества протеинов С и S) в сочетании с гепарином. Весьма успешным может быть применение протеин-С-содержащих концентратов протромбинового комплекса, а также рекомбинантного APC. Однако, вероятно, наиболее перспективна трансплантация печени у больных с гомозиготным дефицитом с последующей нормализацией уровня протеина С. У большинства пациентов с дефицитом протеина С развиваются некрозы кожи и подкожной жировой клетчатки на фоне терапии непрямыми антикоагулянтами. И этому феномену есть объяснение: непрямые антикоагулянты снижают не только уровень витамин К-зависимых факторов свертывания, но и витамин К-зависимого протеина С, уровень которого снижается гораздо быстрее, чем факторов свертывания. В условиях же незначительного дефицита протеина С это вызывает практически полное «выключение» протеина С из естественного антикоагулянтного механизма. Поэтому помимо влияния непрямого антикоагулянта на уровень протеина С необходимо учитывать и наличие других факторов, которые могут вызывать приобретенные дефициты протеина С:

- ДВС;
- Тромбоз глубоких вен;
- Легочная эмболия;
- Заболевания печени;
- Послеоперационный период;
- Инфекция;
- Злокачественные новообразования;
- L-аспарагиназа;
- Острый респираторный дистресс-синдром;
- Гемолитико-уремический синдром;
- Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура.

В исследованиях Brockman et al. (1986) известные факторы риска тромбозов были обнаружены у 54% пациентов с дефицитом протеина С и тромбозами во Франции и Дании: беременность у 20%, операции у 15%, иммобилизация у 9% и прием ОК у 7%. Характерно, что у 46% пациентов с дефицитом РС первый тромботический эпизод произошел в отсутствие предрасполагающих факторов. Однако в других исследованиях (Allaart et al.) была обнаружена связь тромбозов у пациентов с дефицитом РС и иммобилизацией или операциями.

Беременность является фактором риска для пациенток с дефицитом РС без тромботического анамнеза, а также с эпизодами тромбоза в анамнезе (тромбоз развивается у 36% беременных). Весьма интересен тот факт, что риск высок, несмотря на характерное для гестационного процесса физиологически обусловленное повышение уровня протеина С. Кроме того, по данным Sanson et al. у женщин с дефицитом РС в 2,5 раза выше риск мертворождений.

Оральные контрацептивы также могут повышать риск тромбозов, несмотря на повышение уровня антигена протеина С (Meade et al., 1985).

Отмечено, что наследственный дефицит протеина С чаще может быть причиной тромбозов или тромбоземболий, нежели дефицит АТ III. В то время как врожденный дефицит АТ III обнаруживается лишь у 3—8% пациентов с ТГВ или ТЭЛА, врожденный дефицит протеина С выявляется более чем у 10% пациентов с аналогичными клиническими проявлениями.

Таким образом, клиническими проявлениями наследственного дефицита протеина С являются:

- Аутосомно-доминантное наследование.
- Истинно дефицитарная форма и дисфункциональная форма дефицита протеина С.
- Гомозиготные пациенты часто умирают в первые дни жизни.
- ТГВ и ТЭЛА манифестируют в молодом возрасте (15—30 лет).
- Часто развивающиеся некрозы кожи на фоне приема непрямых антикоагулянтов.

Наследственный дефицит протеина S

Протеин S (PS) является одним из важных антикоагулянтных протеинов. Он является неэнзиматическим кофактором APC в инактивации факторов Va и VIIIa, а также обладает APC-независимой антикоагулянтной активностью. Лабораторный скрининг дефицита PS осложняется фактом циркуляции PS в 2 формах. Свободный PS, который активен как кофактор APC, составляет около 40% от общего PS, тогда как 60% представляет собой комплекс PS с C4-связывающим протеином (C4-вр), который не имеет APC кофакторную активность.

Недавно было показано, что измерение свободного PS лучше выявляет гетерозигот с PS-дефицитом среди здоровых, чем определение общего PS.

Первые сообщения о возможной связи дефицита PS с венозными тромбозами были сделаны в декабре 1984 (триема независимыми исследовательскими группами). В последующие годы более систематический анализ семей с PS-дефицитом и тромбофилией подтвердил, что в этих семьях частичный дефицит PS (тип 1) ассоциировался со случаями венозных тромбозов. Фактически, результаты этих анализов очень схожи с таковыми в тромбофилических семьях с дефицитом антитромбина III или протеина С: аутосомно-доминантный тип наследования, гетерозиготное носительство дефицита является фактором риска (неполное проявление, относительно позднее появление симптомов, высокий процент спонтанных случаев тромбозов). Кроме того, имеется только 2 сообщения о пациентах с тяжелым гомозиготным PS-дефицитом. Симптоматика у этих пациентов очень схожа с таковой у больных гомозигот с дефицитом PC. Только 1 из них оказался комбинированной гетерозиготой, что позволяет предположить, что в популяции значительно превалируют мутации в гене PC над мутациями в гене PS. Последние наблюдения показали, что около 40% семей с тромбофилией с подтвержденным дефицитом PS также имеют Leiden мутацию. Кроме того, в этих семьях при сочетании дефектных генов, тромбозы проявляются раньше и более часто, чем при наличии одного дефекта. Примерно у 50% пациентов с наследственным дефицитом протеина S тромбоз манифестирует в возрасте около 25 лет, при этом только у 44% имеют место другие предрасполагающие факторы; возможны и артериальные тромбозы, и тромбоэмболические проявления.

Более чем у 10% пациентов в возрасте >45 лет с необъяснимыми венозными тромбозами обнаруживается дефицит протеина S.

В 1987 г. появилась информация, что геном человека содержит 1 активный PS ген и 1 неактивный псевдоген. После изучения структуры этих 2 генов, PS-дефицитные пациенты исследовались на мутации в PS гене. В результате было обнаружено около 70 разных мутаций гена PS.

Интересен вариант PS мутации — PS (Pro 460-Ser), или PS Heerlen. У гетерозиготных носителей этого варианта обнаруживается очень быстрое снижение концентрации свободного PS, вероятно, вследствие более быстрого клиренса свободного PS Heerlen. Согласно исследованиям Leiden study PS Heerlen генотип не ассоциируется с повышением риска тромбозов.

Выделяют 2 типа наследственного дефицита протеина S:

Тип 1 (качественная форма) — снижен уровень свободного протеина S, уровень же протеина S, связанного C4-вр остается нормальным;

Тип 2 (количественная форма) — снижены уровни и свободного и C4-вр-протеина S.

Наиболее частым является дефицит протеина S типа 1.

В семейных исследованиях гетерозиготы — носителя дефектного PS-гена имеют 6—10 кратное повышение венозных тромбозов. Тем не менее, вопрос об истинной распространенности дефицита протеина S в общей популяции требует дальнейших исследований.

Дефицит АТ III

Как указывалось выше, впервые термин «наследственная тромбофилия» был введен для описания врожденного дефицита АТ III. Наследственный дефицит АТ III уже давно известен — с тех пор, как Egeberg впервые в 1965г. отметил связь между дефицитом АТ III и тромбоэмболическими осложнениями в норвежской семье. Большинство пациентов с наследственным дефицитом АТ III являются гетерозиготами, хотя отмечены редкие случаи гомозиготного дефицита АТ III и у

детей. Гомозиготный дефицит АТ III типа 1 чрезвычайно редок. Blajchman et al. (1992) описал 2 таких случая у детей, которые умерли в первые 3 месяца жизни. Lane et al. (1996) описал ишемический случай гомозиготного дефицита АТ III у 4-месячного ребенка с правосторонним гемипарезом в результате окклюзии левой средней мозговой артерии и обширным левосторонним инфарктом в результате предшествующей тромбоземболии. Возможно гомозиготный дефицит АТ III — важнейшего антикоагулянта — не совместим с жизнью. Наследуется дефицит АТ III аутосомно-доминантно за исключением дефицита АТ III типа 2, характеризующегося дефектом гепарин-связывающего домена молекулы АТ III.

Частота наследственного дефицита АТ III колеблется в пределах 1 на 2000—5000. В то же время, в общей популяции количественный дефицит АТ III выявляется у 3—8% пациентов с тромбозами и тромбоземболическими осложнениями. Наследственный дефицит АТ III, в основном, может характеризоваться либо снижением синтеза АТ III (классический тип I), либо снижением функциональной активности АТ III (дисфункциональная форма, тип II).

Тип I АТ III — дефицита может быть результатом делеции гена АТ III с образованием нестабильной формы протеина АТ III. Тип II характеризуется нормальным уровнем АТ III со сниженной функциональной активностью. Тип II обычно является результатом точечной мутации. Точечная мутация может характеризоваться дефектом гепарин-связывающего домена АТ III, или тромбин-связывающего домена молекулы АТ III. По данным Finazzi и соавт. и Girolami гетерозиготные пациенты с дефицитом гепарин-связывающего домена АТ III не отличаются высокой тенденцией к возникновению тромбозов (частота тромбозов у них <6%). В противоположность этому, при гомозиготной форме аномалии гепарин-связывающего домена риск тромбозов высокий.

Таким образом, для пациентов с наследственным дефицитом АТ III характерен повышенный риск развития тромбозов и ТЭЛА. Эти проявления типично манифестируют в возрасте от 10 до 35 лет (около 2/3 описанных случаев). Наиболее часто тромбозы возникают в глубоких венах нижних конечностей и илеофemorальных венах. Однако для дефицита АТ III характерны и тромбозы мезентериальных вен, полых вен, почечных вен и вен сетчатки. Церебральный венозный тромбоз и синдром Бадда-Киари также были описаны при дефиците АТ III. Тем не менее, наиболее характерными проявлениями являются рецидивирующие тромбозы глубоких вен (ТГВ) с или без ТЭЛА. Артериальные тромбозы при дефиците АТ III развиваются редко, за исключением дефицита АТ III типа 2, характеризующегося дефектом гепарин-связывающего домена молекулы АТ III.

Хотя у некоторых пациентов ТГВ и ТЭЛА возникают при уровне биологической активности АТ III от 50 до 70%, в ряде случаев даже при меньшем уровне АТ III тромбоз не развивается. Риск развития тромбоза увеличивается с возрастом: у 85% пациентов в возрасте до 50 лет в анамнезе один или более тромботических эпизодов, риск рецидивирующих тромбозов при этом составляет, по данным Pabinger and Schneider около 63%. По данным Cosgriff et al. почти у 50% пациентов с дефицитом АТ III первый тромботический эпизод возникает в отсутствие каких-либо предрасполагающих факторов.

Тем не менее, тромботические проявления чаще впервые возникают при наличии сопутствующих факторов риска, как оперативное вмешательство, беременность, травма, прием оральных контрацептивов, а также на фоне инфекции. В условиях высокого риска тромбоза патогенетически наиболее оправданной считается терапия концентратом АТ III.

В таблице 5 приведены основные характеристики наследственного дефицита АТ III.

Характеристики наследственного дефицита АТ III.

Клинические проявления:

- аутосомно-доминантное наследование
- 2 формы: истинно дефицитная и дисфункциональная
- венозные тромбозы манифестируют чаще в среднем возрасте от 13 до 30 лет
- легочная эмболия (характерна)
- мезентериальные сосуды тромбируются реже
- тромбозы возникают у гетерозигот
- тромбозы могут развиваться при уровне АТ III ниже 75%

Лабораторные признаки:

- низкий уровень биологической активности
- низкий иммунологический уровень при истинном дефиците АТ III
- нормальный иммунологический уровень при дисфункциональной форме дефицита АТ III
- глобальные тесты коагуляции не изменены
- тесты на фибринолиз нормальны
- время кровотечения нормальное
- агрегация тромбоцитов в норме
- отсутствие адекватного удлинения АЧТВ при гепаринотерапии.

Помимо наследственного дефицита АТ III, в ряде случаев может иметь место и приобретенный дефицит АТ III. Понятно, что сочетание наследственной и приобретенной форм дефицита АТ III во много раз повышает риск тромбоза. В табл. 6 приводятся возможные причины дефицита АТ III.

Таблица 6.

Механизмы возникновения дефицита АТ III.

1. Сниженный синтез:
 - наследственный дефицит
 - врожденный дефицит
2. Сниженная функция (дисфункциональный синтез)
 - наследственная форма
 - приобретенная форма
3. повышенное потребление
 - ДВС
 - Тромбоз глубоких вен
 - Легочная эмболия
 - Диффузные вазо-окклюзионные заболевания
4. Протеинурия и неселективная потеря АТ III
5. Повышенный неселективный катаболизм белков (злокачественные опухоли и пр.).

Наследственный дефицит гепарин-кофактора II (НС-II)

С целью понимания патогенеза развития тромбофилии при наследственном дефиците НС II необходимо кратко охарактеризовать НС II и его функцию. НС II впервые был открыт Briginshaw и Shanberg, однако впервые выделен и охарактеризован Tollefseu и Blauk, как тромбин-ингибирующий гликопротеин. Было обнаружено, что не только гепарин, но также и дерматан-сульфат (гликозаминогликан эндотелия) усиливает тромбин-ингибиторную активность НС II. НС II ингибирует амидолитическую и протеолитическую активность тромбина путем формирования ковалентного 1:1 молярного комплекса с тромбином. Ингибиторная активность НС II может усиливаться гепарином, включая гепарины с низкой АТ III-аффинностью (НМГ), полусинтетическим гепариноидом пентозан — полисульфатом, декстран-сульфатом и др. сульфатированными полисахаридами. В отличие от АТ III,

НС II незначительно ингибирует факторы Ха, XIa, IXa или плазмин и, помимо ингибиции тромбина, ингибирует химотрипсин. Ингибиторная активность НС II, кроме того, не ограничивается лишь активностью в отношении тромбина, также ингибируется и тромбин-индуцированная агрегация тромбоцитов в реакциях освобождения тромбоцитов.

Первый случай наследственного дефицита НС II был описан относительно недавно — в 1985 г Трап и соавт. Пациенткой оказалась женщина 42 лет с тромбозом церебральной артерии и с уровнем НС II 50% от нормального значения. У двух из четырех других членов ее семьи также в анамнезе были тромбозы и снижен уровень НС II.

Характерно, что все известные на сегодняшний день наследственные дефициты НС II являются количественными (тип I), но не качественными. Дефицит НС II наследуется аутосомно-доминантно. При этом тромботическая тенденция имеет место при уровне НС II <60%.

Наследственный дефицит НС II, тем не менее, является редкой причиной необъяснимых тромбозов. По данным Vertina и соавт., из 277 пациентов с необъяснимым тромбозом лишь у 3 был обнаружен наследственный дефицит НС II.

Причиной приобретенного дефицита НС II является ДВС, однако, в отличие от АТ III, уровень НС II не снижается при остром тромбозе или при нефротическом синдроме.

Наследственные дефекты фибринолиза

Основная функция системы фибринолиза заключается в поддержании жидкого состояния крови. Разнообразные нарушения в этой системе могут быть причиной геморрагических или, наоборот, тромботических осложнений.

Среди генетических причин снижения фибринолитической активности и повышенной склонности к тромбозам в настоящее время установлена роль высоких концентраций PAI-1, в том числе и генетически обусловленных, хотя изучается роль и других генетических дефектов фибринолиза.

Сниженная фибринолитическая активность и сниженная активность активаторов фибринолиза предрасполагают к возникновению тромбозов. Гипоактивность фибринолитической системы и склонности к тромбозам могут быть результатом снижения уровня плазминогена, активности активатора плазминогена типа I (PAI-1). Снижение фибринолитической активности имеет место при рецидивирующих ТГВ, приеме оральных контрацептивов, в послеоперационном периоде, при инфекции и воспалительных процессах и пр.

Наследственный дефицит плазминогена — явление довольно редкое. Наследственный дефицит плазминогена обнаруживается у 2—3% молодых пациентов с необъяснимыми ТГВ. Наследуется дефект аутосомно-доминантно. Описаны как истинно дефицитная форма (тип I), так и дисфункциональная форма (тип II), однако чаще встречается дисфункциональная форма. Пациенты с типом I могут быть гетерозиготными (снижен уровень плазминогена) и гомозиготными (отсутствие плазминогена). Клинические проявления наследственного дефицита плазминогена схожи с таковыми при наследственных дефицитах протеинов С, S и АТ III. Наиболее часты манифестации в виде ТГВ и ТЭЛА в молодом возрасте (20—35 лет и позже). Артериальные тромбозы весьма редки. Венозные тромбозы и тромбозомболические осложнения проявляются при уровне плазминогена < 40% от нормальной биологической активности.

На сегодняшний день известно, что причиной наследственного дефицита плазминогена является единичная замена оснований Т на Ц в 14 экзоне гена плазминогена в VI хромосоме, что приводит к missense-мутации и замене Ser на Pro в положении 572 в молекуле плазминогена. Такой измененный плазминоген не может распознаваться соответствующим ферментом и превращаться в плазмин.

Гомозиготный дефицит плазминогена был описан у трех больных и был связан с наличием дополнительных генных мутаций плазминогена. У всех пациентов отмечались конъюнктивит в связи с массивными отложениями фибрина на поверхности вен, вовлечения слизистых рта и носоглотки, трахеобронхиального дерева и женской половой системы. Однако, что интересно, ни один из них не имел в анамнезе тромбозов.

Согласно последним данным, наследственные дис- и гипоплазминогемии являются в меньшей мере факторами риска развития тромбозов, чем наследственные дефициты протеинов С, S или АТIII.

Дефекты тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена

Активаторы плазминогена играют важную роль в регуляции фибринолитической системы и, теоретически, их дефицит должен предрасполагать к развитию тромбофилии вследствие снижения уровня активного протеолитического энзима — плазмина.

Впервые наследственный дефицит t-РА был описан Johansson в 1978 г, когда у членов одной семьи, страдающих тромбозом глубоких вен, был выявлен сниженный уровень активаторов плазминогена. Тип наследования дефекта — аутосомно-доминантный. Существует гипотеза, что в основе наследственного дефицита активаторов плазминогена лежит наследственное повреждение сосудистой стенки с нарушением высвобождения активаторов плазминогена.

Еще одним возможным механизмом снижения активности плазминовой системы является повышение уровня ингибиторов активатора плазминогена. Эта гипотеза была подтверждена экспериментально на мышах.

В клинике повышение уровня PAI-1 наблюдается примерно у 20% пациентов с тромбофилиями. Особое место среди всех тромбофилических состояний занимают послеоперационные ТГВ, при которых часто отмечается повышение уровня PAI-1 как белка острой фазы, что в условиях предшествующей генетически обусловленной или приобретенной (АФС и пр.) тромбофилии приводит к так называемому «фибринолитическому срыву».

В настоящее время считается, что повышение уровня PAI-1 является маркером высокого риска инфаркта миокарда (ИМ).

Повышение уровня PAI-1, кроме того, ассоциируется с сахарным диабетом. Sneider и Sobel (1990) обнаружили, что инсулин и инсулиноподобный фактор роста типа 1 влияют на синтез PAI-1 и обладают синергичным эффектом на экспрессию PAI-1. Эти результаты соответствуют гипотезе, согласно которой гиперинсулинемия может нарушать фибринолитическую активность и тем самым способствовать атеросклерозу.

Механизмы, влияющие на секрецию PAI-1, остаются недостаточно изученными. Однако следует помнить, что причинами приобретенного увеличения уровня PAI-1 могут быть инсулин, липополисахарид, IL-1, ЛПОНП и глюкокортикоиды. Риск тромбоза во много раз увеличивается при одновременном повышении уровня PAI-1 и дефиците протеина S.

Дефекты гена PAI-1

В настоящее время варианты полиморфизма гена PAI-1, а точнее специфические аллели, связывают с повышением концентрации PAI-1 в плазме. К ним относятся Hind III — полиморфизм (в рестрикционном участке гена), (CA)_n — полиморфизм (полиморфизм, связанный с повторяющимся CA-динуклеотидом) и единичная нуклеотидная замена или делеция (полиморфизм 4G/5G) в промотерном участке гена.

Генотип 1/1 Hind III — полиморфизма ассоциируется с более высокой концентрацией PAI-1, чем генотип 2/2.

Уменьшение количества аллелей при полиморфизме повторяющихся динуклеотидных аллелей (меньше восьми) также сопровождается повышением концентраций PAI-1 в плазме.

Наиболее частый полиморфизм 4G/5G в промоторе PAI-1 ассоциирует с повышенной PAI-1 активностью. При гомозиготном носительстве 4G-аллеля отмечается более высокая активность PAI-1, чем у гетерозигот или гомозигот по 5G-аллелю. Т.е. вариант 4G/4G ассоциируется с наибольшей активностью PAI-1, а вариант 5G/5G — с нормальной или низкой активностью PAI-1.

Недавно было обнаружена крайне интересная закономерность: от генотипа PAI-1 зависит его регуляция липопотеином (а) и триглицерид-содержащими ЛПНП на уровне транскрипции.

Мета-анализ исследований, посвященных изучению частоты венозных тромбозов и коронарных нарушений свидетельствует о повышении риска коронарных нарушений в среднем в 1,3 раза.

В то же время, согласно большинству исследований, сниженная фибринолитическая активность (в результате повышения уровня PAI-1) положительно коррелирует с частотой острых инфарктов миокарда у мужчин моложе 40—54 лет.

Анализ же исследований типа случай-контроль свидетельствует о большей корреляции с острым инфарктом миокарда, чем с нестабильной стенокардией или ангиографически подтвержденной болезнью коронарных сосудов.

Несмотря на противоречивые данные исследований, несомненно, что при наличии дополнительных факторов (другие генетические дефекты или циркуляция АФА, сахарный диабет, ожирение и пр.) риск как артериальных, так и венозных тромбозов увеличивается.

Регуляция концентрации PAI-1

Механизмы, регулирующие секрецию PAI-1 различными клетками в плазму до настоящего времени изучены не полностью. Помимо генетических факторов, ряд приобретенных факторов также влияют на уровень PAI-1 в плазме. Известно, что эндотелиальные клетки начинают усиленно продуцировать PAI-1 в ответ на стимуляцию липополисахаридом или цитокинами. Более того, инсулин является мощным индуктором секреции PAI-1 культурой клеток печени. Аполипопротеин В — содержащие липопротеиновые частицы, такие как «нагруженные» триглицеридами липопротеины очень низкой плотности и окисленные липопротеины низкой плотности также стимулируют продукцию PAI-1 культурой человеческих эндотелиальных клеток. Регуляция секреции PAI-1 под действием ЛОНП эндотелиальными клетками и гепатоцитами осуществляется с участием специфических ЛНП-рецепторов.

Эпидемиологические исследования свидетельствуют, что уровень PAI-1 в плазме коррелирует с рядом метаболических и клинических параметров, как например, сывороточная концентрация триглицеридов, плазменный уровень инсулина, индекс массы тела. Уровень PAI-1 также типично повышается при воспалении. Кроме того, отмечается обратная зависимость между уровнем тестостерона с концентрациями инсулина, ЛВП, холестерина и PAI-1 у мужчин.

В этой связи крайне интересно, что в последние годы обнаружена ассоциация между так называемым метаболическим синдромом (или синдромом X), который классически сопровождается инсулинорезистентностью, висцеральным ожирением, гипертензией и дислипидемией и повышенным уровнем PAI-1. Другой нозологией, также ассоциирующейся с повышением концентрации PAI-1 в плазме, является сахарный диабет II типа. Патогенез хорошо известных сосудистых расстройств при диабете составляют нарушения функции тромбоцитов, факторов свертывания и фибринолитической активности и, как следствие, эндотелиальные повреждения, атеросклероз и тромбоз.

Основным объединяющим фактором для метаболического синдрома и сахарного диабета II типа, является инсулинорезистентность и, соответственно, гиперинсулинемия, помимо нарушения липидного обмена.

Источником PAI-1 в условиях инсулинорезистентности может быть жировая ткань, в основном стромальные клетки висцеральной жировой ткани. Обнаруженная прямая корреляция между плазменным уровнем PAI-1 и стеатозом печени свидетельствует, что печень также вовлечена в процесс избыточного синтеза PAI-1 при инсулинорезистентности. В условиях инсулинорезистентности возможными индукторами PAI-1 являются инсулин, глюкокортикоиды, ЛОНП, свободные жирные кислоты, глюкоза и ангиотензин II, а также воспалительные цитокины TNF- α и TGF β . IL-6, продуцируемый жировой тканью прямо стимулирует синтез фибриногена в печени. Кроме того, при ожирении повышаются уровни факторов VIII и/или VII.

Присутствие одновременно всех этих факторов повышает риск сосудистых осложнений у лиц с ожирением и инсулинорезистентностью. Следует отметить, что, по предварительным данным, у женщин с СПКЯ и инсулинорезистентностью отмечается достоверно чаще полиморфизм гена 4G/4G, что дополнительно обуславливает повышение уровня PAI-1 и риск как сосудистых заболеваний (в первую очередь атеросклероза), так и тромбозов и тромбоземболий. В настоящее время стало известно, что подавление фибринолиза в условиях инсулинорезистентности также обусловлено повышением другого ингибитора фибринолиза — TAFI (см. гл.I).

В условиях физиологической нормы, уровень PAI-1 «подчиняется» циркадным ритмам — с повышением концентрации в поздние утренние часы. Это коррелирует с большей частотой острых инфарктов миокарда, инсультов и внезапной смерти в основном в это время суток.

Однако такой циркадный ритм нарушается у пациентов с диабетом, характерно, что и инфаркты у них развиваются чаще в утренние часы.

У пациентов с диабетом отмечается высокая резистентность к тромболитической терапии инфаркта миокарда или периферической артериальной окклюзии. К основным причинам резистентности относятся высокий уровень PAI-1 и высокая агрегационная активность тромбоцитов.

Это ставит определенные трудности при ведении пациентов с инсулинорезистентностью и высоким уровнем PAI-1 не только в кардиологической или хирургической, но и в акушерско-гинекологической практике, поскольку уровень PAI-1 играет важную роль в процессе имплантации плодного яйца, а, кроме того, является независимым фактором тромбофилии. Это повышает риск ранних и поздних выкидышей, развития тяжелых гестозов, ПОНРП, не говоря о риске тромботических осложнений, который присутствует в течение всего гестационного процесса.

В гинекологической практике высокий уровень PAI-1 важен с точки зрения назначения гормональных препаратов (ЗГТ и ОК).

ЗГТ с использованием физиологических доз эстрогенов ассоциируется с повышением уровня t-PA и снижением — PAI-1, что свидетельствует об активации фибринолитической системы. С другой стороны доказано, что эстрогены в фармакологических дозах и селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERMS), применяемые у онкологических больных ассоциируются с повышенным риском тромбоземболических проявлений, особенно в комбинации с химиотерапией. Роль фибринолитической системы при этом менее ясна.

Относительно функционирования системы гемостаза у онкологических больных следует отметить, что в большинстве случаев имеет место активация ее, сопровождающаяся, в том числе активацией фибринолиза с повышением уровня t-PA и u-PA и снижением PAI-1, что, возможно, является компенсаторной реакцией. В то же время повышение уровня PAI-1 в плазме и в опухолевой ткани — плохой прогностический признак при карциномах молочной железы, простаты и легких, в первую очередь.

В контексте повышенного тромбогенного риска PAI-1 обладает, по меньшей мере, двойным эффектом. С одной стороны, нарушается активация плазминогена и тем самым риск тромбоземболических осложнений также повышается. С другой стороны, PAI-1 ингибирует апоптоз, а как стало недавно извест-

тно, апоптозные клетки представляют фосфолипидные матрицы, необходимые для формирования протромбиназного комплекса и, следовательно, образования тромбина. Таким образом, повышение концентрации PAI-1 косвенно должно снижать тромбогенный эффект опухолевых клеток. Повышение PAI-1 у онкобольных является своеобразным маркером подавления апоптоза и, следовательно, дальнейшего роста и распространения опухолевых клеток, а с другой стороны — повышения тромбоопасности (т.к. помимо подавления фибринолиза присутствует активация коагуляционного каскада и тромболитической активности). Излишне говорить, что у пациентов с генетическим полиморфизмом PAI-1 4G/4G риск как более быстрого роста злокачественных новообразований, так и тромбозомболических осложнений также выше.

Тромбозомболизм является основной причиной преждевременной смерти онкобольных. Тому способствует множество тромбогенных факторов, среди которых повышение экспрессии тканевого фактора и опухолевого прокоагулянта (цистеиновая протеаза, прямо активирующая фактор X) опухолевыми клетками. Поэтому для предотвращения тромбозов необходим адекватный фибринолитический ответ. Таким образом, определение уровня ингибиторов фибринолиза (в частности PAI-1) должно играть важное значение для прогнозирования повышения тромботического риска у онкобольных.

Не следует также забывать, что в клинических условиях наряду с нарушенным фибринолизом могут присутствовать множество других факторов, когда гипофибринолиз выступает в роли дополнительного «тромбогенного» фактора. Так, в конце беременности и в особенности в пуэрперии уровень PAI-1 и PAI-2 значительно повышается. Поэтому, если у женщины изначально имеется какой-либо тромбофилический дефект (генетический, как полиморфизм PAI-1 4g/g или FV Leiden, или сочетание нескольких генетических дефектов), то риск тромбозомболизма очень высок. Другой важной причиной может быть АФС, поскольку антитела к аннексину II — рецептору для t-PA — могут дополнительно угнетать фибринолиз наряду с другими протромботическими эффектами, присущими АФА.

Таким образом, риск тромбозомболизма значительно повышается при сочетании повышенных концентраций PAI-1 (в том числе обусловленных 4g/g — полиморфизмом) с другими генетическими и приобретенными факторами риска тромбоза.

К другим причинам приобретенных дефектов фибринолиза относится целый ряд состояний, при которых снижается уровень t-PA: язвенный колит и болезнь Крона, гистиоцитоз X и фиброзирующий альвеолит, рак молочной железы. Повышение уровня t-PA отмечается у курящих женщин, принимающих ОК. Характерно, что при приеме эстроген-содержащих ОК снижается ингибция активатора плазминогена, в то время как при физиологически протекающей беременности она возрастает.

К другим, необычным, причинам дисфибринолиза может относиться *дефицит фактора XII*. Наследственный дефицит фактора XII передается аутосомно-рецессивно. Поскольку фактор XII вовлекается не только в контактную активацию коагуляционного каскада, но и в генерацию плазмина, его дефицит в большей степени ассоциируется с тромботическими осложнениями. У гетерозиготных пациентов риск развития тромбозов не высок. Тем не менее, при наличии других факторов риска или дефектов регуляции гемостаза, дефицит фактора XII может вести к тромбозам. В связи с этим следует отметить, что John Hageman, пациент у которого впервые был описан дефицит фактора XII, умер от ТЭЛА, будучи госпитализированным в связи с переломом тазовых костей.

И, наконец, *дефект урокиназных рецепторов (uPAR)*, а также *дисфибриногенемия* могут служить причиной неадекватного функционирования плазминовой системы вследствие снижения связывания фибриногена, активатора плазминогена или резистентности к плазмину.

Дисфибриногенемии

Фибринопатии, или наследственные дисфибриногенемии, — это генетические нарушения строения молекулы фибриногена, наследуемые в основном по аутосомно-доминантному пути (редко — по неполному рецессивному пути) и представляющие собой гетерогенную группу заболеваний. По данным Ray Ebert (1994), описавшим и систематизировавшим более 260 известных случаев дисфибриногенемий, 55% больных не имеют каких-либо клинических манифестаций, 25% — страдают от различных геморрагических проявлений и 20% — имеют склонность к развитию тромбофилий.

В аномальных фибриногенах структурные дефекты могут локализоваться в каждой паре белковых цепей (Aa-, Bb- и g-цепях), а также в углеводной части молекулы по типу уменьшения или увеличения составляющего ее количества сиаловых кислот. Основные нарушения свойств и функций фибриногена связаны с: 1) нарушением процесса отделения фибринопептидов А (частый дефект), В (редкий дефект) под влиянием тромбина или обоих фибринопептидов (наиболее многочисленная группа фибринопатий); 2) неправильной полимеризацией молекул фибрина; 3) повреждением стабилизации фибрина фактором XIIIa, что приводит к резкому замедлению прошивки α - и γ -цепей фибрин-мономеров дисульфидными связями; 4) и очень редко — с собственно гипофибриногенемией. Другими возможными механизмами дисфибриногенемий могут быть нарушение взаимодействия с тромбозитами, ионами кальция и патология фибринолиза. Небольшая группа больных имеет также другие дефекты гемостаза, такие как дефицит антитромбина III, протеина С и фактор V Leiden. Дисфибриногенемия, ассоциированная с тромбофилией, которая и будет рассмотрена ниже, развивается вследствие нарушения высвобождения фибринопептидов или дефектной полимеризации. В этой группе больных высока частота развития тромботических осложнений беременности в виде хронического невынашивания и развития тромбоемболических осложнений в родах и послеродовом периоде.

При большинстве форм фибринопатий замедляется конечный этап свертывания крови, поэтому лабораторно они диагностируются, хотя и не всегда, с помощью удлинения тромбинового времени свертывания крови или времени свертывания под влиянием тромбонподобных ферментов из змеиных ядов — рептилазы, или яда змеи щитомордника. Характерно также нарушение свертывания не только плазмы больных, но и выделенного из нее очищенного фибриногена, что служит прямым доказательством того, что причина коагуляционных нарушений связана с структурной аномалией молекулы фибриногена. В случае замедления полимеризации фибрин-мономеров нарушаются физические свойства сгустка, что ведет к более медленному его формированию на тромбозластограмме и существенному уменьшению максимальной амплитуды (МА) последней. В ряде случаев отмечается нарушение чувствительности сгустка фибрина к плазмину, поэтому фибринолиз бывает или резко ускоренным или замедленным, несмотря на нормальное состояние фибринолитической системы. При разных дисфибриногенемиях также могут наблюдаться удлинение протромбинового времени свертывания или удлинение АЧТВ, а неспособность патологических молекул полностью участвовать в формировании тромба *in vitro* может способствовать возникновению ложноположительных результатов в тестах по выявлению продуктов деградации фибрина/фибриногена (ПДФ). Для обоснования наследственного генеза болезни большое значение имеет выявление такого же патологического фибриногена у родственников больного, пожизненность аномалии и отсутствие заболеваний, при которых возможна вторичная дисфибриногенемия.

Согласно принятой международной номенклатуре патологические фибриногена обозначаются по названию города, где впервые была выявлена эта патология. На сегодняшний день известно уже более 300 больных с различными фибринопатиями, и список их постоянно растет.

Дисфибриногенемии, связанные с тромбофилиями.

Молекулярный дефект	Название фибриногена	Наличие гипофибриногенемии
ВβArg44Цис	Nijmegen	Нет
ВβArg14Цис	Ijmuiden	нет
γArg275Цис	Bologna I, Cedar Rapids	Нет
γArg275Гис	Haifa I, Barcelona III, Bergamo II	Нет
γAsn318Гли	Giessen IV	Нет
γdel319Asn,320Asn	Vlissingen I	Нет
Аα461 стоп-альбумин	Marburg I	Есть
Аα451 вставка/453 стоп-альбумин	Milano III	Нет
АαArg554Цис-альбумин	Dusart, Chapel Hill III	Нет
АαSer532Цис	Caracas V	Нет
Вβ9-72del	New York I	Нет
ВβArg44Цис	Naples I	Нет
АαArg19Гли	Aarhus I, Kumamoto	Нет
γAsn364Вал	Melun I	Нет
Вβ-цепь	Oslo I	Нет
γЛиз380Асн	Kaiserslautern	Нет
γАсн308Лиз	Bicktre II	Нет
γГли292Вал	Baltimore I	Нет
Не известен	Malmце I	Есть

Впервые дисфибриногенемия была описана Di Imperato и Dettori в 1958 г. Большинство пациентов с дисфибриногенемией асимптоматичны или страдают геморрагическими расстройствами средней тяжести. Тем не менее, около 10% дисфибриногенемий ассоциируются с тромбозами (табл.7). Хотя для этих субгрупп более характерны венозные тромбозы, могут иметь место и артериальные. Несмотря на то, что большинство дисфибриногенемий этой подгруппы еще не охарактеризованы, некоторые из них связаны с аномальной полимеризацией мономеров фибрина, нарушением активации фибринолиза или резистентностью к фибринолизу. Например, дисфибриногенемия Fibrinogen Dusard ассоциируется с неполноценной или сниженной активацией плазминогена; Fibrinogen Nijmegen — с неполноценной t-PA-опосредованной активацией плазминогена; Fibrinogen Bergamo II характеризуется слабой полимеризацией мономеров фибрина.

Таким образом, существует несколько наследственных дефектов фибринолитической системы, роль которых в генезе тромбофилий в некоторых случаях оспаривается рядом исследователей. Тем не менее, учитывая далее этот факт, нельзя не отметить роли патологии плазминовой системы в поддержании уже развившихся тромбозомболических состояний вследствие неадекватного клиренса фибрина и распространения тромбоза, что неизбежно приводит к его рецидивированию.

Гипергомоцистеинемия (см. Главу IV)

Повышение уровня фактора VIII

В настоящее время уже установлено, что высокий уровень фактора VIII представляет повышенный риск тромбозов.

Уже с 60-ых годов появились первые сообщения, что группа крови AB(IV) ассоциируется с риском венозных тромбозов, тогда как группа крови 0 имеет наименьший риск. Относительный риск для групп крови не-0, которые в большей степени характерны для кавказской популяции составляет 2—3,7. Это подразумевает, что 1/3—1/2 всех случаев тромбозов составляют пациенты с не-0 группами крови. Однако позже выяснилось, что эти группы крови имеют отношение к фактору фон Виллебранда (vWF), который в свою очередь, является переносчиком белкового кофактора VIII и протектором фактора VIII от инактивации APC. Обнаружено, что не-0 группы крови ассоциируются с повышенными уровнями vWF и фактора VIII:C. При учете всех факторов одновременно было установлено, что группа крови на риск тромбозов не влияет, и что механизм предполагаемого ранее влияния группы крови осуществляется через повышение фактора VIII. Недавно Koster et al. сообщили в Исследовании Тромбофилии Leiden, что группы крови не-0, повышение vWF (150% и более), повышение активности фактора VIII в комплексе ассоциируются с повышенным тромботическим риском. Установлено, что идентифицированные повышенные уровни фактора VIII являются частым молекулярным фактором риска венозных тромбозов. Приблизительно 25% от всех пациентов с ТГВ и 10% здоровых имеют уровень фактора VIII:C примерно 150%. Позднее о подобных находках сообщили другие авторы. Молекулярные дефекты и/или механизмы, которые лежат в основе повышения уровней фактора VIII, все еще в большей степени не известны. Исследования агрегации, уровней фактора VIII в семьях свидетельствуют о возможном генетическом влиянии на уровни фактора VIII, не зависимо от группы крови и vWF, нет пока сообщений о наличии аномального гаплотипа или мутациях гена фактора VIII у пациентов с повышенными уровнями фактора VIII. vWF выглядит наиболее важной детерминантой уровней фактора VIII:C. У 75% пациентов с уровнями антигена фактора VIII:C 150% и выше также повышен vWF более 150%. Неизменно встает ряд вопросов: что у этих пациентов детерминирует уровень vWF в плазме — группа крови, полиморфизм в гене vWF, который ассоциируется с уровнями vWF — или повышенные уровни vWF обусловлены эндотелиальными нарушениями? Возможно, дальнейшие исследования прольют свет на эти вопросы.

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия

Пароксизмальная ночная гемоглобинурия (ПНГ) представляет собой комплекс гематологических расстройств, которые, возможно, впервые описаны уже три столетия назад, а прицельно стали изучаться лишь с 1980 года, когда были выяснены основные составляющие патогенеза, а в 1990 году был открыт молекулярный дефект, лежащий в основе этих расстройств. Само название ПНГ определяет лишь один из компонентов заболевания (т.н. гемолитическое состояние). Более полное определение заболевания может быть следующим: приобретенное заболевание крови, характеризующееся развитием одного или более клонов гемопоэтических клеток, не способных продуцировать гликозил-фосфатидилинозитол (ГФИ) вследствие снижения активности костного мозга. Поскольку патофизиология заболевания включает целый комплекс механизмов, а клинические проявления также разнообразны, его часто классифицируют как гемолитическую анемию, миелодисплазию, миелопролиферативное заболевание или синдром недостаточности костного мозга. При этом ПНГ является одним из проявлений всех перечисленных выше состояний.

Клинические проявления

Заболевание является редким (заболеваемость составляет около 1—2 на миллион), однако распространено во всем мире; чаще встречается в странах Азии (Таиланд, Китай), для которых характерна необъяснимо более высокая заболеваемость апластическими анемиями. ПНГ характеризуется хронической гемолитической анемией с периодическими обострениями, часто лейкопенией и тромбоцитопенией, склонностью к тромбозам и, в меньшей степени, к инфекциям. Клиническая картина может быть разной: от мягких до тяжелых форм заболевания, при этом тяжесть заболевания определяется сопутствующей панцитопенией (ПНГ/синдром апластической анемии), гипергемолизом или рецидивирующими тромбозами (гемолитический тип).

Хотя заболевание не относится к злокачественным (прогрессирование в острую лейкемию чрезвычайно редко) и средняя выживаемость составляет около 10 лет, течение может быть острым, что существенно ухудшает прогноз.

Диагностика

Легкая (слабая) желтуха без спленомегалии, анемия с умеренным ретикулоцитозом, повышение сывороточной ЛДГ, эпизоды темной мочи и гемосидерурия — основные клинические проявления, которые до 1980 года служили и диагностическими критериями для ПНГ. С 1980 года появился подтверждающий Ham-тест (лизис части эритроцитов в подкисленной сыворотке); более простым, но менее специфичным является водно-сахарный тест (лизис эритроцитов в сыворотке со сниженной концентрацией ионов). В настоящее время наиболее чувствительным и специфичным методом является потоковая цитометрия клеток крови. Благодаря недавнему открытию генетической причины ПНГ, стали возможны молекулярные исследования ДНК или м-РНК ядерных клеток крови для подтверждения диагноза.

Молекулярные аспекты патогенеза ПНГ

Хотя в настоящее время уже хорошо известна генетическая причина заболевания, ПНГ не является врожденным дефектом и не передается по наследству. Заболевание является результатом соматической мутации гена, кодирующего фосфатидил-инозитолгликан класса А (PIG-A) в гемопоэтических клетках — ранних предшественниках клеток крови. Ген PIG-A локализован на коротком плече X-хромосомы; клеточную ДНК впервые выделили Kinoshita et al в 1993 году. Структуру же геномного гена впервые подтвердил Bessler в 1994 году.

PIG-A-ген кодирует протеин, участвующий в синтезе гликозил-фосфатидил-инозитола (GPI). Эта молекула используется клетками для связывания с различными протеинами без участия трансмембранных белков. Функциональное значение GPI-опосредованного связывания протеинов не до конца ясно, хотя известно, что эти процессы имеют место при эндо-, экзоцитозе, образовании простых комплексов на поверхности клеток и пр. Многочисленные исследования показали, что все пациенты с ПНГ имеют мутацию в PIG-A-гене, хотя синтез GPI контролируется различными генами. В то же время, PIG-A-ген, возможно, единственный из них, сцепленный с X-хромосомой. В результате, единичная мутация в этом гене может быть причиной продуцирования аномальных клеток и у женщин, и у мужчин.

У больных с ПНГ были обнаружены практически все типы мутаций в PIG-A-гене: малые делеции или вставки, замена нуклеотидов со сдвигом рамки, замена нуклеотидов с формированием stop-кодона, точечные мутации, ведущие к замене аминокислоты или образованию новых сайтов для альтернативного сплайсинга, а также большие делеции.

В отличие от наследственных, соматические мутации не ведут к нарушению развития органов и, один раз появившись, нарушают генетический контроль лишь небольшой фракции соматических клеток.

PIG-A-мутация, ответственная за ПНГ, развивается в мультипотентных стволовых гемопоэтических клетках, которые затем дифференцируются в несколько клеточных линий: эритроидную, миелоидную и мегакариоцитную, которые, как правило, всегда повреждаются в той или иной степени, в то время как лимфоидная дифференцировка (B-и/или T-линии) повреждается у меньшинства пациентов с ПНГ. Как следствие повреждения пути синтеза GPI, все поврежденные клетки на любой стадии созревания дефицитарны по всем молекулам, связывающим с GPI. Хотя современные знания о функции многих из этих молекул еще ограничены, тем не менее, уже известно, что CD59 и CD55 являются двумя важными комплемент-регуляторными белками: их отсутствие при ПНГ делает эритроциты чрезвычайно чувствительными к активации комплемента, что *in vivo* проявляется гемолитическим состоянием, а *in vitro* — положительным Ham-тестом. Возможно, слабая степень активации системы комплемента является постоянным физиологическим феноменом; в условиях инфекции или воспаления система комплемента значительно активируется. Отсюда понятно, почему эритроциты при ПНГ хронически лизируются с периодическими обострениями. Тем не менее, до сих пор не ясно, почему пароксизмальные обострения происходят в основном ночью.

Согласно функциональной иерархии CD59 играет главную роль: больные с изолированным дефицитом CD59 имеют сходную с ПНГ клиническую картину, в то время как при изолированном дефиците CD55 на эритроцитах (что характерно для фенотипа редкой группы крови *Inab*) ПНГ-подобная симптоматика не наблюдается. Хотя CD59 и CD55 могут быть дефицитарны и на лейкоцитах, тем не менее, при ПНГ укорочения их времени жизни не наблюдается. Возможно, это связано с тем, что ядерные клетки в отличие от безъядерных (эритроциты, тромбоциты), имеют в составе дополнительные трансмембранные молекулы (CD46), способные защитить их от влияния активированного комплемента. Чувствительность к комплементу является хотя и хорошо изученным, но не единственным дефектом клеток при ПНГ. Поточковая цитометрия с использованием антител к GPI-связанным молекулам является чувствительным диагностическим тестом, с помощью которого можно выявить клеточные аномалии при ПНГ уже на ранних этапах. При этом возможно определить, какая клеточная линия повреждена и какова степень повреждения.

Согласно современным представлениям больные ПНГ всегда имеют два сопутствующих дефекта: а) PIG-A-мутацию одной (или более) ранних гемопоэтических клеток ранних предшественников; б) синдром недостаточности костного мозга, механизм которого «позволяет» появиться GPI-дефицитарным клеткам. Это во многом объясняет частую ассоциацию ПНГ с апластической анемией (АА) и повышенную заболеваемость ПНГ в странах, где АА встречается чаще.

Лечение

Терапия больных ПНГ является, в сущности, вспомогательной. Профилактика и лечение инфекционных и воспалительных заболеваний могут также быть вспомогательным средством в снижении частоты и тяжести пароксизмальных обострений.

При анемии показаны фолаты и трансфузии эритроцитов. Отдельным больным показаны железосодержащие добавки или хелаты железа, с целью восстановления баланса при потере железа с мочой в форме гематурии. Профилактики тромбозов подразумевает назначение антикоагулянтов.

Трансплантация костного мозга может иметь успех у больных ПНГ с тяжелой недостаточностью костного мозга, при условии, что возраст пациента не старше 45 лет и донор HLA-идентичен больному.

Большие надежды возлагаются на клеточную и генотерапию (вставка молекул на поверхность клетки или внедрение функционирующего PIG-A гена в гемопоэтические клетки-предшественники).

Иммunosупрессивная терапия с использованием антилимфоцитарного глобулина и/или циклоспорина может быть успешной альтернативной терапией синдрома недостаточности костного мозга.

Дефекты тромбомодулина

Тромбомодулин является ключевым белком-рецептором в системе антикоагулянта РС (см. главу I). К несчастью, он располагается в мембране эндотелиальных клеток, выстилающих сосудистую стенку, и его отсутствие в циркулирующей крови затрудняет исследования дефектов тромбомодулина в отношении тромботических заболеваний. Исследования в больших группах пациентов с тромбозами показали некоторые вариации последовательности, которые могут влиять на экспрессию или функции тромбомодулина. Семейные исследования являются не полными, нет данных об ассоциации этих мутаций с риском венозных тромбозов. Максимум, 5% пациентов с тромбозами могут иметь дефекты в одном из своих генов тромбомодулина. Тем не менее, есть несколько последних сообщений о мутациях тромбомодулина и полиморфизме, которые могут повышать риск артериальных тромбозов, особенно в комбинации с другими факторами риска. Однако необходимо подтверждение этих данных. Тем не менее, повышение уровня растворимого тромбомодулина в плазме (приобретенное) является в настоящее время одним из маркеров эндотелиального повреждения и, в частности, доклиническим маркером гестоза, наряду с клеточным фибронектином. Однако чрезвычайно широкий полиморфизм гена тромбомодулина до сих пор затрудняет использование уровня тромбомодулина в плазме в качестве достоверного маркера эндотелиопатии, поскольку вариации концентрации достаточно значительны у разных лиц в норме. Увеличение концентрации растворимого ТМ отмечено также в течение 24—48 часов после начала тромболитической терапии, а также при окислительном стрессе.

Ген ТМ расположен на 20-й паре хромосом. Это аутосомный ген без интронов, пока не обнаружен и псевдоген. Экспрессию ТМ *in vitro* регулируют TNF- α , эндотоксины, факторы роста, ц-АМФ, турбулентность тока крови и пр. Исследования ТМ-гена показали, что все ТМ-мутации связаны с расщеплением несоответствующей рестриктазой. У больных с острым тромбозомболизмом на сегодняшний день выявлено 8 точечных мутаций в ТМ-гене. Всего насчитывается до 16 мутаций, при этом не все связаны с тромбозомболизмом. Все до сих пор выявленные мутации ТМ гетерозиготные. Мутации возможны в различных участках гена ТМ и приводят к различным аминокислотным и нуклеотидным изменениям без изменения в аминокислотной последовательности.

Характерно, что дети с ТМ-мутациями не имеют тромботических проявлений. Возможно, дисфункция ТМ является дополнительным патогенетическим механизмом тромбозомболических проявлений.

Все вышесказанное свидетельствует о необходимости дальнейших исследований, прежде чем определение дисфункции ТМ и его генетических мутаций станет рутинным методом диагностики тромбофилии.

Ингибитор внешнего пути свертывания (TFPI)

TFPI является важнейшим естественным антикоагулянтом (см. главу I), что позволяет предположить высокий риск тромбозов в случае его мутации и/или дефицита. В связи с этим долгое время считалось, что врожденный дефицит TFPI не совместим с жизнью. Возможно, трудности детекции дефектов TFPI связаны еще и с тем, что большая фракция его связывается с гликозаминогликанами эндотелия, а более 80% циркулирующего в крови TFPI связывается с липопротеинами.

Тем не менее, есть одно сообщение о семье с тромбофилией с 2 сибсами с частичным TFPI дефицитом. Недавно Kleesink et al. (1999) сообщили о мутации (Pro151-Leu) в экзоне 7 TFPI гена, что можно считать возможным фактором риска. Тем не менее, необходимы более активные исследования.

Гликопротеин, богатый гистицином

Впервые гликопротеин, богатый гистицином (ГБГ) был изолирован из плазмы человека (Lijneu et al., 1980) и затем тромбоцитов (Leung et al., 1983). Исследования *in vitro* демонстрируют большую роль ГБГ в регуляции коагуляции и фибринолиза. ГБГ конкурирует за гепарин с АТ III и НС II, а также ингибирует связывание плазминогена с фибрином. Тем самым повышенный уровень ГБГ может способствовать тромбозу через повышенное тромбообразование и сниженную регуляцию фибринолиза.

ГБГ является мономерным гликопротеином с молекулярной массой 75 кДа, синтезируемым в печени. Он является белком острой фазы, который появляется в концентрации 100 ± 45 мг/л.

Как уже указывалось, Lijneu et al. (1984) обнаружил отрицательную корреляцию между уровнем ГБГ в плазме и антикоагулянтной активностью гепарина.

Взаимодействуя с высокоактивным связующим сайтом плазминогена, ГБГ также влияет на связывание плазминогена с фибрином. В зависимости от константы диссоциации реакции, около 50% ГБГ циркулирует в форме обратимых комплексов. ГБГ также может связываться с тромбоспондином и фибриногеном, а также может усиливать активацию плазминогена через инактиватор плазминогена тканевого типа. Ген ГБГ локализован на хромосоме 3q28-29. Молекула ГБГ содержит участки богатые гистицином и пролином. Богатый гистицином участок расположен между аминокислотными остатками 330 и 389 и представлен 12 последовательностями из 5 аминокислот. Около 50% последовательностей гомологичны богатому гистицином участку человеческого высокомолекулярного кининогена; они могут отвечать за связывание с гемом и ионами металлов. До сих пор еще не ясна природа полиморфизма, ответственного за высокий уровень ГБГ в плазме.

В 1987 году Engesser et al. описали случай повышенного уровня ГБГ у пациента с рецидивирующими венозными тромбозами и инфарктом миокарда. Четыре других члена его семьи, у которых в анамнезе были тромбозы, также имели повышенные уровни ГБГ в плазме. Подобные наблюдения позднее были опубликованы другими исследователями. Был установлен аутосомно-доминантный тип наследования. В трех семьях с венозными тромбозами и повышенным уровнем ГБГ также был обнаружен и повышенный уровень PAI-1 (Schved et al., 1993).

Один из интересных вариантов ГБГ-ассоциированных тромбозов описал Hoffman et al. в 1993 году. Он обнаружил аномально высокий уровень ГБГ в плазме у пациента с рецидивирующими артериальными тромбозами. Вариант ГБГ в этом случае был назван ГБГ-Eindhoven. Уровень ГБГ в этом случае превышал нормальные значения в 2,7 раза. Характерной особенностью было и нарушение связывания с гепарином АТ III, что подтвердилось исследованиями с использованием иммуноэлектрофореза.

Engesser et al. (1988) обнаружил повышенный уровень ГБГ в плазме у 5,9% из 203 пациентов с идиопатической тромбофилией. В последующих исследованиях 695 пациентов, у которых были исключены другие возможные причины тромбофилии, повышенные уровни ГБГ (>148%) обнаруживались у 10,8%. Семейное повышение уровня ГБГ отмечено у 3/10 обследованных семей с венозными и артериальными тромбозами. Boomsma et al. (1993) показали, что генетические дефекты опосредуют 69% вариаций уровней ГБГ плазмы. В основе генетического дефекта лежит Pro/Ser полиморфизм в остатке 186. Ser-форма связана с повышенным уровнем ГБГ в плазме. Около 59% вариаций уровней ГБГ могут быть связаны с этим полиморфизмом (Hennis et al., 1995). Тем не менее, повышенный уровень ГБГ в семи семьях, по данным Hennis et al. не сопровождался тромбозами.

Весьма интересно, что дефицит ГБГ (21% от нормального уровня) был описан у пациента с тромбозом правого поперечного синуса у пациентки на фоне приема ОК (Schigekiyo et al., 1993). У 4 других членов семьи также был обнаружен дефицит ГБГ, но клинически они были асимптоматичны. Позднее подобный случай с венозным тромбозом был описан Sonto et al. в 1996 году.

Механизм склонности к тромбозам при дефиците ГБГ еще не ясен.

Список литературы

1. Абасси Х., Мищенко А.Л. Рецидивирующий тромбоз у беременных с волчаночным антикоагулянтом. // Акушерство и гинекология, 1996 — № 6 — с.17—20.
2. Балуда В.П., Деянов И.И., Балуда М.В. Профилактика тромбозов. 1992. 175 с.
3. Балуда В.П., Деянов И.И., Балуда М.В., Киричук В.Ф., Язбурскити Г.Б. Профилактика тромбозов. Издательство Саратовского университета. 1992.
4. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. — Москва, Медицина, 1988. — 526с.
5. Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий. // Проблемы гематологии, 1996. — № 3. — С. 5—15.
6. Баркаган З.С. Патогенез, диагностика и принципы терапии ДВС-синдрома. // *Materia Medica*, 1997. — № 1(13). — с. 5—14.
7. Баркаган З.С., Лычев В.Г. Распознавание синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания: методология и экспертная оценка // Лаб. Дело, 1989. — № 7— с. 30—35.
8. Бицадзе В.О., Макацария А.Д. Патогенетическое обоснование и возможности применения низкомолекулярных гепаринов в акушерской практике. // Акушерство и гинекология, 1999, — № 2, — с. 37—41.
9. Воробьев А.И., Бувевич Е.И. Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза. // Барнаул, 2000г.
10. Зубаиров Д.М. Система свертывания крови и естественные антикоагулянты. // Казанский мед. ж., — 1994. — № 2. — с.136—154.
11. Зубаиров Д.М. Тромбофилии // Казанский мед. ж., 1996. — № 1. — с.1—5.
12. Зубаиров Д.М., Литвинов Р.И. Молекулярные маркеры активации гемостаза — проблемы физиологии и патологии гемостаза — (труды проблемной комиссии при Межведомственном Научном совете по гематологии и трансфузиологии РАМН). Барнаул 2000. С.111—118.
13. Макацария А.Д. Антифосфолипидный синдром М.: «РУССО», 2000. — 373 стр.
14. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. — М.: «РУССО», 2001. — 704 стр.
15. Макацария А.Д., Киселева-Романова Е.А., Кролл Ж.Б., Бухаева Я.Ш. Тромбофилические состояния в акушерской и гинекологической практике. // Материалы научного форума «Новые технологии в акушерстве и гинекологии», 1999г.
16. Момот А.П. Мембранная активация свертывания крови, маркеры тромбинемии при ДВС-синдроме (разработка и апробация новых диагностических тестов). // Диссертация ...д.м.н., Барнаул 1997.
17. Смирнова Л.М. Беременность и роды после протезирования клапанов сердца. // Дисс ... д. м.н., Москва 1994, 255с.
18. Acar J., Boissel J.P., lung B., et al. AREVA: multicenter randomised comparison of low-dose versus standart-dose anticoagulation in patients with mechanical prosthetic heart valves. // *Circulation*, 1996; 94: 2107—2112.
19. Aiach M., Borgel D., Gaussen P., Emmerich J., Alhenc-Gelas M., Gandrille S. Protein C and protein S deficiencies. // *Semin. Hematol.*, 1997; 34: 205—217.
20. Aiving B. Update on management of patients with acquired or inherited hypercoagulability. // *Comp. Ther.*, 1998; 24: 302—309.

21. Amowitz L.L., Komaroff A.L., Miletich J.P., Ridker P.M. Factor V Leiden is not a risk factor for myocardial infarction among young women. // *Blood* 1999; 93: 1432 (Letter).
22. Arruda V.R., von Zuben P.M., Chiaparini L.C., Annichino-Bizzacchi J.M., Costa F.F. The mutation Ala677Val in the methylene tetrahydrofolate reductase gene: a risk factor for arterial disease and venous thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 818—821.
23. Averhaus W., Ullerich H., Menzel J., et al. Budd-Chiari syndrome in a patient with factor V Leiden: successful treatment by TIPSS placement followed by a liver transplantation. // *Z. Gastroenterol.*, 1999; 37: 277.
24. Barbot J., Baldaque M., Lopes E., Lacerda M. Regional anesthesia in orthopedic patients receiving LMWH prophylaxis. Absence of spinal hematoma. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
25. Bates M., Shannon, Hirsh J. Treatment of venous thromboembolism. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999; Vol82, NO2, p. 870—878.
26. Bayston T.A., Lane D.A. Antithrombin: molecular basis of deficiency. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997; Vol78, NO1, p. 339—344.
27. Bertina R.M. Laboratory diagnosis of resistance to activated protein C (APC resistance). // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997; Vol78, NO1, p. 478—483.
28. Bertina R.M. Molecular risk factors for thrombosis. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 601—610.
29. Bick R.L., Frenkel E.P. Clinical aspects of heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis and other effects of heparin therapy. // *Clin. Appl. Thrombosis/Haemostasis*, 1999; 5: 87—815.
30. Bick Rodger L. Sticky platelet syndrome: a common cause of unexplained arterial and venous thrombosis. // *Clin. Appl. Thrombosis/Haemostasis*, 1998; 4(2): 77—81.
31. Bodnar E. Mechanical valves. In: Acar J., Bodnar E (eds). // *Textbook of Acquired Heart Valve Disease*. London: ICR, 1995; 965—1001.
32. Boers G.H.J. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for arterial and venous disease: a review of evidence and relevance. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78.э — N 1. — p. 520—523.
33. Bokarev I., Kiselyova Z., Ionova V., Lukichyova T. Cerebrovascular diseases and the intensity of continuous intravascular coagulation. 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
34. Borgel D., Gandrille S., Aiach M. Protein S deficiency. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 351—357.
35. Bovill E.G., Hasstedt S.J., Leppert M.F., Long G.L. Hereditary thrombophilia as a model for multigenic disease. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 662—667.
36. Brandjes D., Buller H., Heijboer H., et al. Randomized trial of effect of compression stockings in patients with symptomatic proximal-vein thrombosis. // *Lancet* 1997; 349: 759—762.
37. Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 634—641.
38. Brill-Edwards P., Lee A. D-dimer testing in the diagnosis of acute venous thromboembolism. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 688—693.
39. Brown K., Luddington R., Williamson D., et al. Risk of venous thromboembolism associated with a G to A transition at position 20210 in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 98: 907—909.

40. Campos M., Morais S., Cabeda J.M., Estevinho A., Pereira I., Justica B. Does coexistence of factor V Leiden mutation and a factor II variant (20210 G>A) lead to increased phenotype severity? // 16th International Congress on Thrombosis, Porto, May 2000.
41. Cannegieter S.C., Rosendaal F.R., Wintzen A.R., van der Meer F.J.M., Vanderbroeke J.P., Briet E. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 11—17.
42. Cannegieter S.C., Rosendaal F.R., Briet E. Thromboembolic and bleeding complications in patients with mechanical heart valve prostheses. // *Circulation*, 1994; 89: 635—641.
43. Ceberio I., Alberca I., Montes R., Lopes ML., Balanzategui A., Lecumberri R., Zabalegui N., Orbe J., Bueno H., Rocha E. Prevalence of factor V Leiden and the prothrombin variant 20210 G>A in patients with arterial thrombosis. 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
44. Cerebral Embolism Task Force. Cardiogenic brain embolism. The second report of the Cerebral Embolism Task Force. // *Arch. Neurol.*, 1989; 46: 727—743.
45. Cherukuri R., Haskal Z.J., Naji A., Shaked A. Percutaneous thrombolysis and stent placement for the treatment of portal vein thrombosis after liver transplantation: long-term follow-up. // *Transplantation*, 1998; 65: 1124.
46. Chesebro J.H., Fuster V. Optimal antithrombotic therapy for mechanical prosthetic heart valves. // *Circulation*, 1996; 94: 2055—2056.
47. Costen M.T., Donaldson W.B., Olson J.A. Acute central retinal vein occlusion successfully treated with intravenous thrombolysis. // *Br. J. Ophthalmol.*, 1999; 83: 1196.
48. Cumming A.M., Keeney S., Salden A., et al. The prothrombin gene G20210A variant: prevalence in a U.K. anticoagulant clinic population. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 98: 353—355.
49. Dahl O.E. Mechanisms of hypercoagulability. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N. 2 — p. 902—907.
50. Dahlback B. Activated protein C resistance and thrombosis: molecular mechanisms of hypercoagulable state due to FVR506Q mutation. // *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25. — N 3.
51. Dahlback B. Activated protein C resistance and thrombosis: molecular mechanisms of hypercoagulable state due to FV R506Q. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25—273.
52. Dahlback B. Inherited thrombophilia: Resistance to activated protein C as a pathogenic factor of venous thromboembolism. // *Blood*, 1995; 85: 607—614.
53. Dahlback B. Resistance to activated protein C caused by the factor V R 506Q mutation is a common risk factor for venous thrombosis. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 483—489.
54. Dahlman T.C. Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. // *Am. J. Obst. Gynecol.*, 1993; 168: 1265—1270.
55. De Moerloose P., Wutschert R., Heinzmann M., et al. Superficial vein thrombosis of lower limbs: influence of factor V Leiden, factor II G20210A and overweight. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 239.
56. Douketis J.D., Ginsberg J.S., Holbrook A., et al. A reevaluation of the risk for venous thromboembolism with the use of oral contraceptives and hormone replacement therapy. // *Arch. Intern. Med.* 1997; 157: 1522—1530.

57. Frenkel E.P., Bick R.L. Prothrombin G20210A gene mutation, heparin cofactor II defects, primary (essential) thrombocythemia, and thrombohemorrhagic manifestations. // *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25. — N 4.
58. Freyssinet J.M., Toti F., Hugel B., Gidon-Jeangirard C., Kunzelmann C., Martinez M.C., Meyer D. Apoptosis in vascular disease. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 727—736.
59. Gandra M.J., Fraga M., Saraiva J.P., Andrade J. High risk pregnancy and thromboembolic disease. 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
60. Genievskaya M., Makatsaria A. Low molecular weight heparin (Fraxiparine) as long-term single agent therapy in pregnant with antiphospholipid syndrome. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
61. Gimenez F., Gimenez M.J.I., Molina M.A., Garcia M.J., Clavero C. Mesenteric venous thrombosis in an heterozygous patient for 20210 a allele of prothrombin gene: description of a new case. 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
62. Ginsberg J.S. Thromboembolism and pregnancy. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 620—626.
63. Ginsberg J.S., Hirsh J. Use of antithrombotic agents during pregnancy. // *Chest* 1998; 114; 5248—5308.
64. Gohlke-Barwolf C., Acar J., Burckhardt D., et al. Guidelines for prevention of thromboembolic events in valvular heart disease. // *J. Heart. Valve Dis.*, 1993; 2: 398—410.
65. Goldhaber S.Z. Venous thromboembolism prophylaxis in medical patients. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 899—902.
66. Gouin-Thibault I., Samama M.M. Laboratory diagnosis of the thrombophilic state in cancer patients. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25: 167.
67. Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M., et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. // *JAMA* 1997; 277: 1775—1781.
68. Green D., Maliekel K., Sushko E., et al. Activated protein C resistance in cancer patients. // *Haemostasis*, 1997; 27: 112.
69. Green K.B., Silverstein R.L. Hypercoagulability in cancer. // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*, 1996; 10: 499.
70. Grendell J.H., Ockner R.K. Mesenteric venous thrombosis. // *Gastroenterology*, 1982; 82: 358.
71. Grodstein F., Stampfer M.J., Colditz G.A., et al. Postmenopausal hormone therapy and mortality. // *N. Engl. J. Med.* 1997; 336: 1769—1775.
72. Guba S.C., Fonseca V., Fink L.M. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25. — N 3.
73. Hessmer M.J., Luhm R.A., Pearson S.L., et al. Prevalence of prothrombin G20210A factor, FV G1691A (leiden) and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T in seven different population determined by multiplex allele-specific risk. // *Thomb. Haemost.*, 1999, 81, 733.
74. Hillmen P., Lewis S.M., Bressler M., et al. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 1253.
75. Huhle G., Hoffmann U., Liebe V., Harenberg J., Heene D.L. Time course of anti heparin-platelet factor 4 antibodies after acute heparin-induced thrombocytopenia type II. // 16th International Congress on Thrombosis, Porto, May 2000.

76. Jacques P.F., Selhub J., Bostom A.G., Wilson P.W., Rosenberg I.H. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 1449—1454.
77. Kaiser B., Kirchmaier C.M., Breddin H.K., Kaiding Fu., Jawed Fareed. Preclinical biochemistry and pharmacology of low molecular weight heparins in vivo-studies of venous and arterial thrombosis. // *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25, N 3.
78. Kakkar V., Breddin H., Hach V., Nakov R. Effect of different treatment regimens on markers of coagulation and thrombin generation in patients with deep vein thrombosis. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
79. Kandice Kottke-Marchant, Ralph Green, Jacobsen Donald W., Gupta A., Savon SR., Sestic M., Robinson K. High plasma homocysteine: a risk factor for arterial and venous thrombosis in patients with normal coagulation profiles. // *Clin. Appl. Thromb/Haemost.*, 1997; 3(4): 239—244.
80. Kearon C., Hersh J. Management of anticoagulation before and after elective surgery. // *N. Engl. L. Med.*, 1997; 336: 1506—1511.
81. Kiling Y., Sasmaz I., Antmen B., Tunger R. Protein C deficiency associated with portal and renal vein thrombosis. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
82. Kistler J.P., Singer D.E., Millenson M.M., et al. Effects of low intensity anticoagulation on level of activity of the hemostatic system in patients with atrial fibrillation. // *Stroke*, 1993; 24: 1360—1365.
83. Kitcens C.S. Thrombophilia and thrombosis in unusual sites. In: Colman W., Hirsh J., Marder V.J., Salzman E.W., eds. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*, 3rd ed. Philadelphia: // J. B. Lippincott Co., 1994.
84. Lane D.A., Kunz G., Olds R.J., Thein S.I. Molecular genetics of antithrombin deficiency. // *Blood Rev.*, 1996, 10: 59.
85. Larson J., Sellman A., Bauer B. Activated protein C resistance in patient with central vein occlusion. // *Br. J. Ophthalmol.*, 1997; 81: 832.
86. Lee A.Y.Y., Levine M.N. The thrombophilic state induced by therapeutic agents in the cancer patient. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25: 137.
87. Libourel E.J., Meinardi J.R., Ruiters M.H.J., Van Der Meer J. Protein C/S ratio an accurate and simple tool to identify carriers of protein C mutations. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
88. Low molecular weight heparin as thromboprophylaxis through pregnancy in heritable thrombophilic women. Letter to the editor. // *Clin. Appl. Thrombosis/Haemostasis*, 1999; 5(3): 198—199.
89. Lowe G. D.O., Rumley A. Use of fibrinogen and fibrin D-dimer in prediction of arterial thrombotic events. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 667—673.
90. MacMahon S., Peto R., Cutler G., et al. Blood pressure, stroke and coronary heart disease; part I., prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. // *Lancet*, 1990; 335: 765—774.
91. Maddrey W.C. Hepatic vein thrombosis (Budd-Chiari syndrome). // *Hepatology*, 1984; 4: 448.
92. Mahmoud A.E., Elias E., Beauchamp N., Wilde J.T. Prevalence of the factor V Leiden mutation in hepatic and portal vein thrombosis. // *Gut*, 1997; 40: 798.
93. Makatsaria A.D., Bitsadze V.O., Genievskaya M.G., Hamani I. Multigenic pattern of thrombophilia in pregnant with heart diseases and history of thrombosis. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.

94. Marcel Levi, Evert de Jonge, Tom van der Poll, Hugo ten Cate. Disseminated Intravascular Coagulation. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 695—706.
95. Martinelli I., Cattaneo M., Taioli E et al. Genetic risk factors for superficial vein thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 82: 1215.
96. Messmore H.L., Ramesh Kundur, W. Wehrmacher, P. Scanlon. Anticoagulant therapy of pregnant patients with prosthetic heart valves: rationale for a clinical trial of low molecular weight heparin. // *Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis*, 1999; 5(2): 73—77.
97. Miller V.T., Rothrock J.F., Pearce L.A., Feinberg W.M., Hart R.G., Anderson D.C. Ischaemic stroke in patients with atrial fibrillation: effect of aspirin according to stroke mechanism. // *Neurology*, 1993; 43: 32—36.
98. Monreal M., Prandoni P. Venous thromboembolism as first manifestation of cancer. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25: 131.
99. Nader H.B., Walenga J.M., Bercowits S.D., Ofosu F., Hoppensteadt D.A., Cella G. Preclinical differentiation of low molecular weight heparins. // *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25. — N 3.
100. Nicholson-Weller A., Spicer D.B., Austen K.F. Deficiency of the complement regulatory protein, «decay-accelerating factor», on membranes of granulocytes, monocytes and platelets in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. // *N. Engl. J. Med.*, 1985; 312: 1091.
101. Nygard O., Nordrehaug J.E., Refsum H., Ueland P.M., Farstad M., Vollset S.L. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. // *N. Engl. J. Med.* 1997; 337: 230—236.
102. O'Angelo A., Selhub J. Homocysteine and thrombotic disease. // *Blood* 1997; 90: 1—11.
103. Price D.T., Ridker P.M. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical prospective. // *Ann. Intern. Med.*, 1997; 127: 895.
104. Price D.T., Ridker P.M. Factor V Leiden mutation and the risks for thromboembolic disease: a clinical perspective. // *Ann. Intern. Med.* 1997; 127: 895—903.
105. Rached R.A., Horellou M.H., Elalamy I., Conard J., Samama M.M. Homozygous 20210A prothrombin mutation combined with heterozygous factor V Leiden mutation. Thrombotic consequences in 5 unrelated women. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
106. Rees D.C., Cox M., Clegg J.B. World distribution of factor V Leiden. // *Lancet*, 1995; 346—1133.
107. Reitsma P.H. Protein C deficiency: from gene defects to disease. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 344—351.
108. Ridker P.M., Glynn R.J., Miletich J.P., Goldhaber SZ, Stampfer MJ, Hennekens CH. Age-specific incidence rates of venous thromboembolism among heterozygous carriers of factor V Leiden mutation. // *Ann. Intern. Med.* 1997; 126: 528—531.
109. Ridker P.M., Hennekens C.H., Selhub J., et al. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. // *Circulation* 1997; 95: 1777—1782.
110. Ridker P.M., Miletich J.P., Hennekens C.H., Buring J.E. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women: implications for venous thromboembolism screening. // *JAMA* 1997; 277: 1305—1307.
111. Rietschei R.L., Lewis C.W., Simmons R.A., Philylyk R.L. Skin lesions in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. // *Arch. Dermatol.*, 1978; 114: 560.

112. Rizzoli R., Bonjour J.-P. Hormones and bones. // *Lancet* 1997; 349: 5120—5123.
113. Rosen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 523—527.
114. Rosendaal F.R. Risk factors in venous thrombotic disease. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999. — Vol. 82. — N 2. — p. 610—620.
115. Rosendaal F.R., Siscovick D.S., Schwartz S.M., et al. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increase the risk of myocardial infarction in young women. // *Blood*, 1997; 89: 2817.
116. Rosendaal F.R., Siscovick D.S., Schwartz S.M., et al. A common prothrombin variant (20210 G to A) increases the risk of myocardial infarction in young women. // *Blood* 1997; 90: 1747—1750.
117. Rosendaal F.R., Siscovick D.S., Schwartz S.M., et al. Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. // *Blood* 1997; 89: 2817—2821.
118. Rosendaal F.R. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction. // *Semin. Hematol.* 1997; 34: 171—187.
119. Saour J.N., Sieck J.O., Mamo L.A.R., Gallus A.S. Trial of different intensities of anticoagulation in patients with prosthetic heart valves. // *N. Engl. J. Med.*, 1990; 322: 428—432.
120. Sawamura R., Fernandes M.I., Galvao L.C., Goldani H.A. Report of two cases of children with Budd-Chiari syndrome successfully treated with streptokinase. // *Arq. Gastroenterol.*, 1996; 33: 179.
121. Sbarouni E., Oakley C.M. Outcome of pregnancy in women with valve prostheses. // *Br. Heart J.*, 1994; 71: 196—201.
122. Sbarouni E., Oakley C.M. Outcome of pregnancy in women with valve prostheses. // *Br. Heart J.*, 1994; 71: 196—201.
123. Scazzioti A., Pons S., Raimondi R., Fernandez C., Altman R. Is C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) a risk factor for arterial thrombosis? // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
124. Schambeck C.M., Schwender S., Haubitz I., Geisen U.E., Grossman R.E., Keller F. Selective screening for the factor V Leiden mutation: is it advisable prior to the prescription of oral contraceptives? // *Thromb. Haemost.* 1997; 78: 1480—1483.
125. Schroder W., Koessling M., Wulff K., et al. World distribution of factor V Leiden. // *Lancet*, 1996; 347:58.
126. Selhub J., Angelo A.D. Hyperhomocysteinemia and thrombosis: acquired conditions. *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 527—532.
127. Silva Pinto, Fidalgo T., Marques D., Tamagnini G. Hyperhomocysteinemia and methylene-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) mutations in patients with stroke. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
128. Simmonds R., Ireland H., Lane D., et al. Clarification of the risk for venous thrombosis associated with hereditary protein C deficiency by investigation of a large kindred with a characterized gene defect. // *Ann. Intern. Med.* 1998; 128: 8—14.
129. Tans G., Nicolas G.A.F., Rosing J. Regulation of thrombin formation by activated protein C effect of the factor V Leiden mutation. // *Semin. Hematol.*, 1997, 34—244.

130. Thomas D.P., Roberts H. Hypercoagulability in venous and arterial thrombosis. / *Ann. Intern. Med.* 1997; 126: 638—644.
131. Travlou A., Sigala F., Filis K., Koufos C., E. Papalambros, E. Bastounis. Thromboembolism and the role of platelets in heparin induced thrombocytopenia type II (HIT II). // 16th International Congress on Thrombosis, Porto, May 2000.
132. Trousseau A. Phlegmasia alba dolens. Clinique medical de l'Nobel Dieu de Paris. London. // The Now Sydenham Society, 1865.
133. Turkstra F., Koopman M.M.W., Buler H.R. The treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 489—497.
134. Umpleby H.C. Thrombosis of the superior mesenteric vein. // *Br. J. Surg.*, 1987; 74: 694.
135. Usui T., Kitano K., Midorikawa T et al. Budd-Chiari syndrome caused by hepatic vein thrombosis in a patient with myeloproliferative disorder. // *Intern. Med.*, 1996; 35: 871.
136. van Boven H.H., Lane O.A. Antithrombin and its inherited deficiency states. // *Semin. Hematol.* 1997; 34: 188—204.
137. Van der Meer F.J.M., Koster T., Vanderbroucke J.P., Briet E., Rosendaal F.R. The Leiden thrombophilia study (LETS). // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1997. — Vol. 78. — N 1. — p. 631—636.
138. Van Der Neut Kolschoten M., Driven R.J., Tans G., Rosengi J., Vos H.L., Bertina R.M. APC resistance and mutations in the APC cleavage sites of factor V. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
139. Verstrate M., Fuster V., Topol J. Cardiovascular thrombosis, Second edition: 1998.
140. Vinazzer H. Hereditary and acquired antithrombin deficiency. // *Seminars in thrombosis and hemostasis*, 1999. — Vol. 25. — N 3.
141. Vitali E., Donatelli F., Quaini E., Groppli G., Pellegrini A. Pregnancy in patients with mechanical prosthetic heart valves: our experience regarding 98 pregnancies in 57 patients. // *J. Cardiovasc.*, 1986; 27: 221—227.
142. Vooberg J., Roelse J., Koopman R., et al. Association of idiopathic thromboembolism with single point mutation at Arg506 of factor V. // *Lancet*, 1994; 343: 1535—1536.
143. Warkentin T.L., Sikov W.M., Lillicrap D.P. Multigenic induced skin necrosis complicating heparin-induced thrombocytopenia. // *Am. J. Hematol.*, 1999, 62—44.
144. Waselenko J.K., Nace M.C., Alving B.M. Women with thrombophilia: assessing the risks for thrombosis with oral contraceptives or hormone replacement therapy. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1998; 24(Suppl. 1): 33—39.
145. Wirchow R. Phlogose und Thrombose im Gefäßsystem in gesammelten Abhandlungen zur Wissenschaftlichen Medizin, Frankfurt, Germany: Staatsdruckerei 1856.
146. Zabalegui N., Montes R., Mestre T., Ceberio I., Lecumberri R., Franco I., Rocha E. Coagulation and fibrinolysis markers in healthy subjects and venous thrombosis patients carrying the G20210A variant of the prothrombin gene. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
147. Zoller B., Dahlback B. Linkage between inherited resistance to activated protein C and factor V gene mutation in venous thrombosis. // *Lancet*, 1994; 369: 1536—1538.

Глава III.

Антифосфолипидный синдром в акушерстве

Среди множества гетерогенных причин тромбофилических состояний и тромбозов важнейшее место занимает антифосфолипидный синдром (АФС) или, точнее, «антифосфолипидно-кофакторный» или «антифосфолипидно-протеиновый» синдром. Уже к 1997 году АФС вышел на первое место среди всех причин тромбозов (табл. 8).

Таблица 8.

Наиболее частые причины тромбозов, связанные с дефектами гемостаза.

1. АФС.
2. APC-R (мутация фактор V Leiden, мутация FV Cambridge, мутация FV Hong-Kong, мутация FV HR2-гаплотип).
3. Мутация протромбина G20210A.
4. Синдром липких тромбоцитов (SPS, sticky platelet syndrome).
5. Полиморфизм генов гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов.
6. Дефицит протеина C.
7. Дефицит AT III.
8. Дефицит протеина S.
9. Дефицит t-PA.
10. Полиморфизм гена PAI-1 и высокий уровень PAI-1.
11. Дефицит плазминогена.
12. Дефицит HC-II.
13. Wein-Penzing дефект.
14. Гипергомоцистеинемия.
15. Липопротеин А.

Будучи приобретенной, тромбофилия, обусловленная АФС, может существовать на протяжении длительного времени, осложнять течение различных патологических состояний, и потому по клиническим эффектам АФС может приравниваться к генетически обусловленным дефектам гемостаза, предрасполагающим к тромбозам. Кроме того, тромбофилия, обусловленная АФС, нередко сочетается с разнообразными, в том числе и мультигенными причинами тромбофилий, что существенно утяжеляет течение различных болезней, вызывая декомпенсацию гемостаза в виде тромботических и тромбо-геморрагических осложнений.

В акушерской практике АФС до последнего времени больше ассоциировался с привычным невынашиванием беременности, задержкой внутриутробного развития плода, внутриутробной гибелью плода. Однако данные последних лет свидетельствуют о значительно большей роли АФС в патогенезе разнообразных болезней человека (табл. 9), среди которых первое место принадлежит тромбозам, поэтому АФС представляет на сегодняшний день общемедицинскую мультидисциплинарную проблему.

Таблица 9.

Патологические состояния, связанные с антифосфолипидными антителами.

- СКВ
- другие аутоиммунные заболевания и заболевания соединительной ткани

- системный васкулит, болезнь Крона
- лекарственно обусловленная циркуляция АФА

Злокачественные новообразования:

- лейкемия
- лимфопролиферативные расстройства
- солидный рак

Инфекции:

- вирусная
 - бактериальная
 - протозоальная
 - грибковая
- (сифилис/болезнь Лайма, ВИЧ, гепатит С, цитомегаловирус, микоплазма и пр.)

Неврологические расстройства

Заболевания печени

Заболевания клапанов сердца

Заболевания периферических артерий

Хроническая почечная недостаточность

Асимптоматическая циркуляция АФА

На сегодняшний день под антифосфолипидным синдромом (АФС) понимают симптомокомплекс, сочетающий определенные клинические признаки и лабораторные данные, — наличие антифосфолипидных антител в сочетании с артериальными и венозными тромбозами, синдромом потери плода, иммунной тромбоцитопенией и/или неврологическими расстройствами.

Синдром может проявляться одним или одновременно несколькими клиническими признаками — вплоть до развития так называемой катастрофической формы АФС, характеризующейся острой мультиорганной недостаточностью, наминающей таковую при ДВС-синдроме с развитием острого респираторного дистресс-синдрома, поражением ЦНС (инсульт, ступор, дезориентация), инфарктами миокарда и гастроинтестинальных органов, надпочечниковой недостаточностью и пр.

Особо следует отметить, что термин «антифосфолипидный синдром» правомочен только при сочетании лабораторных признаков циркуляции АФА и одного или более клинических проявлений. Трудности диагностики АФС, с которыми сталкивались исследователи и клинические врачи, предопределили необходимость создания критериев диагностики АФС, которые представлены в табл. 10.

Таблица 10.

Предварительные классификационные критерии АФС.

<p><i>Клинические критерии</i></p> <p>— сосудистый тромбоз</p>	<p>Один или более случаев</p> <ul style="list-style-type: none"> — артериального, или — венозного, или — тромбоз мелких сосудов, в любом органе или ткани, подтвержденный УЗИ, доплеровским исследованием или гистологически. Для гистологического подтверждения тромбоза не должно быть значительных воспалительных изменений в стенке сосуда.
<p>— патология беременности</p>	<ul style="list-style-type: none"> — 3 и более необъяснимых последовательных прерываний беременности с исключением анатомических, генетических, гормональных причин, или — 1 и более необъяснимые смерти морфологически нормального плода в сроках более 10 недель, или

	— 1 и более недоношенный ребенок или морфологически нормальный новорожденный, рожденный до 34 недель гестации, протекающей с тяжелым гестозом или тяжелой плацентарной недостаточностью.
Лабораторные критерии — антикардиолипиновые антитела	— наличие изотипов IgG и IgM в — средних или высоких титрах — в 2 и более случаях, 6 недель и более спустя, и — измерения стандартизованным ELISA β 2GP1-зависимыми кардиолипиновыми антителами.
— Волчаночный антикоагулянт	Обнаруживаются в плазме в — 2 и более случаях с 6-недельным промежутком — определение ВА в соответствии с рекомендацией субкомитета по ВА Международного Общества по тромбозу и гемостазу (см. ниже) фосфолипид-зависимых антител.
	Исключение других коагулопатий, (ингибитор фактора VIII и др.) и гепарина.

Условно АФС подразделяют на первичный и вторичный: АФС на фоне аутоиммунных болезней (как СКВ, ревматоидный артрит) и др. заболеваний соединительной ткани считается вторичным, в то время как в отсутствии СКВ и др. аутоиммунных заболеваний и болезней соединительной ткани, считается первичным.

Данные о частоте АФА в общей популяции весьма разноречивы. Во многом это связано с существующей долгое время путаницей в лабораторной диагностике и отсутствием критериев диагностики циркуляции АФА, а с другой стороны — от применяемых статистических критериев. Отмечено, что частота АФА в общей и кавказской популяции неодинакова и выше в кавказской популяции. Тем не менее, большинство исследований показало, что циркуляция АФА наблюдается у 2—4% здоровых беременных женщин, равно как и у здоровых небеременных. При этом следует отметить, что у женщин АФА обнаруживаются в 2—5 раз чаще, чем у мужчин, хотя возможно, это связано с тем, что один из главных признаков АФС — привычное невынашивание — критерий, характерный исключительно для женщин, чаще всего является причиной выявления АФА.

Частота АФА циркуляции повышается с возрастом, а также при наличии инфекций, иммунодефицитных состояний, приеме некоторых лекарственных препаратов. Описаны случаи АФС у членов одной семьи и связь между циркуляцией АФА и носительством некоторых генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГС), а также генетическими дефектами системы комплемента.

Клиническая картина при АФС весьма разнообразна (табл. 11).

Таблица 11.

Клинические проявления АФС.

ЦНС.

- Хорея.
- Мигрень.
- Психоз.
- Эпилепсия.
- ТИА /инсульты.
- Гипоперфузия.
- Нейросенсорная потеря слуха.
- Поперечная миелопатия.
- Когнитивные расстройства.

Псевдоопухоль мозга.
Тромбозы церебральных вен/артерий.
Тромбозы сосудов сетчатки.
Синдром подобный рассеянному склерозу.

Гастроинтестинальные.

Печеночный некроз.
Некалькулезный холецистит.
Синдром Бадда-Киари.
Интестинальная ишемия.

Сосудистые.

Атеросклероз.
Болезни клапанов сердца.
Острый инфаркт миокарда.
Неудачные результаты ангиопластики.
Диастолические нарушения. Внутрисердечный тромбоз.
Кардиомиопатия.
Болезнь Бюргера (облитерирующий тромбоангиит).

Кожные.

Сетчатое ливедо (Livedo reticularis).
Кожные изъязвления. Болезнь Диего.
Подногтевые геморрагии.
Поверхностные тромбофлебиты.
Дистальная кожная ишемия (acroцианоз).
Гангреноподобные повреждения кожи.
Некроз кожи.
Костные.
Аваскулярный остеонекроз.
Некроз костного мозга.

Почечные.

Гломерулярный тромбоз.
Стеноз почечной артерии.
Почечная недостаточность.
Тромбоз почечной вены / артерии.

Легочные.

Легочный эмболизм.
Легочная гипертензия.
Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС).

Эндокринные.

Надпочечниковая недостаточность.
Гипопитуитаризм.

Гематологические.

Тромбоцитопения.
Аутоиммунная гемолитическая анемия.
Лейкопения.

Акушерские.

Привычное невынашивание.
Гестозы.
Внутриутробная задержка развития плода.
HELLP-синдром.
Неудачные попытки ЭКО и искусственного осеменения.
Послеродовый плевропальмональный синдром.

Катастрофический АФС.

Мультиорганный недостаточность.

АФС ассоциируется с различными венозными и артериальными тромбозами, а также тромбоемболическими осложнениями. К ним относятся ТГВ верхних и нижних конечностей, ТЭЛ, тромбозы внутричерепных вен, верхней и нижней полых вен, печеночной вены (синдром Бадда-Киари), почечной и ретинальной вен. Артериальные тромбозы, чаще связанные с АКА, локализуются в коронарных, сонных, церебральных, ретинальных, подключичных и/или аксиллярных артериях (синдром дуги аорты), а также в мезентериальной артерии, периферических артериях конечностей, а также в проксимальном и дистальном участках аорты.

Учитывая все многообразие клинических проявлений АФС, обусловленных артериальными и венозными тромбозами от микро- до макротромбозов, встал вопрос о классификации тромбозов, обусловленных АФС, которая и была разработана R.L. Bick в 1997 году.

Подклассификация типов тромбозов имеет большое значение для выбора терапии. Больных обычно включают в одну из 6 подгрупп:

Тип 1 включает тромбозы глубоких вен верхних и нижних конечностей, нижней полой вены, печеночных и почечных вен и/или легочную эмболию.

Тип 2 включает артериальные тромбозы, в том числе коронарных артерий, периферических артерий и аорты.

Тип 3 включает ретинальные и церебральные сосудистые тромбозы.

Тип 4 — сочетание вышеуказанных форм.

Тип 5 — АФА с повторяющимся невынашиванием беременности. Самопроизвольные аборты чаще в первом триместре. Плацентарный васкулит или сосудистый тромбоз может иметь место в сочетании с тромбоцитопенией у матери.

Тип 6 — циркуляция АФА без клинических манифестаций.

Bick R.L. и соавторы предложили и противотромботический режим при тромботическом синдроме, связанном с АФС для каждого типа тромбоза (табл. 12).

Таблица 12.

Противотромботический режим при тромботическом синдроме, связанном с АФС.

Тип 1.

Лечение в острую фазу гепарином/НМГ, далее длительное применение свиного гепарина/НМГ подкожно.

Тип 2.

Лечение в острую фазу гепарином/НМГ, далее длительное применение свиного гепарина/НМГ подкожно.

Тип 3.

Цереброваскулярный.

Длительная антиагрегантная терапия (аспирин/пентоксифиллин) + длительное применение свиного гепарина/НМГ.

Ретинальный.

Пентоксифиллин; в ряде случаев при недостаточности такой терапии добавляют длительно п/к свиной гепарин/НМГ.

Тип 4.

Терапия зависит от типа(ов) и места тромбозов (см. выше).

Тип 5 (синдром потери плода).

Аспирин в низких дозах (75—81 мг) до зачатия и добавление свиного гепарина в фиксированной низкой дозе по 5000 ЕД каждые 12 часов п/к после зачатия.

Тип 6.

Нет четких показаний к анти тромботической терапии.

Таким образом, очевидно, что больные с АФА и тромботическим синдромом требуют длительной противотромботической терапии. Терапия должна прекращаться, если АФА постоянно отсутствуют на протяжении 6 месяцев. Тем не менее, по истечении 6 месяцев, еще раз оценивается риск возвратных тромбозов и риск

продолжения антитромботической терапии (остеопороз, алопеция, аллергические реакции, доброкачественная трансаминаземия, доброкачественная эозинофилия). Особо следует контролировать количество тромбоцитов при назначении гепарина во избежание развития тяжелейшего ятрогенного тромбоза — гепарин-индуцированного тромбоза и тромбоцитопении. В большинстве случаев больным по окончании лечения гепарином/НМГ рекомендуется длительное применение аспирина в малых дозах (75—81 мг/день).

В последнее время в связи с широким применением исследований, выявляющих циркуляцию АФА, постепенно стало выясняться, что первичный АФС встречается гораздо чаще, чем это предполагалось. Учитывая, что АФС занимает первое место среди причин тромбозов, эпизоды тромбозов на фоне терапии ОК, в послеоперационном периоде, при иммобилизации и других предрасполагающих факторах, а также рецидивирующие тромбозы и тромбоэмболии или множественность мест поражения должны насторожить врача-клинициста в отношении возможного наличия АФС. Не менее ярким проявлением АФС являются неудачи, связанные с терапией непрямыми антикоагулянтами после тромбоза, которые проявляются ретромбозами.

АФА и сердечно-сосудистые проявления

По последним данным АКА играют значительную, и возможно, ведущую роль в возникновении первичных/преждевременных заболеваний коронарных артерий: они выявляются более чем у 70% пациентов в молодом возрасте с болезнью коронарных артерий. Было обнаружено, что 33% пациентов с обходным шунтированием коронарных артерий страдали поздней окклюзией пересаженных сосудов (определено при коронарной ангиографии через 12 месяцев после операции шунтирования). При этом предоперационный уровень АКА у этих больных был в 2 раза выше, чем в контрольной группе.

Согласно данным Vaarala et al. высокий уровень АКА является независимым фактором риска инфаркта миокарда (ИМ). При этом независимо от таких факторов, как возраст, курение, систолическое АД, соотношение ЛНП и ЛВП, относительный риск инфаркта миокарда у пациентов с высоким уровнем АКА составляет 2,0 по сравнению с общей популяцией. В то же время известно, что существует корреляция между уровнем АКА и окисленных ЛНП, что может оказывать дополнительный эффект на риск ИМ. Антитела к окисленным ЛНП принимают участие в прогрессировании каротидного атеросклероза. Возможно, что частично эффекты АФА опосредуются и через перекрестное реагирование с антителами против окисленных ЛНП.

Следует отметить, что, несмотря на то, что высокий уровень АКА является независимым фактором риска ИМ, реальная частота ИМ у пациентов с АФС, тем не менее, относительно низка и колеблется от 0 до 7%. В то же время по данным Hamsten et al. у молодых пациентов с АФА, до 45 лет перенесших ИМ, риск повторных тромбозов довольно высок: у 8 из 13 пациентов с высоким уровнем АФА развились повторные кардиоваскулярные тромбозы. Тромбозы включали церебральный инфаркт, артериальную окклюзию нижних конечностей и тромбоз глубоких вен.

В последние годы существует мнение, что АФА, циркулирующие у пациентов с ИМ обладают «узкой спецификой». Возможно, что АФА возникают в результате системного артериального воспалительного процесса и являются частью аутоиммунного ответа на появление различных антигенов, модифицируемых атеросклеротической сосудистой стенкой. Более того, согласно последним исследованиям George et al., β_2 -GPI обладает проатеросклеротическим эффектом, следовательно, возможно вскоре будет развиться модель иммуно-опосредованного атеросклероза.

Таким образом, АФА ассоциируется с риском инфаркта миокарда. Присутствие же дополнительных факторов риска, как атеросклероз, гипертензия, курение и пр. рассматривается как множественный фактор риска ИМ.

Особый интерес представляют патологические изменения клапанов сердца у больных с АФС. Заболевания сердца у больных с СКВ, как правило, связаны с клапанными вегетациями, регургитацией и стенозом. Более чем у 89% больных с СКВ и клапанными нарушениями выявляются АФА и только у 44% АФА выявляются без поражения клапанов. Характерно, что клапанные аномалии отмечаются и у 36% больных с первичным АФС. Аномалия клапанов при первичном АФС характеризуется значительным нерегулярным утолщением митрального и аортального клапанов, клапанной регургитацией (но не стенозом), потенциально тяжелой гемодинамической недостаточностью и, что удивительно, отсутствием клапанных тромбов.

У пациентов с СКВ и АФА отмечается вальвулит аортального и митрального клапанов, в том числе и типичный бородавчатый эндокардит Либмана-Сакса, а также изолированная дисфункция левого желудочка.

Кардиологические клинические проявления у пациентов с АФС обнаруживаются при аускультации, эхокардиографии или аутопсии. При этом у 4—6% пациентов с СКВ или «первичным» АФС выявляется выраженная митральная или аортальная регургитация, требующая более чем у половины из них хирургической коррекции и протезирования клапана.

Для выраженной клапанной регургитации характерны симптомы застойной сердечной недостаточности (быстрая утомляемость, одышка и ортопноэ), часто выслушиваются шумы в сердце. В ряде случаев возникает необходимость в дифференциальном диагнозе с вальвулитом в связи с ревматической лихорадкой и инфекционным эндокардитом (табл. 13).

Таблица 13.

Дифференциальный диагноз между АФА-обусловленным поражением клапанов, ревматической лихорадкой и инфекционным эндокардитом.

Проявления	АФА	Ревматическая лихорадка	Инфекционный эндокардит
Лихорадка	+/-	+/-	+
Лейкоцитоз	—	—	+
С-реактивный белок	—	—	+
Культура крови/серология	—	—	+
АФА	+	—	—
Эхокардиография	Обычно диффузное утолщение клапана		

Помимо непосредственно кардиальных осложнений у пациентов с АФА и поражением клапанного аппарата сердца, другой проблемой у них являются цереброваскулярные осложнения эмболического характера в форме транзиторных ишемических атак, инсультов и мультиинфарктной деменции. Так, по данным APASS (Antiphospholipid Antibodies in Stroke Study) у 1/3 пациентов с высоким уровнем АКА, перенесших инсульт, были обнаружены аномалии при эхокардиографии.

Учитывая вышеперечисленное, эхография с доплеровским исследованием обязательны у больных с АФА и артериальным тромбозом.

Неврологические проявления АФС

Для АФС весьма характерно вовлечение ЦНС у большинства пациентов. Клинические проявления при этом довольно разнообразны и включают артериальные и венозные тромбозы, психиатрические проявления и ряд невроло-

гических синдромов нетромботического характера (табл. 14). Возможно, столь широкая палитра неврологических проявлений АФС объясняется отчасти тем, что ткани мозга чрезвычайно богаты фосфолипидами. Выраженность нарушений ЦНС, включая кому, припадки *grand mal*, психозы, аффективные и когнитивные расстройства, а также фокальные симптомы, зависит от области и объема поражения мозга.

Таблица 14.

Неврологические проявления АФС.

Относительно молодой возраст (обычно менее 55 лет).

Один или более эпизодов из следующих:

- сосудистая деменция
- церебральный инфаркт
- преходящее нарушение мозгового кровообращения
- преходящая слепота
- миелопатия

Острая ишемическая энцефалопатия.

Синдром Sneddon — прогрессирующая деменция и сетчатое *livedo*.

Церебральная ишемия на фоне АФС чаще всего имеет тромботический или тромбоэмболический генез и часто носит рецидивирующий характер. Первый эпизод церебральной ишемии обычно возникает в молодом возрасте (до 55 лет).

Рецидивирующие инсульты у пациентов с сетчатым *livedo* (синдром Снеддона) на фоне циркуляции АФА могут вести и к прогрессирующей деменции. Частота циркуляции АФА у пациентов с синдромом Снеддона колеблется в широких пределах от 0 до 85%. Деменция развивается чаще при множественных инфарктах. Однако возможно развитие деменции при АФС без других проявлений синдрома Снеддона. Так, для катастрофического АФС характерны множественные инфаркты и фульминантная энцефалопатия, которая развивается, по данным Asherson, у 50% пациентов с катастрофическим АФС.

Среди когнитивных расстройств для пациентов с АФС характерны нарушения вербальной памяти, психомоторные нарушения и пр.

Психические расстройства в форме психозов являются одними из наиболее загадочных манифестаций АФС. В то же время следует отметить, что существует мнение о ятрогенном генезе психических нарушений у пациентов с АФС. Так, кортикостероиды, которые в некоторых случаях применяются при лечении АФС, могут индуцировать психические расстройства уже сами по себе. Эти расстройства могут включать депрессию, гипоманию и, в меньшей степени, психозы.

Тем не менее, АФА обнаруживаются с высокой частотой у пациентов с невропсихическими проявлениями СКВ. Целый ряд проявлений со стороны ЦНС у пациентов с циркуляцией АФА, как уже указывалось, возможно, связан с прямым взаимодействием АФА с фосфолипидами тканей мозга и в меньшей мере — со следствием тромботических процессов в сосудах мозга. К таким проявлениям, вероятно, относятся поперечная миелопатия, хорей, эпилептиформные припадки и, в меньшей степени, мигрень, которая клинически может сопровождаться аурой. Тем не менее, согласно некоторым исследованиям мигрень у пациентов с АФА может вести к ишемии мозга тромботического характера.

В то же время ряд таких неврологических проявлений как нейросенсорная глухота, транзиторная глобальная амнезия и глазные синдромы в основном имеют ишемический генез в результате тромбозов.

Таким образом, клинические проявления со стороны ЦНС у пациентов с циркуляцией АФА еще раз подтверждают гетерогенность антифосфолипидных антител, а также существование разнообразных механизмов их постоянного эффекта, что требует дальнейшего более глубокого изучения.

АФА и кожные манифестации

АФА могут ассоциироваться с различными кожными проявлениями, среди которых особое место занимает так называемое сетчатое ливедо (*livedo reticularis*) — необычное проявление стаза в кожных сосудах, характеризующееся отдельными участками цианоза. Эти кожные проявления часто сочетаются с рецидивирующими артериальными и венозными тромбозами, патологией клапанов и цереброваскулярными тромбозами с сопутствующей эссенциальной гипертензией (синдром Sneddon). Другие кожные проявления могут включать возвратные ТГВ, некротизирующую пурпуру, застойные язвы в области голеностопного сустава. Болезнь Диего (редкая форма мультисистемной васкулопатии), которая характеризуется коллагеновыми некрозами кожи, атрофией эпидермиса с отсутствием воспалительных клеток, при наличии АФА осложняется церебральными и кишечными инфарктами.

Кожные проявления, кроме всего прочего, могут включать также и периферическую гангрену, некротизирующую пурпуру, геморрагии (экхимозы или гематомы), и весьма своеобразное проявление — изъязвления в области ногтевого ложа.

Гангрена пальцев — хорошо известное проявление у пациентов с АФС. Процесс начинается с появления эритематозной макулы, цианоза или некроза кожи. Довольно характерно при этом наличие дополнительных факторов, повышающих риск некроза кожи и гангрены — курение, гипертензия или прием оральных контрацептивов. При ангиографии часто обнаруживается окклюзия или выраженный стеноз сосудов среднего или большого калибра.

В некоторых случаях развивается выраженный поверхностный некроз кожи (3%), в основном распространяющийся на область конечностей и ягодиц.

Характерной гистопатологической особенностью поражений кожи у больных с АФС является наличие невоспалительных тромбозов артерий и вен малого калибра дермы и гиподермы.

Имеет место пролиферация эндотелиальных клеток и фиброгиалиноз сосудистой стенки. Характерно отсутствие васкулита.

Кожные проявления могут стать первой клинической манифестацией АФС (41%): более чем у трети этих пациентов развиваются мультисистемные тромботические проявления.

Другие заболевания и АФА

Повышенный уровень АФА наблюдается при целом ряде инфекций, в том числе при ВИЧ-инфекции с/без тромбоцитопенической пурпуры, а также при орнитозах, микоплазменной инфекции, аденовирусной инфекции, краснухе, ветряной оспе, малярии, болезни Лайма, эпидемическом паротите.

АФА могут часто обнаруживаться у больных с другими аутоиммунными заболеваниями, помимо СКВ. Имеются сообщения о пациентах со смешанными заболеваниями соединительной ткани, ревматоидным артритом, синдромом Шёгрена, синдромом Бехчета и аутоиммунной тромбоцитопенической пурпурой. Тем не менее, большинство пациентов с АФА-индуцированным тромбозом имеют первичный АФС без лежащего в основе аутоиммунного заболевания. Следует иметь в виду, что АФА могут появляться в результате ятрогенных причин. Целый ряд лекарственных препаратов могут вызывать появление АФА. К таковым в настоящее время относят:

1. Фенитонин
2. Фанзидар
3. Хинидин
4. Хинин
5. Гидралазин
6. Прокаинамид

7. Фенотиазины
8. α -интерферон
9. Кокаин

Перечень этих препаратов постоянно пополняется, и стало известно, что некоторые антибиотики также могут вызывать появление АФА.

Пациенты с воспалительными заболеваниями кишечника (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит) также предрасположены к тромбозам на фоне циркулирующих АФА.

В последние годы все большее внимание исследователей привлекают поражения почек в рамках АФС. Хорошо известно, что почки являются органами-мишенями для АФА, что, по-видимому, связано с тем, что почки, как и мозг, чрезвычайно богаты фосфолипидами. А поскольку АФС впервые был описан у пациентов с СКВ, то и исследования, в основном, были сфокусированы скорее на гломерулонефрите, опосредованном действием иммунных комплексов, нежели на сосудистых повреждениях почек, которые рассматривались как вторичное к гломерулонефриту явление.

Тем не менее, в последние годы в связи с успехами в понимании патогенетических механизмов АФС стало ясно, что поражение сосудов как большого калибра (артериальных и венозных), так и интрапаренхиматозных артерий и микрососудов играют важнейшую роль в клинике почечных расстройств (табл. 15).

Таблица 15.

Поражение почечных сосудов при АФС.

Сосудистые поражения	Клинические проявления
Поражение почечной артерии (ствол или бифуркация). Тромбоз/окклюзия/стеноз	Реноваскулярная гипертензия (тяжелая) Инфаркты почек (боли, гематурия)
Тромбоз гломерулярных капилляров, способствующий гломерулосклерозу	Формирование почечной недостаточности
Почечная тромботическая микроангиопатия (гломерулярные капилляры, восходящие артериолы и интерлобулярные артерии) с/без фокальным или диффузным некрозом (кортикальный некроз).	Системная гипертензия (обычно тяжелая). Почечная недостаточность (от средней выраженности до тяжелой) Протеинурия (от средней до нефротического синдрома). Кортикальная атрофия.
Тромбоз почечной вены (односторонний или двусторонний)	Почечная недостаточность.

Окклюзия сосудов большого и среднего калибра может ассоциироваться как с СКВ, так и с первичным АФС. В клинической практике тяжелая системная гипертензия, боли в области почек, гематурия и почечная недостаточность являются чаще всего проявлением вовлечения сосуда большого калибра у пациентов с АФС. Участки инфаркта почки обычно обнаруживаются при компьютерной томографии. Обнаружение стеноза почечной артерии также не исключает АФС.

Успешные результаты дает, по данным многих исследователей, лечение антигипертензивными препаратами, аспирином, антикоагулянтная терапия, а также транслюминальная ангиопластика.

Хотя впервые тромботическая микроангиопатия (ТМА) почек была описана у пациентов с СКВ, она более характерна для первичного АФС. Kincaid-Smith et al. описали ТМА у 12 беременных с ВА и почечной недостаточностью, развившейся во время беременности. Дальнейшие исследования биопсий показали, что ТМА охватывает и сосудистую, и гломерулярную зоны почек. Обнаруживались свежие и реканализированные тромбы, участки острого повреждения перемежались с хро-

ническими. При ультраструктурном исследовании обнаруживались субэндотелиальные депозиты и ишемические изменения клубочков в отсутствие гистологических и иммуногистохимических признаков СКВ. Следовательно, первичный АФС в зависимости от степени поражения сосудов почек может проявляться изолированной гипертензией, выраженной протеинурией и почечной недостаточностью, включая корковый некроз. В хронических случаях обнаруживаются фиброз и фокальная атрофия наряду с артериальной и артериоларной мышечно-фиброзной гиперплазией.

Таким образом, ТМА является характерным поражением микрососудов у пациентов с первичным АФС и нефропатией. «Невоспалительная» васкулопатия с/без тромбоза («АФС-васкулопатия») более характерна для сосудов большого калибра. Тем не менее, как уже указывалось, ТМА весьма характерна для первичного АФС, он, конечно же, не является патогномичным признаком: целый ряд других состояний также могут сопровождаться ТМА (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура, гемолитико-уремический синдром, послеродовая почечная недостаточность, гестоз, оральная контрацепция, химиотерапия, склеродермия, злокачественная артериальная гипертензия и пр.).

Окклюзия отдельных сосудов малого калибра почечной паренхимы ведет к образованию небольших участков коркового некроза. В основном эти изменения асимптоматичны, однако, если они имеют множественный или генерализованный характер, возможно развитие тотального или диффузного коркового некроза, который чаще развивается при катастрофической форме АФС.

У пациентов с корковой ишемией за исключением гипертензии может не быть никаких других проявлений поражения почек.

Несмотря на немногочисленность исследований, появились результаты исследований о наличии АФА у пациентов с декомпенсированной почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе. По данным Brunet et al., из 97 гемодиализных пациентов у 31% были обнаружены АФА (у 16,5% — ВА и у 15,5% — АКА) у пациентов с неясной причиной почечной недостаточности. При анализе же связи между сосудистыми тромбозами и АФА у этих пациентов была выявлена тесная корреляция с циркуляцией ВА (62% против 26% $P=0,01$), но не с АКА.

Важной проблемой у пациентов с циркуляцией АФА и почечной недостаточностью является успешная трансплантация почки. Хотя на сегодняшний день еще мало наблюдений, тем не менее, появились сообщения о высокой частоте ренальных тромбозов после трансплантации. Согласно различным данным, тромбозы развиваются в течение 1 недели — 1 года. В связи с этим открытым остается вопрос об эффективном ведении больных с АФА после операции. В мировой литературе встречаются единичные сообщения об успешной ретрансплантации после отторжения почечного аллографта в результате тромбоза почечной артерии на фоне полной антикоагуляции, несмотря на наличие кровотечения в послеоперационном периоде. Таким образом, в настоящее время не вызывает сомнений, что почки являются одним из наиболее «заинтересованных» органов-мишеней для АФА. При этом часто характерной нефропатией при первичном АФС является тромботическая микроангиопатия. Однако помимо сосудов малого калибра, в патологический процесс могут вовлекаться любые другие сосуды почек, включая сосуды клубочков, артериолы и паренхиматозные артерии, а также вены. Проявления поражений почек также чрезвычайно разнообразны: от асимптоматичных до декомпенсированной почечной недостаточности.

Легочная гипертензия и АФА

Легочную гипертензию определяют как повышение давления в легочной артерии более 25 мм рт. ст. После многолетних дебатов в научном мире относительно классификации легочной гипертензии на сегодняшний день пришли к зак-

лучению, что ЛГ классифицируется в соответствии с тремя аспектами: анатомическая локализация сосудистого расстройства, наличие или отсутствие ассоциированного с ЛГ заболевания, а также степень выраженности ЛГ, коррелирующая с сокращением сердечного выброса (табл. 16). Долгое время не существовало и единого мнения о первичной легочной гипертензии (ПЛГ). Обычно ПЛГ можно подозревать при отсутствии видимых причин, вызывающих ЛГ, в частности хронических причин гипоксии, левожелудочковой недостаточности и рецидивирующего легочного эмболизма; при этом часто плексогенная артериопатия обнаруживается при гистологическом исследовании легких. Последние исследования показали важную роль таких повреждающих факторов, таких как: дисбаланс вазоактивных агентов (дефицит NO простаглицлиносинтегазы с одновременным усилением экспрессии эндотелина-1, сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF)), аномалии K⁺-каналов и пр. Таким образом, ПЛГ часто определяют как «необъяснимую». В последние годы появились сообщения о роли АФА в генезе «необъяснимой» легочной гипертензии.

Таблица 16

Классификация легочной гипертензии.

Артериальная легочная гипертензия (изменения в прекапиллярных артериях).

- «первичная» артериальная ЛГ
- вторичная артериальная ЛГ (склеродермия, смешанные заболевания соединительной ткани и др. заболевания соединительной ткани, врожденные пороки сердца, порталная гипертензия, ВИЧ, аноректические препараты, кокаин и пр.)

Посткапиллярная легочная гипертензия (изменения в легочных венах).

- левосторонняя сердечная недостаточность
- редко: легочные вено-окклюзивные заболевания, хронический склерозирующий медиастинит, врожденные аномалии легочных вен.

Вовлечение проксимальных легочных артерий.

- часто: хроническая тромбоэмболическая ЛГ
- реже: метастатическая неоплазия, паразиты, эмболия инородными частицами.

Наружная сосудистая компрессия.

Вторичная ЛГ по отношению ко всем хроническим причинам гипоксии.

Согласно данным мультицентровых исследований частота ЛГ при первичном АФС и в рамках СКВ составляет соответственно 3,5 и 1,8%. Хотя по данным других больших исследований частота ЛГ у пациентов с СКВ составляет от 2 до 5%.

Ведущей причиной легочной гипертензии у пациентов с АФС является легочный эмболизм. Легочный эмболизм с тромбозом глубоких вен составляет 17—33% у пациентов с АФС по данным различных исследований, в том числе и у акушерских пациентов. С другой стороны известно, что легочный эмболизм развивается у 1/3 пациентов с тромбозом глубоких вен и АФС, однако источником тромбоэмболии могут быть также нижняя полая вена и почечная артерия, вегетация трикуспидального клапана, а также правосторонние внутрисердечные тромбы. Последнее обстоятельство требует систематического проведения эхокардиографии у больных с АФС и легочным эмболизмом. Наличие высоких титров АКА или ВА у пациентов с «идиопатическим» венозным тромбоэмболизмом значительно повышают риск рецидивирующих тромбозов и тромбоэмболий. Перманентная легочная гипертензия может обнаруживаться у пациентов с СКВ-обусловленным или первичным АФС. Фатальность легочной эмболии зависит от рецидивов эмболии и калибра сосуда: легочный эмболизм является причиной 4% из 222 смертей согласно данным большинства исследований СКВ.

Известно, что ЛГ может развиваться на фоне заболеваний соединительной ткани (ЗСТ) и склеродермии, синдрома Рейно, нарушений моторики пищевода и пр. Весьма интересен в этом смысле тот факт, что и АФА появляются часто на фоне смешанных заболеваний соединительной ткани.

Согласно данным проспективного исследования Alarcon-Segovia et al. 500 пациентов с СКВ, была обнаружена статистически достоверная связь между ЛГ и высокими титрами АКА — IgA, но не IgG и IgM. Тем не менее, Petri et al. в небольшом исследовании 60 пациентов с СКВ не обнаружила достоверной связи между циркуляцией АФА и ЛГ. В то же время Miyata et al. обнаружили значительную корреляцию между циркуляцией АФА и ЛГ у 12 больных с синдромом Шегрена. В случаях же ЛГ, связанных с тромбозом легочной артерии, наблюдается тесная связь между IgG-антителами к $\beta 2$ -GPI, кардиолипинам и протромбину. Anger et al., в свою очередь, обнаружили, что из 216 больных с хроническим легочным тромбозом и ЛГ, у 10,6% циркулировал ВА, в то время как АКА не выявлялись.

Исходя из вышеизложенного становится ясно, что в настоящее время еще нет единого мнения о патофизиологии первичной легочной гипертензии, хотя роль АФА в генезе хронического легочного эмболизма не вызывает сомнений. Следует отметить, что возможно в тех случаях хронического легочного эмболизма и легочной гипертензии, когда частота циркуляции АФА была не достоверно высока, не проводились исследования на наличие генетических причин тромбофилии (FV Leiden, мутация протромбина G20210A и пр.). Весьма вероятно, что в случаях «идиопатического» венозного тромбоза и ЛГ вне циркуляции АФА, присутствовала генетическая форма тромбофилии.

С другой стороны, весьма перспективно исследование роли эндотелина-1 в вазоконстрикции и стимуляции пролиферации гладкомышечных клеток легочных сосудов в патогенезе ПЛГ. Интересно, что высокий уровень эндотелина-1 обнаруживается, как в плазме, так и в тканях легких пациентов с АФС и смешанными артериальными тромбозами. Хотя если имеет место тромбофилия (приобретенная, как АФС, или наследственная), то повышение экспрессии эндотелина-1, вероятно, реакция неспецифическая, так как имеет место дисбаланс между простагландиновой системой и системой NO с протромботической-тромбоксановой и эндотелиновой.

Вероятно, весьма интересен будет результат исследования роли антиэндотелиальных антител, которые могут быть вовлечены в патогенез СКВ-обусловленной нетромботической ЛГ.

Глазные проявления АФС

Глаза часто вовлекаются в первичный АФС, при этом наблюдается различная симптоматика вплоть до амавроза. Особенность состоит в том, что глаза являются своеобразным «зеркалом» кровеносных сосудов, в частности микрососудов артериального, капиллярного и венозного уровня, а также «продолжением» ЦНС на периферии. Поэтому систематическое исследование глазного дна позволяет изучать сосудистую архитектуру при различных заболеваниях, включая вазоокклюзионные, пролиферативные или деструктивные изменения сосудистой стенки в результате тромбоза или эмболии.

Согласно исследованиям Castanon et al. и Asherson et al. вазоокклюзионные заболевания глаз в 4 раза чаще встречаются при первичном АФС, чем при АФС, обусловленном СКВ (менее 2%). У 24 из 28 пациентов (86%) с первичным АФС, согласно данным Castanon et al., обнаруживались изменения в заднем глазном сегменте, хотя только 19 пациентов из них были симптоматичны. Изменения в переднем глазном сегменте встречались значительно реже. В то же время очень часто обнаруживаются отклонения при исследовании глазного дна, включая причудливо извитые вены, отек, геморрагии, микроаневризмы и интратретинальные сосудистые изменения. У 8 пациентов наблюдались окклюзионные заболевания сетчатки (тромбозы), нарушения перфузии миокарда и высокие титры АКА. Из 28 наблюдаемых у семи были заболевания ЦНС, помимо заболеваний глаз. Это еще раз подтверждает связь между сосудистыми заболеваниями глаз и ЦНС у больных с АФС.

Таким образом, для АФС характерна высокая частота васкулопатий глаза, включая хориоретинальные сосуды. При этом тромбозы сетчатки наблюдаются у

33%, включая и артериальные, и венозные сосуды. В связи с этим, немаловажным диагностическим мероприятием у пациентов с циркулирующей АФА является исследование глазного дна, поскольку даже у асимптоматичных пациентов можно судить о состоянии сосудов малого калибра.

Катастрофический АФС

Редкой, но наиболее тяжелой формой АФС является катастрофический его вариант, который проявляется множественными тромбозами жизненно важных органов на фоне высоких титров АФА.

В настоящее время термин КАФС используется для обозначения крайней формы клинических проявлений АФС — полиорганной недостаточности. Для КАФС характерно:

А) клинические проявления вовлечения в патологический процесс множества органов в короткий период времени;

Б) гистологические проявления множественной окклюзии сосудов малого калибра (нарушение микроциркуляции, хотя в меньшинстве случаев возможны тромбозы крупных сосудов);

В) серологически подтвержденная циркуляция антифосфолипидных антител (АФА), как правило, высокие титры, и/или циркуляция ВА (коагулопатические методы — dRVVT, dAPTT, ККТ и пр.).

Более того, для развития эпизода КАФС, как правило, необходимы дополнительные триггеры, как, например, инфекция.

Хотя КАФС развивается по обобщенным данным мировой литературы, менее чем у 1% всех пациентов с АФС, он является угрожающим жизни и требует неотложной терапии. В последние годы появляется все больше сообщений о случаях КАФС. Возможно, это связано с лучшим пониманием механизмов развития АФС и, соответственно, лучшей его диагностикой. Тем не менее, следует подчеркнуть, что клиническая картина КАФС во многом напоминает таковую при декомпенсированном ДВС-синдроме, сепсисе, септическом шоке; более того, КАФС может сопровождать их (табл. 17), поэтому часто КАФС не диагностируется, из чего можно заключить, что истинная его частота значительно больше, чем это считается на сегодняшний день.

Таблица 17.

Патологические состояния, в основе которых может лежать катастрофический антифосфолипидный синдром.

- Септический шок
- HELLP-синдром
- Гемолитико-уремический синдром
- ДВС-синдром
- Синдром системного воспалительного ответа
- Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура

Первые сообщения о пациентах с множественными тромбозами невоспалительного генеза принадлежит Dosekun (1974) и Ingram (1987). Но только в 1991 г. Greistap дал определение клинической картины КАФС у двух пациентов, которая характеризовалась «острой катастрофической АФС распространенной окклюзией висцеральных сосудов на фоне высокого титра АФА». Затем появились еще два наблюдения КАФС, принадлежащих Harris и Vos, которые описали двух пациентов с «острой диссеминированной коагулопатией-васкулопатией, связанной с антифосфолипидным синдромом». Они же идентифицировали 3 типа пациентов с циркулирующей АФА. Согласно этому делению, АФА могут быть

- а) «асимптоматичными» и не сопровождаться тромбозами;
- б) сопровождаться 1 или 2 эпизодами тромбозов типично с вовлечением только одной артерии или вены с довольно длительным периодом, (от месяца до нескольких лет) «свободным» от тромботических проявлений;

в) сопровождаться множественными тромбозами с одновременным вовлечением трех и более сосудов с ишемическими изменениями органов, сетчатым ливидо, а также тромботической васкулопатией почек, мозга, сердца, легких и висцеральных органов.

С момента первых сообщений о КАФС и до сегодняшнего дня, как уже указывалось, в мировой литературе существует чуть более 100 сообщений. Из них следует, что:

А) КАФС развивается как у женщин, так и мужчин, и хотя у женщин чаще (2:1), чем у мужчин, течение и исходы хуже у мужчин;

Б) смертность от КАФС, несмотря на терапию, достигает почти 50%. Чаще всего смерть наступает от сердечной или легочной в результате ОРДС или в результате цереброваскулярных осложнений;

В) оптимальная терапия по-прежнему еще не разработана;

Г) поскольку КАФС встречается не часто, он достаточно сложен для изучения.

Как уже указывалось, для КАФС наиболее характерны почечные, легочные, церебральные и гастроинтестинальные тромбозы. В противоположность некатастрофическому АФС наблюдается окклюзия одновременно 3 и более сосудов, не характерны тромбозы глубоких вен (ТГВ). Весьма характерны атипичные тромбозы: надпочечниковые, селезеночные, тестикулярные, кожные, тромбозы поджелудочной железы.

В результате тромботической микроваскулопатии возникает острая мультиорганная недостаточность. Клинически эта форма АФС может проявляться нарушениями ЦНС, включая ступор, дезориентацию, параличи, дыхательную и надпочечниковую недостаточность, инфаркты миокарда, ЖКТ, почек и т.д. Практически у 80% пациентов поражаются почки с развитием почечной микроангиопатии и окклюзией мелких сосудов. Во многом клиническая картина напоминает декомпенсированный ДВС-синдром. В обоих случаях имеет место реакция микроциркуляторного русла в виде стаза и микротромбозов, в периферической крови обнаруживается гипокоагуляция. У почти 70% пациентов развивается тромбоцитопения (менее 100 000/мл), у четверти — гемолитическая анемия. Одновременно с КАФС возможно и развитие ДВС-синдрома, о чем свидетельствует повышение уровня продуктов деградации фибрина/фибриногена и гипофибриногенемия у 27% пациентов. Частота ВА и АКА одинаково высока у пациентов с АФС и составляет около 95%.

Критерии классификации КАФС

В связи с широкой палитрой клинических и серологических проявлений КАФС, возникла необходимость разработки критериев КАФС. Эти критерии во многом призваны облегчить диагностику КАФС и обосновать неотложную терапию его. На 10-м Международном Конгрессе по антифосфолипидному синдрому в Таормине (Сицилия, Италия; сентябрь-октябрь 2002) были сформулированы следующие предварительные критерии КАФС (табл. 18).

Таблица 18.

Предварительные критерии классификации КАФС (10-ый Международный конгресс по АФС, Таорлина, Сицилия, 2002).

1. Клинические проявления окклюзии сосудов двух или более органов и систем органов.
2. Развитие клинических проявлений одновременно или, по крайней мере, с промежутком не более 1 недели.
3. Гистологическое подтверждение окклюзии сосудов мелкого калибра, по меньшей мере, в одном органе*.

Серологическое подтверждение наличия АФА (ВА и/или АКА и/или антиb2-GP1)**.

* При гистологическом исследовании выявляется тромбоз, хотя достаточно часто обнаруживается и васкулит.

** Если ранее диагноз АФС не ставился, для серологического подтверждения необходимо выявление АФА, по меньшей мере, в 2 случаях с интервалом не более 6 недель (не обязательно во время клинического проявления).

Диагнозу КАФС соответствует наличие всех 4 критериев, указанных в таблице. Вероятностный КАФС имеет место, например, если окклюзия мелких сосудов не может подтверждаться гистологически или с помощью других техник, или если вторичные клинические проявления развиваются позже одной недели, но в течение первого месяца после первичного поражения, несмотря на проводимую антикоагулянтную терапию.

Патогенез КАФС

Вопросы патогенеза КАФС во многом до сих пор остаются загадкой. В настоящее время уже известно, что КАФС развивается у меньшинства пациентов с АФА и характеризуется невоспалительной тромботической васкулопатией. Известно также, что патогенез микроваскулопатии при аутоиммунных заболеваниях включает:

а) классический васкулит, вторичный к депозиции иммунных комплексов в сосудистой стенке;

б) лейкоцитомбоз, вторичный к внутрисосудистой активации комплемента, нейтрофилов и эндотелия в отсутствие локальной депозиции иммунных комплексов;

в) тромбоз сосудов, вторичный к невоспалительной васкулопатии.

Помимо АФС, синдром тромботической микроангиопатии характерен для тромботической тромбоцитопенической пурпуры (ТТП), гемолитико-уремического синдрома (HUS), ДВС-синдрома и HELLP-синдрома.

В последние годы также выяснилось, что циркуляция ингибиторов протеазы, расщепляющей фактор фон Виллебранда (vWF), характеризуется также тромботической микроангиопатической гемолитической анемией, которая присуща аутоиммунно-обусловленной ТТП. Нерасщепленные мультимеры vWF способствуют диссеминированной внутрисосудистой агрегации тромбоцитов.

Возвращаясь к патогенезу КАФС, неизбежно возникает вопрос: с чем связана диффузная и мультиорганная «взрывная» природа КАФС. Почему он возникает лишь у небольшой части пациентов с АФС. Эти вопросы породили гипотезу о существовании дополнительного биологического фактора, необходимого для развития распространенной микроваскулопатии. В качестве такого фактора может выступать комплекс иммунных стимулов, которые активируют эндотелиальные клетки и вероятно способствуют образованию подготовительного сигнала для КАФС. Эти стимулы включают цитокины, компоненты комплемента и аутоантитела.

Хорошо известно, что цитокины являются важнейшими медиаторами активации эндотелиальных клеток, в том числе и при КАФС. Фактор некроза опухоли- α , или опухолю-некротический фактор α (TNF- α), интерферон- γ (INF- γ) и интерлейкин-1 (IL-1) могут стимулировать эндотелиальные клетки, как в комплексе, так и отдельно друг от друга. К активаторам эндотелиальных клеток относятся и продукты активации системы комплемента (C3b, C3b и C5a), а также мембрано-атакующий комплекс (МАС), представленный C5b-9, который усиливает экспрессию эндотелиальных молекул адгезии, и в особенности, экспрессию тканевого фактора (TF), что соответствует состоянию повреждения эндотелия и тромбофилии, характерных для КАФС. И, наконец, аутоантитела — непосредственно АФА, антиэндотелиальные антитела и антиядерные антитела, активируя эндотелиальные клетки, участвуют в формировании стимулирующего сигнала, усиливая экспрессию молекул адгезии и TF. Свойство АФА активировать эндотелиальные клетки, возможно, является необходимым при КАФС, еще до взаимодействия АФА с тромбоцитами или протеинами свертывающей системы, так как опосредует диффузную тромботическую микроваскулопатию.

Вероятно по существующей ныне гипотезе, именно сочетание всех перечисленных активирующих эндотелий факторов (цитокины, компоненты активированного комплемента и аутоантитела), способствуя повышению адгезивных и прокоагулянтных свойств эндотелия, вызывает образование «подготовительного» сигнала для развития КАФС. При этом некоторые медиаторы могут повышать адгезию лейкоцитов и тромбоцитов к сосудистому эндотелию и способствовать микро-

тромбозу с локальным высвобождением токсических медиаторов, включая протеазы и кислородсодержащие свободные радикалы. Такое взаимодействие между активированными эндотелиальными клетками, нейтрофилами и тромбоцитами в присутствии АФА способствует формированию диффузной микроваскулопатии, характерной для КАФС. Распространенная тромботическая васкулопатия, в свою очередь, объясняет широкий спектр клинических проявлений при КАФС, обусловленных поражением тканей, включая повышение проницаемости капиллярной стенки в легких (ОРДС), в мозге («острый церебральный дистресс-синдром»), дисфункцию миокарда и, возможно, синдром системного воспалительного ответа (SIRS, «systemic inflammatory response syndrome») с развитием мультиорганной недостаточности.

Недавно было выяснено, что SIRS может возникать не только при сепсисе, но и в результате неинфекционных причин, как, например, при иммуноопосредованном поражении органов. SIRS является реакцией, характеризующей распространенное воспаление, поражающее в первую очередь сосудистый эндотелий. Однако следует отметить, что некоторые медиаторные каскады, характерные для сепсиса, характерны и для КАФС. К таким эндогенным медиаторам относятся, прежде всего, TNF α и ИЛ-1 с большим участием фактора активирующего тромбоциты (PAF), вазодилатирующие простагландины, активация комплемента и суперэкспрессия молекул адгезии на лейкоцитах, тромбоцитах и эндотелиальных клетках. Отсюда, вероятно и колоссальное сходство клинических проявлений КАФС и SIRS, характерного для сепсиса с мультиорганной недостаточностью и проявлениями, включающими нарушение функции почек, ОРДС, церебральные нарушения, снижение сократительной активности миокарда и катехоламин-рефрактерная гипотензия.

Несмотря на вышесказанное, этиология и патогенез КАФС требуют дальнейшего изучения.

Принципы терапии КАФС

В связи с недостаточным знанием этиопатогенеза КАФС, оптимальная его терапия все еще не разработана. Во многом это также связано с отсутствием рандомизированных контролируемых исследований и отсутствием специализированных центров, где бы концентрировались больные с КАФС. Тем не менее, хотя терапия КАФС не стандартизирована, весьма обоснованными представляются следующие подходы к терапии:

1) Устранение по возможности триггерных факторов КАФС (антибиотики при инфекции, удаление некротических тканей или ампутация конечности, где развилась гангрена и пр.).

2) Ранняя активизация и противотромботическая профилактика после операции или инвазивных процедур пациентов с АФС.

3) Профилактика и лечение тромботических проявлений, супрессия цитокинового «шторма» (кортикостероиды, цитостатики, плазмаферез, гемодиализ).

Учитывая, что КАФС является тромбофилическим расстройством с характерной распространенной микроваскулопатией, рациональной представляется терапия с использованием антикоагулянтов, а также предотвращение образования и циркуляции медиаторов (АФА, цитокины, продукты активации комплемента, анти-эндотелиальные антитела и т.д.). Наиболее часто с этой целью используются антикоагулянты, иммунодепрессивные препараты — глюкокортикоиды или циклофосфамид, а также плазмаферез или внутривенное введение гаммаглобулина.

Роль циклофосфамида заключается в предотвращении «ребаунд»-продукции патогенных аутоантител аутоагрессивными лимфоцитами.

В последнее время все больше данных за успешное применение плазмафереза при КАФС, что, возможно, связано с удалением цитокинов и других медиаторов, что препятствует взаимодействию между фосфамид-протеиновыми комплексами и эндотелиоцитами. Повторные плазмаферезы оправданы при наиболее рефрактерных случаях КАФС, когда остальная общепринятая терапия не приносит положительного результата.

Сообщается и об успешном применении фибринолитиков, простаглицлина, дефибротида, даназола, циклоспорина, азатиоприна и, наконец, спленэктомии.

Анализ всех случаев КАФС показывает, что пожилой возраст и вовлечение большого числа органов в патологический процесс имеют наиболее неблагоприятный прогноз и ассоциируются с высокой смертностью. Кроме того, анализ этих случаев (130 случаев) свидетельствует, что только антикоагулянты имеют решающее значение в предотвращении смерти больных с КАФС. Однако поскольку практически во всех случаях проводилась комбинированная терапия, достаточно сложно и крайне ответственно заявить, что при КАФС эффективна монотерапия антикоагулянтами. Тем не менее, анализ комбинированной терапии показал, что лучшие результаты были получены (70%) при комбинации антикоагулянтов, кортикостероидов, заместительной терапии свежезамороженной плазмой и внутривенном введении иммуноглобулина. В связи с этим на 10-м Международном конгрессе по АФС был выработан следующий алгоритм ведения больных с КАФС.

В свете вышеизложенного следует особо подчеркнуть, что терапия должна быть начата незамедлительно, если есть подозрение на КАФС. Объясняется это тем, что серологическое выявление маркеров АФС или обнаружение ВА требует времени или часто невозможно, а порой и результаты могут быть отрицательными, однако именно в этих ситуациях поистине «промедление смерти подобно».

Заместительная терапия свежезамороженной плазмой необходима, в особенности, при явных признаках ДВС и микроангиопатической гемолитической анемии (появление большого числа шистоцитов в периферической крови). При этом одна из основных целей заместительной терапии — восполнение уровня естественных антикоагулянтов и в первую очередь АТ III.

С нашей точки зрения весьма эффективными должны быть и концентраты АТ III и протеина С.

В большинстве случаев необходима интенсивная терапия и реанимационные мероприятия.

Что касается антикоагулянтной терапии, то с нашей точки зрения предпочтительны НМГ, так как:

- а) обеспечивают хороший антикоагулянтный эффект;
- б) в меньшей степени нуждаются в кофакторе (АТ III), когда в условиях КАФС угнетаются естественные антикоагулянтные пути;
- в) меньше опасность развития ГИТ II.

Патогенез тромбофилии при АФС

Высокая частота и доминирующее положение АФС и циркуляции АФА в структуре тромботических осложнений явились главным основанием для большого интереса к изучению патогенеза тромбофилии у больных с АФС.

Известно, что антифосфолипидные антитела могут персистировать годами. При отсутствии дополнительных традиционных факторов риска, как беременность, длительная иммобилизация, злокачественные новообразования и пр., острый тромбоз, тем не менее, также может развиваться, хотя часто при этом не удается выявить триггерный механизм.

Некоторое время существовало мнение, что АФА являются скорее вторичным явлением, нежели причинным фактором тромбофилического состояния. Однако, на сегодняшний день связь АФА и тромбозов не вызывает сомнений. Патогенез тромбозов при АФС еще недостаточно изучен, поскольку АФА сами по себе столь гетерогенны, что и механизмы их участия в патогенезе тромбофилического состояния могут быть различными. Несмотря на многообразие механизмов патологических эффектов АФА, в настоящее время не вызывает сомнений, что АФА нарушают гемостатический баланс в организме между факторами свертывания, фибринолитической системой, тромбоцитами и эндотелием в такой степени, что существенно снижаются естественные антиагрегантный и анти-

коагулянтный потенциалы организма, что в свою очередь создает условия для развития тромбофилического состояния и венозных и/или артериальных тромбозов.

Однако прежде чем перейти к изложению существующих ныне патогенетических концепций тромбофилии при АФС, имеет смысл подробнее остановиться на описании антифосфолипидных антител и их мишеней в организме.

Антифосфолипидные антитела (АФА), к которым относят так называемые антикардиолипинов антитела (АКА) и волчаночный антикоагулянт (ВА), представляют собой семейство гетерогенных ауто- и аллоиммунных иммуноглобулинов: IgG, IgM и IgA, связывающих фосфолипид-протеиновые комплексы. К аутоиммунным АФА относят:

а) первичные — в отсутствии системной красной волчанки (СКВ) и др. заболеваний;

б) вторичные — при наличии СКВ и др. заболеваний соединительной ткани;

в) обусловленные лекарственными средствами: антибиотики (амоксциллин), фенитоин, фанзидар, хинидин, хинин, гидралазин, прокаинамид, фенотиазин, а-интерферон, кокаин — которые чаще представлены IgM.

К аллоиммунным относят АФА при наличии:

а) инфекции:

— вирусной

— бактериальной

— протозоальной

— грибковой, чаще смешанной.

б) злокачественных новообразований:

— лейкемии

— лимфопролиферативных процессов

— эпителиальных опухолей

Помимо АК и ВА в настоящее время известны и другие АФА:

1. Волчаночные антикоагулянты
2. Антикардиолипины
3. Реагины
4. Антитела к анионным фосфолипидам:
 - антифосфатидилсерин
 - антитела к фосфатидной кислоте
 - антифосфатидилинозитол
5. Антитела к нейтральным фосфолипидам:
 - антифосфатидилэтаноламин

Из всего многообразия АФА описываются специфичные АФА для отдельных фосфолипидов, таких как фосфатидилсерин, фосфатидная кислота, фосфатидилинозитол, относящихся к группе анионных фосфолипидов. Описаны антитела и к нейтральным фосфолипидам, в частности, к фосфатидилэтаноламину.

Использование высокочувствительных тестов демонстрирует наличие антител к вышеупомянутым фосфолипидам у значительной части здоровых людей (O. Triplett, 1993). Можно предположить, что наличие АФА является универсальным отъемом организма на различные клинические состояния, которые обусловлены инфекцией, аутоиммунными, злокачественными заболеваниями, медикаментозными воздействиями, а также воздействием экологических факторов (аллергенные, радиационные и пр.). Отмечено, что у многих людей наличие АФА носит транзиторный характер и не проявляется клинически.

In vitro АФА способны подавлять фосфолипидзависимые коагуляционные реакции (например, протромбиновое время, активированное частичное тромбопластинное время, время свертывания с использованием яда гадюки Рассе-

ла и др.), что послужило причиной появления термина «волчаночный антикоагулянт», хотя при этом имеет место не геморрагическая тенденция, а тромбофилическая.

АФА не направлены против какого-либо специфического фактора свертывания крови; более того, они проявляют себя, как направленные на определенные эпитопы, которые к настоящему моменту изучены недостаточно.

АФА характеризуются высокой иммунохимической специфичностью. Это можно в первую очередь связать с существованием нескольких классов фосфолипидов, характеризующихся структурной и иммуногенной неоднородностью.

Известно, что мембраны клеток состоят из фосфолипидов двух типов — фосфоглицеридов и сфингофосфолипидов.

Сфингофосфолипиды в основном представлены в нервной ткани, особенно в белом веществе, хотя почти все ткани человека содержат некоторое их количество.

Фосфоглицериды являются основным составным компонентом клеточных мембран, они в значительной концентрации определяются в железистых тканях, плазме, желточном мешке и др. тканях. Они составляют до 40% липидов мембран эритроцитов и более 95% липидов внутренней мембраны митохондрий.

Фосфоглицериды являются производными фосфатидной кислоты: в их состав входит глицерин, жирные кислоты, фосфорная кислота и обычно азотсодержащие соединения.

Для всех фосфоглицеридов характерно, что одна часть их молекулы резко гидрофобна, а другая гидрофильна, что позволяет им находиться на грани раздела водной и неводной фаз. Кроме того, фосфоглицериды обладают наиболее выраженной полярностью (амфотеричны) из всех липидов, т.е. они одновременно несут и положительно, и отрицательно заряженные группы. Существует несколько подклассов фосфоглицеридов.

Чаще всего в организме животных и высших растений встречаются «нейтральные фосфолипиды» — фосфатидилхолины (устаревшее название — лецитины) и фосфатидилэтаноламины.

Кардиолипин (дифосфатидилглицерол) является двойным фосфолипидом, присутствует на внутренней поверхности митохондрий, где составляет до 20% от всех липидов.

Встречается и свободная фосфатидная кислота, но в относительно небольших количествах по сравнению с другими ФЛ.

Фосфатидилсерины (ФС) и фосфатидилинозитолы (ФИ) относятся, как уже указывалось, к группе «отрицательно заряженных» (анионных) ФЛ. В составе полярной «головки» они соответственно содержат отрицательно заряженные остатки аминокислоты серина и циклического спирта инозитола.

Фосфатидилинозитол найден в мозге, легких, печени. Фосфатидилсерины (ФС) распространены менее широко, но именно им отводится одна из основных ролей в реализации патологического аутоиммунитета при АФС. ФС располагается во внутреннем слое плазматической мембраны клетки. Такое расположение обеспечивается ферментом аминокислот-фосфолипидтранслоказой (флиппазой). Нормальные мембраны клеток имеют четкую фосфолипидную асимметрию. Внешний слой богат холин-фосфолипидами, тогда как внутренний — аминокислот-фосфолипидами. Перемещение большого количества ФС в наружный слой мембраны возникает редко и имеет важное значение. Так, экстернализация ФС происходит в стареющих эритроцитах, это позволяет макрофагам распознать их и фагоцитировать. Лимфоциты и другие клетки, подвергающиеся апоптозу, также экстернализируют ФС, которые являются опознавательным местом при удалении клеток. На миоцитах при формировании митотубул увеличивается количество ФС на поверхности. Этот процесс предшествует межклеточному слиянию миоцитов. Тромбоциты при активации экспонируют ФС, создавая матрицу для активизации протромбиназы и реакций свертывания. Во всех случаях ФС экспонируются на поверхности клеточных мембран клеток, которые подлежат разрушению, либо реинтернализация происходит очень быстро.

С использованием моноклональных АТ к ФЛ было показано, что трофобласт при дифференциации и инвазии в экстрацеллюлярный матрикс также экспонирует ФС. Так как слияние клеток и рост синцития продолжается почти всю беременность, клетки трофобласта, возможно, являются единственными клетками в организме человека, столь длительно экспонирующими на своей поверхности отрицательно заряженные ФЛ.

Долгое время считалось, что причиной тромбозов при АФС является непосредственное воздействие АФА на отрицательно заряженные или нейтральные фосфолипиды. Однако позже было выяснено, что это воздействие на фосфолипиды в большинстве случаев не прямое, а белок опосредованное. В качестве такого белка-кофактора чаще всего выступают белок плазмы β_2 -гликопротеин 1 (β_2 GP-1), или иначе, аполипопротеин Н, который, связываясь с фосфолипидами, образует истинный антиген для АФА, а также протромбин.

К другим белкам-кофакторам относят также высокомолекулярный кининоген, протеины С и S и др. (табл. 19).

Таблица 19.

**Антигенные мишени для антифосфолипидных антител:
фосфолипид-связывающие протеины.**

Основные антигены	Другие
β_2 -GP1	Протеин С
Протромбин	Протеин S Тромбомодулин Высоко/низкомолекулярный кининоген Фактор XI Аннексины Прекалликреин Фактор X

В связи с этим появились и изменения в общей терминологии антифосфолипидных антител: антифосфолипидные антитела IgG, IgM, IgA в настоящее время определены как антитела против протеинов, таких как протромбин или β_2 -GP1, которые связаны с фосфолипидами — антифосфолипид-протеиновые антитела или антитела к фосфолипид-связанным протеинам плазмы.

АФА часто описываются как волчаночные антикоагулянты или антикардиолипиновые антитела в зависимости от метода исследования, который обнаруживает АФА. Так, выявление ВА связано со свойством АФА удлинять фосфолипид-зависимые коагуляционные тесты, как АЧТВ и пр. (см. ниже), при этом в качестве кофакторов выступают протромбин или β_2 GP1.

В ряде случаев возможно и прямое взаимодействие АФА с фосфолипидами, что чаще имеет место при инфекции. При этом АФА представлены IgM. Долгое время считалось, что АФА в основном направлены против отрицательно заряженных (анионных) фосфолипидов. Однако уже обнаружены АФА к нейтральному фосфолипиду — фосфатидилэтаноламину, который, в отличие от анионных фосфолипидов, расположенных на внутренней поверхности плазматической мембраны, представлен на наружной поверхности мембраны. Для связывания АФА с фосфатидилэтаноламином необходимо, во-первых, превращение нормальной двухслойной структуры фосфолипида в гексагональную (рис. 20) и, во-вторых, наличие таких протеинов — кофакторов, как высоко- или низкомолекулярный кининогены, и в некоторых случаях — прекалликреин и фактор XI.

После открытия роли кофакторов в развитии АФС основное внимание исследователей приковано к изучению белков-кофакторов и механизмов их взаимо-

Ламеллярная фаза

Гексагональная фаза



Рис. 20. Переход ламеллярных фосфолипидов в гексагональную фазу.

действий с АФА и фосфолипидами. Наиболее интенсивно изучаемым кофактором является $\beta 2\text{GP1}$. Известно, что $\beta 2\text{GP1}$ является гликопротеином с молекулярной массой 50 кДа и в норме представлен в плазме в концентрации примерно 200 мг/мл. $\beta 2\text{GP1}$ может связываться с отрицательно заряженными доменами липопротеинов, гепарина (или гепаран-сульфата) и тромбоцитов.

В 1990 г. McNeil et al. и Galli et al. сообщили, что очищенные антитела с антикардиолипиновой активностью связываются с фосфатидилсеринем или кардиолипином, а также с липосомами, содержащими эти фосфолипиды, только в присутствии плазменного кофактора, который и был идентифицирован как $\beta 2\text{GP1}$. Характерно, что у больных с сифилисом кофактор для связывания АФА с этими фосфолипидами не требовался.

Hunt et al. идентифицировали С-концевой участок молекулы $\beta 2\text{GP1}$ как имеющий значение для связывания липидов и, следовательно, для кофакторной активности. $\beta 2\text{GP1}$ содержит 5 повторяющихся участков («суши» — доменов) примерно из 60 аминокислот; липидная связь зависит от интактного участка, включающего его Lys317 и Thr318. Cys281 — Cys288 играет решающую роль при связывании с фосфолипидом. Недавно было обнаружено, что помимо домена 5, который отвечает за связывание с фосфолипидами, в 4 домене молекулы $\beta 2\text{GP1}$ имеется иная новая группа антигенных структур, распознаваемая анти $\beta 2\text{GP1}$ -антителами. Согласно экспериментальным данным домен 5 взаимодействует с доменом 4 посредством специфических электростатических взаимодействий, которые необходимы для экспрессии группы «критических» эпитопов в домене 4. «Критический» эпитоп, который локализован в домене 4, вероятно, гетерогенен: существует, по меньшей мере, 2 типа антител к этому эпитопу (имеют место почти у 80% больных с АФС). Этот эпитоп может соседствовать с доменом 5 и быть «скрытым». Лишь электростатическое взаимодействие между 4 и 5 доменами может регулировать появление обоих типов эпитопов, закрыто локализованных в домене 4. Существование такого «чувствительного» к антителам региона, имеющего несколько эпитопов, возможно, обуславливает «запуск» интрамолекулярного эпитопа при инициации единичного эпитопа на молекуле $\beta 2\text{GP1}$. Хотя клиническая манифестация в виде тромбозов вен или артерий, обусловленная анти $\beta 2\text{GP1}$ — антителами ничем не отличается, тем не менее, она может зависеть от запускающего эпитопа и специфичности анти $\beta 2\text{GP1}$ антител. В свою очередь, выявление запускающего эпитопа является ключом к адекватной антиген-направленной терапии. In vitro $\beta 2\text{GP1}$ связывает анионные фосфолипиды и может ингибировать некоторые фосфолипид-зависимые коагуляционные реакции. Из-за фосфолипид-связывающих свойств предполагается, что $\beta 2\text{GP1}$ может выступать в роли физиологического антикоагулянта. Однако два важных наблюдения оспаривают эту гипотезу; во-первых, связывание $\beta 2\text{GP1}$ с мембраной, содержащей физиологические концентрации кислых фосфолипидов в действительности является слабым по сравнению с коагуляци-

онными факторами; во-вторых, больные с унаследованными гетерозиготным и гомозиготным дефицитом $\beta 2GP1$ не проявляют клинически выраженных аномалий в системе гемостаза.

Хотя в физиологических условиях $\beta 2GP1$ связывается с анионными фосфолипидными мембранами довольно слабо, при наличии анти- $\beta 2GP1$ антител образуется комплекс перекрестно связанных $\beta 2GP1$ и антител, который может обладать высокой способностью связываться с фосфолипидной мембраной. Эта высокая способность к связыванию может проистекать из факта, что в комплексе перекрестно связанных $\beta 2GP1$ и соответствующих антител содержится 2 и более $\beta 2GP1$ молекул, би- и мультивалентно связанных с фосфолипидной мембраной. Тогда как мономерный $\beta 2GP1$ в физиологических концентрациях не способен эффективно конкурировать с факторами коагуляции или другими фосфолипид-связывающими протеинами (типа аннексина V) за анионные мембранные поверхности, комплекс $\beta 2GP1$ -антитела может конкурировать весьма успешно. Эти комплексы уменьшают количество анионных фосфолипидных поверхностей, необходимых для образования протромбиназного комплекса *in vitro* и тем самым демонстрируют эффект ингибиции фосфолипид-зависимых коагуляционных реакций *in vitro*.

Антитела к $\beta 2GP1$ могут проявлять видоспецифичность, то есть они распознают человеческий $\beta 2GP1$, но не распознают $\beta 2GP1$ других видов (бычий и т.д.), что существенно ограничивает использование ELISA-тестов с бычьим $\beta 2GP1$ в качестве антигена.

Существует также предположение, что анти- $\beta 2GP1$ антитела направлены исключительно против конформационных эпитопов, экспрессированных на $\beta 2GP1$ только тогда, когда последний связан с анионной фосфолипидной мембраной или другой отрицательно заряженной поверхностью.

Антипротромбиновые антитела

Еще в 1959г. Locliger обосновал утверждение, что в качестве антигена для антител против фосфолипидов также выступает протромбин. Locliger описал случай, когда ВА-активность была более выражена в смешанной плазме, чем в собственно плазме пациента. Уровень протромбина в плазме пациента был низкий. Эксперимент адсорбции плазмы пациента с $BaSO_4$ привел исследователя к мысли, что протромбин является необходимым кофактором для экспрессии ВА-активности. Идея, что протромбин и фосфолипиды (или только протромбин) являются мишенями для «антифосфолипидных» антител, тем не менее, до 1990г. не находила широкого одобрения, пока не появилось несколько одновременных сообщений, что антитела могут быть направлены против $\beta 2GP1$.

Антитела, которые распознают протромбин, являются другой большой группой антифосфолипидных антител и обнаруживается у 50—90% АФА-негативных пациентов. Антипротромбиновые антитела составляют большую часть антител, объединяемых общим названием ВА у больных с АФС. Механизм ВА-активности вероятно подобен механизму для $\beta 2GP1$ -антител. Антитела, перекрестно связанные с протромбином, обладают большой связывающей способностью по отношению к анионным фосфолипидным мембранам, вытесняя остальные коагуляционные факторы и фосфолипид-связывающие протеины (аннексин V, аннексин II и пр.). Кроме того, возможно, что такие антитела могут напрямую взаимодействовать с протромбиназным комплексом или прямо тормозить активацию протромбина в этих комплексах. В 80-ые годы предпринималось множество исследований для выяснения патогенеза гипопротромбинемии у пациентов с ВА. Вајаји et al. получили первые доказательства, что плазма пациентов с ВА и выраженной гипопротромбинемией содержит не-нейтрализующие (низкоаффинные) антитела, которые связывают протромбин без ингибиции его превращения в тромбин. Было установлено, что гипопротромбинемия является результатом ускоренного клиренса протромбин-антипротромбиновых комплексов из циркуляции. Хотя большин-

ство антипротромбиновых аутоантител, вероятно, являются низко-аффинными, у небольшой группы пациентов ряд исследователей обнаруживали высокоаффинные антипротромбиновые антитела. Такие пациенты с высокоаффинными антителами, в отличие от пациентов с низко-аффинными антителами и АФС, имели скорее тенденцию к кровотечениям нежели к тромбозам. Это довольно интересная ситуация, когда аутоантитела с одинаковой специфичностью, но с разной аффинностью могут иметь различные клинические эффекты.

Несмотря на то, что видовая специфичность является редкой для анти- $\beta 2\text{GP1}$ аутоантител, большинство антипротромбиновых аутоантител не распознают бычий протромбин в качестве антигена, что во многом объясняет невозможность определения антипротромбиновых антител ELISA-методом с антикардиолипином. Тем не менее, антипротромбин ELISA недавно разработан.

Как уже выше указывалось, патогенез тромбофилии и тромбозов при АФС довольно сложен и не до конца изучен. Однако не вызывает сомнений, что он складывается из различных механизмов, которые включают повреждение естественных фосфолипид-зависимых противотромботических путей и активацию тромбоцитарного звена системы гемостаза.

Нарушение функции эндотелиальных клеток (ЭК) является притягательной гипотезой, так как это может объяснить невоспалительную васкулопатию, свойственную АФС. Более того, большая часть исследований показала, что АФА связывается с ЭК. Антитело-ЭК опосредованное повреждение и активация ЭК идентифицированы как значительный потенцирующий фактор, который может участвовать в патогенезе тромбозов у пациентов с АФА. Превращение нормального антитромботического статуса эндотелия в протромботический статус может явиться первичным патофизиологическим моментом в приобретенном гиперкоагуляционном состоянии при АФС. Некоторые данные свидетельствуют о том, что активация ЭК АФА происходит путем повышения экспрессии эндотелиальноклеточных молекул адгезии. В то же время молекулярная адгезия способна сама по себе активировать лейкоциты, активированные моноциты также способны проявлять прокоагулянтную активность. Del Para et al. первыми продемонстрировали, что АФА или анти $\beta 2\text{GP1}$ антитела повышают экспрессию молекул адгезии, и этот эффект прямо зависит от связывания с АФА и ИЛ-1а, с индукцией ИЛ-6 вместе с продуцированием ИЛ-16, который, с другой стороны, повышает экспрессию молекул адгезии.

Несмотря на некоторые общие свойства, ЭК микро- и макрососудов имеют фенотипические и функциональные различия. Соответственно, ЭК отвечают по-разному на одинаковые эндогенные и экзогенные влияющие агенты в разных отделах сосудистого дерева. В связи с этим возникает вопрос: является ли эндотелиальная активность в ответ на анти- $\beta 2\text{GP1}$ аутоантитела феноменом, ограниченным эндотелием крупных венозных сосудов, или это также характерно для ЭК микроциркуляции? Такой вопрос весьма важен для АФС, где микроваскулярные тромбозы возможны при вовлеченности в процесс крупных сосудов. Merani et al. показали, что анти $\beta 2\text{GP1}$ антитела реагируют как с ЭК микрососудов мозга (МСМ), так и с ЭК umbilicalной вены (HUVES). Более того, связывание было больше при низких концентрациях анти $\beta 2\text{GP1}$ АТ с МСМ, чем с HUVES, что позволило предположить высокие количества $\beta 2\text{GP1}$ в мембранах ЭК МСМ. При инкубации с анти $\beta 2\text{GP1}$ АТ и в HUVES и в МСМ, активировались клетки и повышалась экспрессия молекул адгезии и секреция ИЛ-6. При экспериментах с линией ЭК микрососудов кожи результаты были подобны результатам с МСМ. Все эти данные подтверждают общий способ реактивности ЭК как в микро, так и в макрососудах при АФС в соответствии с клиническими сосудистыми проявлениями этого заболевания.

Как выше уже указывалось, АФС характеризуется васкулопатией без депозиции IgG и клеточной инфильтрации, которые обычно обнаруживают при системных аутоиммунных васкулитах. Васкулопатия при АФС характеризуется ангиоматозом, микротромбозами, дистрофией эндотелиальных клеток, некрозом и дес-

квацией эндотелиальных клеток, пролиферацией клеток интимы, отеком и плазменным пропитыванием вещества базальной мембраны.

В настоящее время известны следующие составляющие патогенеза тромбофилии при АФС, связанные с повреждением функции эндотелия:

1. Подавление синтеза эндотелиальными клетками наиболее мощного естественного ингибитора агрегации тромбоцитов и вазодилататора — простациклина, что в свою очередь ведет к гиперагрегации. Так, Carreras et al. обнаружили, что синтез простациклина снижен в плазме больных с циркуляцией ВА. Нарушенная продукция простациклина в эксперименте на животных и в культуре эндотелиальных клеток восстанавливалась при добавлении арахидоновой кислоты. Авторы пришли к выводу, что ВА снижает продукцию простациклина через воздействие на фосфолипидные субстраты, из которых с участием фосфолипазы А₂ освобождается арахидоновая кислота; это в свою очередь может объяснить тромбозы в маточно-плацентарных артериях.

В то же время Watson et al. обнаружили, что ВА способен ингибировать фосфолипазу А₂ в интактных эндотелиальных клетках. Впоследствии они также подтвердили, что при добавлении экзогенной арахидоновой кислоты продукция простациклина восстанавливается. Тем не менее, следует отметить, что не у всех больных с ВА обнаруживается сниженное образование простациклина.

Последние исследования ученых сконцентрированы на регуляции продукции простациклина (PGI₂) циклооксигеназой у больных с циркуляцией ВА. Было обнаружено, что IgG у этих больных стимулируют синтез Cox2 и не влияют на Cox1. Этот эффект относят к способности антифосфолипидных антител активировать клетки. Значение «in vivo» индукции Cox2 еще до конца не известно.

2. Снижение активности антитромбина III (AT III) — важнейшего естественного антикоагулянта. Синтезируясь в печени, он экспонируется на эндотелии, где происходит его гликозаминогликан-зависимая активация.

Считается, что АФА способны «узнавать» гепарин и гепаран-сульфат, или их связь с β₂GP1 таким образом, что блокируют активацию AT III. Тем не менее, эта теория не нашла всеобщего признания.

3. Greaves et al. предположили, что так как образование антител к эндотелиальным клеткам, характерное для АФС, вызывает их повреждение, соответственно индуцируется синтез тканевого фактора (TF) и повреждение мембран с экспозицией анионных фосфолипидов. Далее циркулирующий β₂GP1 может связываться с экспонированными анионными фосфолипидами, в свою очередь, АФА связываются с этим комплексом, что индуцирует дальнейшее повреждение. Кроме того, активированные эндотелиоциты экспонируют в больших количествах фактор фон Виллебранда и фибронектин, что также увеличивает свертывающий потенциал крови.

4. Главную роль в возникновении тромбофилии играют повреждения в системе протеина С — второго по важности (после AT III) естественного антикоагулянта. Основная его функция — инактивация факторов Va и VIIIa, которая осуществляется только активированным протеином С, что приводит к инициации дальнейшего образования тромбина. В качестве кофактора протеина С в процессе инактивации факторов Va и VIIIa выступает протеин S, кроме того этот процесс является фосфолипид-зависимым. Активируется протеин С тромбином, который образует связь с тромбомодулином (ТМ).

Тромбин, связанный с ТМ, больше не способен активировать тромбоциты или превращать фибриноген в фибрин, но способность превращать вит-К-зависимый протеин, PC, в активную форму (APC) не нарушается. ТМ также влияет на фибринолиз: тромбин, связанный с ТМ, активирует TAFI (ингибитор фибринолиза). TAFI удаляет карбокситерминал лизинового остатка из фибрина, предупреждая связывание t-PA (активатора плазминогена тканевого типа) и плазмина(огена) с фибрином. TAFI, таким образом, редуцирует фибринолиз. В плазме APC нейтрализуется путем формирования комплексов с ингибитором APC (PC1 или

PAI-3), альфа1-антипротеиназой (альфа1-антитрипсин) и альфа2-макроглобулином. Инактивация APC через PC1 ускоряется гепарином. PS, другой вит-К-зависимый протеин, усиливает активность APC. PS формирует комплексы 1:1 с APC на фосфолипидной поверхности. 2 независимых процесса регулируют APC — кофакторную активность PS: а) PS расщепляется тромбином, в результате молекула теряет APC — кофакторную функцию; б) ингибция APC-кофакторной активности PS в результате его способности формировать комплексы 1:1 с C4-связывающим протеином (C4BP). Примерно 60% плазменного PS циркулирует в комплексе с C4BP. Однако только свободные формы PS обладают кофакторной APC-активностью.

Таким образом, АФА ингибируют систему протеина С несколькими путями.

А) ингибируют формирование тромбина, активатора PC (тромбиновый парадокс).

Б) ингибируют активацию PC через влияние на ТМ (антиТМ антитела)

В) ингибируют APC активность (приобретенная APC-R), что может достигаться:
— через ингибцию сборки протеинов комплекса PC на анионных поверхностях фосфолипидных матриц.

— Через прямую ингибцию APC активности.

— Через ингибцию кофакторов Va и Vllla.

Г) антитела влияют на уровни PC и/или PS (приобретенный PC/PS дефицит).

А. Тромбиновый парадокс

На первый взгляд не просто понять, каким образом ингибция формирования тромбина может приводить к тромбозам. Однако исследования последних лет показали, что низкие дозы тромбина преимущественно активируют PC.

Эти и другие наблюдения привели к открытию так называемого «тромбинового парадокса»: тромбин обладает и анти- и протромботическими свойствами в системе гемостаза (табл. 20). Когда тромбин обладает такими разными способностями, его субстратная специфичность хорошо регулируется. Одним из фундаментальных свойств тромбина является то, что вследствие аффинности тромбина к собственным субстратам и рецепторам, концентрация формирующегося тромбина является одним из основных факторов, которые определяют его субстратную специфичность. При низких концентрациях тромбина проявляется преимущественно активация PC. В этот момент тромбин — антитромботический агент. Когда формируется больше тромбина, фибриноген превращается в фибрин, а FVa и FVllla активируются: тромбин проявляет протромботические свойства. Кроме того, когда формируются большие количества тромбина, TAFI и фактор XIII активируются, приводя к антифибринолитическому ответу.

Таблица 20.

Эффекты α-тромбина.

Протромботические эффекты	Антитромботические эффекты
Активация протеинов коагуляционного каскада (FV, VIII, VII, XI)	Стимуляция синтеза простациклина (PGI ₂) эндотелиальными клетками и активированными тромбоцитами
Активация и превращение растворимого фибриногена в фибрин	Стимуляция синтеза эндотелиальными клетками t-PA
Активация фибрин-стабилизирующего фактора в FXllla и стабилизация фибринового матрикса	Стимуляция синтеза NO эндотелиальными клетками — мощного вазодилатора и ингибитора тромбоцитов
Активация ингибитора фибринолиза (TAFI)	Связывание с тромбомодулином и активация протеина С с образованием APC — важнейшего антикоагулянта

Протромботические эффекты	Антитромботические эффекты
Активация тромбоцитов с высвобождением субстанций с прокоагулянтной активностью	
Стимуляция секреции vWF поврежденными эндотелиальными клетками	

Гипотеза, объясняющая протромботическое действие АФА, вытекает из хорошо известных прямых эффектов на формирование тромбина. Низкие концентрации APC циркулируют в крови здоровых людей. Это поддерживает исходную активацию PC и, таким образом, низкие уровни формирования тромбина. Гипотетически наличие АФА ингибирует эти низкие уровни формирования тромбина и снижает уровни циркулирующего APC. После повреждения сосудистой стенки уровень циркулирующего APC не достаточен для предупреждения неконтролируемого образования тромба, и тромб формируется. Гемостатический баланс смещается в протромботическую сторону.

Б. Анти ТМ антитела

У некоторых пациентов с АФС определяются антитела к ТМ. Всегда ли эти антитела ингибируют функциональную активность ТМ — не известно. Все же частота антиТМ антител в популяции столь низка, что это не может быть ведущим механизмом, объясняющим большинство АФА-тромбозов.

В. Приобретенная APC-R

Пациенты с АФС могут иметь аутоантитела, направленные против FVa. Эти аутоантитела не влияют на его прокоагулянтную функцию, но они защищают FVa от инактивации APC.

Замедленная деградация фактора Va обуславливает так называемый фенотип APC резистентности. В этом случае отсутствует истинная Лейденовская мутация, но фактор Va, связанный с AT, не ингибируется APC, сохраняя свою прокоагулянтную активность.

При этом нарушается не столько активация протеина С, сколько возникает резистентность к активированному протеину С.

Г. Приобретенный дефицит PC и/или PS

Имеется ряд публикаций, описывающих приобретенные дефициты PC или PS у отдельных пациентов с АФС. Тем не менее, исследования в больших популяциях АФА-позитивных пациентов не показали корреляцию между снижением плазменных уровней PC и наличием АФА. Однако было обнаружено, что $\beta 2GP1$ значительно нарушает связывание между PS и CB4b, и что АФА повышают аффинность PS к CB4b, что может приводить к приобретенному дефициту свободных уровней PS.

Хотя в целом снижение уровней PC и PS у пациентов с АФА явление достаточно редкое, в некоторых отдельных случаях можно обнаружить комбинацию низких уровней PC или PS с наличием АФА. Эти случаи, вероятно, очень опасны в плане тромботических осложнений.

АФА могут снижать способность активированного протеина С к инактивации фактора Va и VIIIa на фосфолипидной поверхности. Кроме того, АФА также могут ингибировать активацию протеина С в присутствии или отсутствии протеина S.

Степень влияния АФА на процессы инактивации протеином С факторов Va и VIIIa отчасти зависит от типа и конфигурации фосфолипидов в системе. Фосфолипидный состав на мембране может определять относительную активность в специфичных энзимных реакциях в системе протеина С. Внедрение фосфатидилэтаноламина (ФЭ) в везикулы, содержащие фосфатидилсерин (ФС) усиливает способность активированного протеина С (APC) ингибировать фактор Va десятикратно. Для сравнения, ФЭ оказывает незначительное влияние на активацию протромбина.

Большинство исследователей склоняются к мысли, что важное значение имеет изменение конфигурации фосфолипидов и приобретение ими в процессе конфигурации гексагональной формы, в то время как в физиологических условиях фосфолипиды обладают двухслойной или ламеллярной структурой. Вероятно, это более характерно для нейтрального ФЭ, который, приобретая гексагональную конфигурацию, становится способным участвовать в образовании комплекса с АФА и кофактором.

Важный вклад в развитие тромбофилии в результате повреждения системы протеина С вносит и снижение фибринолитической активности в результате отсутствия ингибирующего влияния APC на ингибитор активатора плазминогена.

Таким образом, при АФС практически «выключается» из противосвертывающей системы один из важнейших естественных антикоагулянтов — протеин С.

Помимо эндотелиальных нарушений одним из основополагающих механизмов тромбофилии является тромботическая тромбоцитопения, сопровождающаяся агрегацией тромбоцитов. Наличием тромбоцитарных тромбов у больных с АФС объясняется «белый сгусток», который хирурги нередко обнаруживают у больных с АФС.

Участие тромбоцитов в качестве мишени для циркулирующих АФА в условиях АФС, в настоящее время уже не вызывает сомнений. Участвуя в процессах адгезии и агрегации, тромбоциты претерпевают ряд изменений, включая изменение формы, выделение гранул и разупорядочивание внутренних мембранных фосфолипидов и протеинов с трансформацией их в высокоэффективную прокоагулянтную поверхность.

Исследования, проведенные с использованием потоковых (жидкостных) систем, которые воспроизводят физиологические условия, показали у пациентов с СКВ и первичным АФС повышение формирования тромбоцитарных тромбов при добавлении малых количеств плазмы пациентов или очищенных иммуноглобулинов с АКА активностью в нормальную кровь, но это происходило только при добавлении плазмы пациентов с тромбозами в анамнезе. Подобные результаты наблюдались в схожих системах при проведении экспериментов с использованием человеческих моноклональных АКА.

Идентификация маркеров активации тромбоцитов у большинства пациентов с АФС выявляет нарушенную регуляцию эйкозаноидов: ингибицию синтеза простаглицлина и/или повышение продукции тромбоксана тромбоцитами. Ряд исследований демонстрирует повышение CD62p (P-селектина) и количества микрочастиц тромбоцитов, подтверждая усиление активации тромбоцитов *in vivo* у больных с АФС.

Теоретически существует несколько механизмов, объясняющих действие АФА на гемостаз. АФА могут прямо ингибировать энзиматическую или кофакторную функцию гемостаза, действуя как блокирующие агенты. Они могут связывать жидкофазные протеиновые агенты гемостаза и затем снижать уровни антигенов через клиренс с иммунными комплексами; АФА и их антигены могут формировать иммунные комплексы, которые могут депонироваться в кровеносных сосудах, приводя к воспалением и повреждениям ткани. АФА могут приводить к дисрегуляции антиген-ФЛ связывания и, как следствие, к перекрестному связыванию антигенов с мембраной. АФА могут запускать клеточно-опосредованные процессы через перекрестно связанный с поверхностью клетки антиген или рецепторы клеточной поверхности. Некоторые характеристики АФА (такие как концентрация, класс/подкласс, валентность, аффинность или заряд) и некоторые характеристики антигенов (концентрация, размер, валентность, размещение или заряд) теоретически могут влиять на эффекты аутоантител, наблюдаемые *in vivo*.

Как уже указывалось, нормальные мембраны тромбоцитов имеют четкую фосфолипидную асимметрию. Внешний слой мембраны богат холин-фосфолипидами, тогда как аминокислотные фосфатидилсерин (ФС) преимущественно локализуется в цитоплазматическом листке мембраны тромбоцитов, тогда как в тромбоцитах,

подвергшихся активации, теряется физиологическая ФЛ асимметрия и повышается экспозиция анионных ФЛ, в основном ФС, снаружи клеточной мембраны. В процессе активации тромбоцитов происходит быстрое перемещение ФЛ с листка на листок мембраны (флип-флоп эффект). Кроме того, при активации тромбоцитов обнажение анионных ФЛ сочетается с выделением прокоагулянтных микровезикул. Наружная экспрессия ФЛ на мембране тромбоцитов зависит от типа активатора тромбоцитов, наиболее мощный — кальций-ионофор. Некоторые исследователи показали, что АФА могут связываться с поверхностью тромбоцитов, и это связывание выше у активированных или поврежденных тромбоцитов, чем у спокойных.

Мембраны активированных тромбоцитов — важный источник отрицательно заряженных ФЛ, обеспечивающих каталитическую поверхность для взаимодействия факторов коагуляции. Способность тромбоцитов поддерживать теназную и протромбиназную активность (а также активность протеина С) коррелирует с проявлением асимметрии ФЛ мембраны тромбоцитов. Связываясь с ФЛ-поверхностью, АФА могут влиять на сборку протромбиназного активационного комплекса (факторы Ха, Va, ФЛ и Са) на тромбоцитарной прокоагулянтной поверхности или снижать связывание протромбина с другими факторами. Связывание АФА (по меньшей мере, некоторых из них с ВА-активностью) с ФЛ приводит к снижению пика протромбиназной активности. Этот эффект может ингибироваться наличием ФЛ, причем зависит больше от их количества, чем от их вида.

Взаимодействие тромбоцитов с АФА, возможно, по меньшей мере тремя разными путями:

- 1) иммуноглобулины могут связываться через Fab — терминалы со специфическими тромбоцитарными антигенами (или с другими антигенами, депонированными на тромбоцитах) путем классической антиген-антитело реакции;
- 2) иммунные комплексы могут связываться с тромбоцитами через FcγRII рецепторы.;
- 3) АФА, подобно другим иммуноглобулинам, могут связывать тромбоциты неспецифическим способом через механизм, не охарактеризованный в достаточной мере, но, вероятно, связанный с повреждением тромбоцитарной мембраны. Последний механизм (неспецифическое связывание), видимо, не обладает патофизиологической ролью в АФС-тромбозах.

В настоящее время идентифицировано 3 семейства FcγR молекул (RI, RII, RIII), которые содержат несколько аллельных вариантов. FcγR молекулы, присутствующие на тромбоцитах, представлены только FcγRII. FcγRII обнаружены также на моноцитах, нейтрофилах и обладают низкой аффинностью к Fc порции мономерных IgG, но высоко аффинны к Fc порции IgG в иммунных комплексах или IgG, связанных с антигеном на поверхности тромбоцита. Активация FcγRII рецептора приводит к активации тромбоцита и выделению гранул. Эти рецепторы реагируют лучше с подклассами 1 и 3 Ig человека.

Наиболее интересное предположение относительно активности β2GP1, связывания АФА с тромбоцитами и активации тромбоцитов связано с патогенным «сценарием», предложенным J. Arnout и J. Vermilen. Согласно этой гипотезе, небольшая предварительная активация тромбоцитов, продуцируемая физиологическими или патологическими состояниями, приводит к экспрессии ФЛ на поверхности тромбоцитов. Это — инициальное необходимое условие для дальнейшей активации тромбоцитов.

Тромбоцитопения при АФС является по своей сути тромбоцитической и иммунной по механизму развития. Механизмы иммунных тромбоцитопений при различных патологических состояниях во многом схожи и, возможно, универсальны: это относится, в первую очередь, к гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ II). Основной момент патогенеза — возможность взаимодействия FcγRII-рецептора тромбоцита с Fc-частью антитела, что ведет к трансдукции сигнала и активации тромбоцитов с реакцией освобождения и гиперагрегацией.

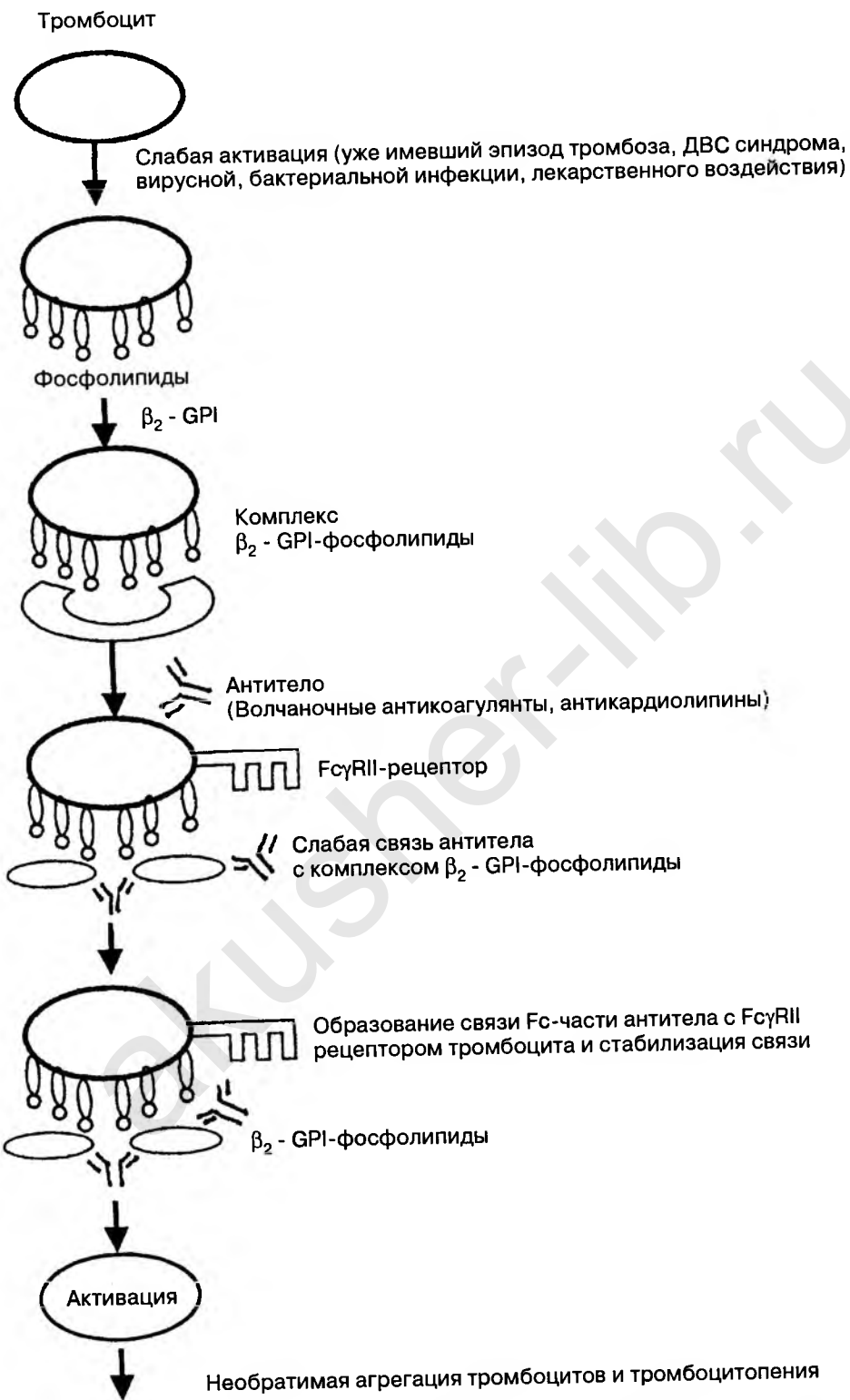


Рис. 21. Механизм развития иммунной тромбоцитопении при АФС.

Однако прямое взаимодействие FcγRII-рецептора с Fc-частью антитела невозможно: необходим «посредник», выступающий в качестве антигенной мишени для антитела и локализованный на поверхности тромбоцита. Только после связи антитела с антигенной мишенью на поверхности тромбоцита становится возможным взаимодействие между FcγRII-рецептором тромбоцита и Fc-частью антитела. При различных патологических состояниях, сопровождаемых иммунной тромбоцитопенией (гепарин-индуцированная тромбоцитопения, АФС и пр.), антигенные мишени, равно как и антитела, различны. Так, при ГИТ в качестве антигенной мишени выступает комплекс гепарин-PF4, при АФС же — комплекс между сывороточным белком-кофактором (β2GP1, протромбин, возможно, другие белки) и отрицательно заряженными фосфолипидами. Наиболее вероятная модель развития тромбоцитопении при АФС может быть представлена следующим образом (рис. 21).

1. После слабой активации тромбоцитов (в результате уже имевшего место тромбоза в анамнезе, при вирусной и бактериальной инфекции и прочее) отрицательно заряженные фосфолипиды экспонируются на поверхности тромбоцитов.

2. Фосфолипид-связывающие протеины, такие как, например, β2GP1, слабо связываются с отрицательно заряженными фосфолипидами, представленными на тромбоцитарной поверхности, образуя антигенную мишень.

3. Антифосфолипидные антитела стабилизируют эту связь путем образования комплекса с антигенной мишенью и дополнительно путем образования связи между FcγRII-рецептором и своей Fc-частью.

4. Большая занятость FcγRII-рецептора приводит к трансдукции сигнала и активации тромбоцитов в результате сигнал-обусловленной мобилизации кальция из тубулярной системы в цитоплазму и активации фосфолипазы A2, что ведет к запуску «арахидонового каскада» с образованием значительных количеств тромбоксана A2 (TxA2), ведущих к интенсивной необратимой внутрисосудистой агрегации тромбоцитов, вазоконстрикции и, следовательно, к нарушениям в микроциркуляции. Агрегация тромбоцитов, в свою очередь, сопровождается реакцией освобождения из них биологически активных веществ, также оказывающих влияние на агрегацию тромбоцитов и микрочастиц-derivатов с прокоагулянтной активностью. Реакция освобождения происходит при мобилизации кальция в цитоплазму в необходимых для этого количествах. В процессе реакции высвобождения из тромбоцитов выделяются ADF и TxA2, серотонин, которые сами по себе вызывают дальнейшую активацию тромбоцитов с гиперагрегацией и вазоконстрикцией, а также факторы PF4, β-тромбоглобулин, который ингибирует действие простаглицина — важнейшего естественного антиагреганта, фактор роста, фактор Виллебранда, фибронектин, тромбоспондин, а также лизосомальные ферменты.

Следует отметить, что регулятором внутритромбоцитарных реакций является цАМФ, от которого зависит переход кальция из цитоплазмы в тубулярную систему.

Как упоминалось, АФА, связанные с тромбоцитарными мембранами, также могут проявлять свои эффекты через активацию комплемента. Так, у пациентов с АФС и церебральной ишемией выявлено повышение уровней инактивированного терминального мембран-атакующего комплекса комплемента (C5b-9). Эти данные подтверждают возможную роль активации комплемента в патофизиологии АФС. Известно, что C5b-9 может являться причиной активации тромбоцитов. Более того, комплемент, активированный при наличии АФА, связанных с отрицательно заряженными ФЛ, может стать причиной активации тромбоцитов и, в ряде случаев, их деструкции. Согласно вышеизложенному, предложенная гипотеза Арно о FcγRII-опосредованной активации также может быть применена к комплемент-опосредованной активации тромбоцитов при АФС. Первое, необходима инициальная активация тромбоцитов (например, при небольшом локальном повреждении сосуда). Затем отрицательно заряженные ФЛ появляются на малой площади поверхности тромбоцитов, и АФА могут связываться с этими ФЛ или с протеинами, связанными с этими ФЛ. АФА, фиксированные на поверхности тромбоцитов, могут индуцировать ак-

тивацию комплемента Fc γ R11-независимым путем, приводя к большей активации тромбоцитов. Дополнительно действие C5b-9 может повышать миграцию ФС через слои мембраны тромбоцита, приводя к усилению связывания с АФА, формируя порочный круг.

Помимо протромботических эффектов антифосфолипидных антител в отношении эндотелиоцитов и тромбоцитов, важную роль в патогенезе тромбофилии при АФС играют взаимоотношения АФА с другими клетками. К этим клеткам, с которыми АФА связываются через β 2GP1 (а возможно и через другие кофакторы) относятся нейтрофилы, моноциты и клетки трофобласта.

В 1994 г. Arvieux et al. впервые описали β 2GP1-опосредованное связывание анти- β 2GP1-антител с ВА-активностью с нейтрофилами человека, что сопровождалось активацией и адгезией к эндотелиальному монослою. Помимо этого был отмечен протеолитический кливаж (отщепление) гепаран-сульфата от эндотелиальной мембраны. Наблюдаемые эффекты также зависели от связывания антител с Fc γ R11-рецепторами нейтрофилов. Авторы сделали заключение, что взаимодействие между нейтрофилами и эндотелиальными клетками в присутствии АФА ведет к протромботическим эффектам.

Аутоантитела при АФС способствуют и индукции TF-экспрессии на моноцитах. Поскольку моноциты также располагают Fc γ R11-рецепторами, возможно, что взаимодействие АФА с этими клетками также происходит за счет «оккупации» этих рецепторов. В качестве альтернативы, возможно в этот процесс может вовлекаться система комплемента, так как известно, что C5a индуцирует экспрессию TF на моноцитах.

В последнее время одна из ведущих ролей в патогенезе АФС отводится аннексину V. Аннексин V (антикоагулянтный плацентарный протеин-I, сосудистый антикоагулянт альфа) обладает мощными антикоагулянтными способностями *in vitro*, основанными на высокой аффинности к анионным фосфолипидам и его способности «изолировать» коагуляционные факторы от фосфолипидных поверхностей. Идентичный протеин был получен из человеческой плаценты (плацентарный антикоагуляционный протеин I) и из кровеносных сосудов (сосудистый антикоагулянт альфа). Различные аннексин-протеины стали интенсивно обнаруживать в других тканях. Уже идентифицировано, по меньшей мере, 27 аннексин-протеинов, большинство из которых обнаружены в растущих клетках. Как правило, аннексины содержат 2 высоко гомологичных домена, каждый из которых содержит около 70 аминокислот. Уникальность каждого протеина состоит в структуре его аминокислотной последовательности. Функции этих протеинов достоверно еще не установлены: последние исследования роли аннексин-протеина при АФС-синдроме, когда аннексин V снижается (смотри ниже) и при аномальной кровоточивости у группы больных с острой промиелоцитарной лейкемией, при которой аннексин-II повышается, позволило выделить новый класс заболеваний, с условным названием «аннексинопатии».

Аннексин-V обладает мощной антикоагулянтной способностью *in vitro* и значительно пролонгирует фосфолипид-зависимые реакции коагуляции. Причина антикоагуляционного эффекта заключается в способности белков вытеснять протеины коагуляции с фосфолипидных поверхностей. Представляет интерес гипотеза, согласно которой аннексин-V формирует гроздь на «незащищенных» фосфолипидах. Такое «гроздеобразование», вероятно, функционально важно, поскольку оно формирует протективный щит из аннексина-V на фосфолипидной поверхности, который блокирует способность фосфолипидов к реакциям коагуляции.

Унифицированная гипотеза АФА-опосредованных тромбозов, предложенная Rand et al., подразумевает разрушение аннексин-V-щита. Тромбофилия является следствием уменьшения аннексина-V на апикальной поверхности плацентарного трофобласта и сосудистых эндотелиальных клеток, когда эти клетки вступают в контакт с текущей кровью. Этот мощный антикоагулянтный протеин играет тром-

борегуляторную роль на участке контакта сосуда и крови и защищает анионные фосфолипиды (которые в противном случае служат как эффективные кофакторы для образования комплекса коагуляционных факторов) от соучастия в коагуляционных реакциях (рис. 22). АФА, связываясь с высокой аффинностью с фосфолипидами, или протеин-фосфолипидными комплексами, которые могут содержать $\beta 2\text{GP1}$, протромбин или другие протеиновые кофакторы, влияют на способность аннексина-V закрывать поверхность, и, следовательно, усиливают способность фосфолипидов к коагуляционным реакциям. Аннексин-V, покрывающий фосфолипидную поверхность в виде ковра и защищающий фосфолипиды от возможности любых коагуляционных реакций, вытесняется АФА, высокая аффинность которых является следствием формирования бивалентных комплексов с $\beta 2\text{GP1}$ на поверхности фосфолипидной мембраны. Антитела, которые связываются с этой тромбогенной поверхностью на месте случайных выступов, влияют на формирование щита и обнажают на окружающей поверхности повышенное количество фосфолипидов, готовых начать коагуляционные реакции. АФА-опосредованное усиление связывания протромбина с трофобластом в присутствии аннексина-V, вероятно, происходит также подобным образом.



Рис. 22. Механизм повреждения антикоагулянтной функции аннексина V антифосфолипидными антителами.

Хотя тромбофилический характер нарушений при АФС не вызывает сомнений, довольно интересным является вопрос: почему же *in vitro* имеет место гипокоагуляция, о чем свидетельствует удлинение фосфолипид-зависимых тестов (АЧТВ, время с разведенным ядом гадюки Рассела и пр.).

В свете изложенной выше гипотезы это можно объяснить следующим образом. ВА-эффект *in vitro* является феноменом, который имеет место лишь в случае, если АФА, белки-кофакторы ($\beta 2\text{GP1}$, протромбин) и факторы свертывания представлены вместе с ограниченным количеством фосфолипидов в реакциях коагуляции при отсутствии значимой концентрации аннексина V (нормальная концентрация в сыворотке = 10 нг/мл). В этом случае высокоаффинные комплексы АФА с белками-кофакторами будут успешно конкурировать с факторами свертывания за фосфолипидную поверхность. Большая занятость этими комплексами имеющихся в ограниченном количестве фосфолипидов и объясняет «гипокоагуляционный» эффект АФА *in vitro*.

В последние годы появились данные об участии относительно недавно открытого феномена — апоптоза — в патогенезе опухолевых процессов, а также, возможно, и в патогенезе АФС и др. патологических состояний.

Впервые термин «апоптоз» появился 27 лет назад для характеристики особой формы программированной гибели клеток, отличной от некроза. На сегодняшний день известно, что апоптоз является генетически-контролируемым и

энергетически-зависимым фундаментальным процессом, играющим важнейшую роль в поддержании гомеостаза в многоклеточных организмах. Множество патологических процессов представляют собой либо избыточное отмирание клеток, проявляющееся потерей клеток, либо дефекты апоптоза, проявляющиеся «накоплением» клеток или пролиферацией.

Плазматическая мембрана клетки имеет более 2500 рецепторов на своей поверхности. На эти рецепторы действует огромное количество входящих сигналов. Клетка обладает интегративной функцией — она отвечает не на каждый сигнал в отдельности, а как бы суммирует все сигналы и выдает свой, обособленный, ответ, который не мог бы вызвать ни один сигнал сам по себе. Такая интегративная функция осуществляется благодаря слаженной работе ряда клеточных систем — трансдукторов сигналов, то есть систем, основная функция которых состоит в донесении сигналов до генома, непосредственно генетического ответа, то есть системы активации и/или репрессии тех или иных генов, и эффекторных молекул, сочетание которых позволяет сформировать клеточный ответ. Такое множество входящей информации подвергается конвергенции уже на пострецепторном уровне: существует определенный ограниченный, более или менее общий набор сигнал-передающих систем, количество которых существенно ниже, нежели количество и разнообразие входящих импульсов. В единицу времени действуют почти все сигнал-передающие системы, а сочетание их конечных продуктов и определяет ту или иную реакцию клетки.

Апоптоз затрагивает все системы клетки, при этом перестраивается энергетический обмен, перестраивается уровень экспрессии тех или иных рецепторов, происходят структурные изменения (табл. 21).

Таблица 21.

Основные морфологические и биохимические проявления и отличия апоптоза и некроза.

Критерий	Апоптоз	Некроз
Цитоплазма	Конденсация и фрагментация	Лизис
Целостность мембраны	Долго сохраняется	Рано разрушаются
Митохондрии	Долго сохраняются	Сморщиваются, характерен захват Ca^{+2}
Ядро	Хроматин конденсирован, часто очерчен, подвергается краевому перераспределению	Кариопикноз, кариолизис
Фагоцитоз клеток	Длится от нескольких минут до 1 часа	Отсутствует
Возможность блокады гибели клетки	Блокаторы кальциевых каналов	Не блокируется
Первичные биохимические проявления	Активация эндонуклеаз	Сморщивание клеток, лизис цитоплазматических структур
Биохимические изменения в цитоплазме	Синтез специфических белков, лизосомы интактны	Разрушение лизосом, отсутствие белкового синтеза
Биохимические изменения в ядре	Разрывы ДНК между нуклеосомами	Диффузная деградация

Критерий	Апоптоз	Некроз
Механизмы инициации	Генетические, физические, химические, трофические, гормональные	Токсины, физические факторы
Воспалительный процесс	Отсутствует	Есть

Апоптоз сопровождается изменениями морфологии клеток, среди которых чаще всего встречаются конденсация ядра и выделение мембранных частиц (табл. 21). Дезинтеграция путем фрагментации — окончательная стадия гибели клеток. Следует отметить, что апоптоз характерен для ядерных клеток (клеток-эукариот), хотя существует паразитальное сходство между активированными тромбоцитами, которые, как известно, являются безъядерными клетками, и апоптозными клетками.

Последние исследования показали, что универсальным условием для апоптоза является раннее перераспределение фосфолипидов мембран клеток или, иначе, так называемая «потеря асимметрии» фосфолипидных мембран. В физиологических условиях имеет место асимметрия фосфолипидных мембран, которая заключается в том, что отрицательно заряженные фосфолипиды локализованы на внутреннем листке плазматической мембраны, в то время как на наружной — нейтральные и положительно заряженные. После индукции апоптоза, фосфатидилсерин, главный мембранный анионный фосфолипид, перемещается с внутреннего слоя клеточной мембраны на внешний. Эта потеря мембранной асимметрии является очень ранней, характерной чертой клетки, подвергающейся апоптозу, и предшествует «пузырению» мембраны и конденсации хроматина. Существует, по крайней мере, 2 механизма, содействующих разным степеням потери мембранной асимметрии в ходе апоптоза. В нормальных условиях, как уже указывалось, мембранная асимметрия ФЛ поддерживается аминокислотной транслоказой. Этот фермент способствует транслокации ФС и на поздних стадиях ФЭ с внешней на внутреннюю поверхность клеточной мембраны АТФ-зависимым способом.

Ограниченные способности этого фермента подтверждают, что его главная роль состоит скорее в сохранении асимметрии липидов: ингибция этой транслоказы в нормальных клетках не приводит к значительным потерям асимметрии. Итак, хотя апоптоз ассоциируется с разрегулированием активности аминокислотной транслоказы, выглядит весьма маловероятным, что ингибция только этой транслоказы приводит к «переходу» ФЛ на внешний листок мембраны. Апоптоз также приводит к активации неспецифической липидной скрамблазы, что приводит к двунаправленному трансмембранному движению всех классов липидов. Этот феномен скрамблинга (перемешивания) мембранных липидов имеет место и при активации тромбоцитов и эритроцитов.

Экспозиция ФС на поверхности активированных тромбоцитов важна для осуществления нормального гемостаза, о чем свидетельствует факт, что при синдроме Скотта, характеризующемся снижением PS-экспозиции, имеет место кровоточивость.

Вдобавок к своему прямому прокоагулянтному потенциалу в теназных и протромбиназных комплексах, ФС играет важную роль в инициальной фазе коагуляции, увеличивая каталитическую эффективность комплекса тканевой фактор/фактор VIIa. Фосфатидилэтаноламин также может участвовать в этой реакции при уменьшении запаса ФС.

Другое следствие экспозиции ФС и, возможно, ФЭ — развитие аутоиммунного ответа. В результате экспериментов J. Rauch et al. было показано, что апоптозные клетки являются первичными антигенными и иммуногенными источниками, а аномалии при распознавании апоптозной клетки в начале или в ходе процесса апоптоза приводят к немедленной индукции аутоиммунного процесса.

Удаление апоптозных клеток из организма осуществляется макрофагами. При активации макрофага в процессе иммунного ответа происходит выброс TNF- α — мощного активатора тромбопластина, также мощного активатора свертывания. Макрофаг распознает апоптозную клетку благодаря трем механизмам, причем тип распознавания зависит от вида клетки и от стадии процесса. При первом типе взаимодействие макрофага и апоптозной клетки происходит через представленные на мембране в норме N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин и галактозу, что позволяет им связываться с лектинами макрофагов. При втором типе взаимодействия тромбоспондин, который синтезирует и выбрасывает в микроокружение макрофаг, скрепляет апоптозную клетку и макрофаг через $\alpha 4\beta 3$ интегриновые рецепторы макрофага. Третий путь имеет наибольшее отношение к АФС, он связан с переходом мембранного ФС с внутренней поверхности мембраны клетки на наружную в самом начале процесса апоптоза. Специфические рецепторы макрофагов распознают этот анионный ФЛ, что позволяет им вступать в реакцию с апоптозной клеткой.

В результате чего же происходит ошибка при распознавании апоптозной клетки? Как уже отмечалось, апоптоз характеризуется усилением процессов образования радикалов кислорода, наиболее активным из которых является гидроксидрадикал, способный напрямую повреждать макромолекулы, включая ДНК, протеины и липиды клеточной мембраны. Радикалы кислорода способны модифицировать как сами по себе ФЛ, так и конструкцию ФЛ-протеинового комплекса двумя путями: прямой путь, через воздействие на аминокислоты $\beta 2GP1$, и не прямой, через высоко реактивные липиды и радикалы, полученные в результате перекисидации цепочек жирных кислот ФЛ. Чувствительность к перекисидации прямо пропорциональна количеству двойных карбоновых связей, то есть количеству полиненасыщенных жирных кислот, которые являются излюбленными липидными мишенями для радикалов кислорода.

Модификации в результате воздействия радикалов кислорода на ФЛ и ФЛ/протеиновые комплексы могут привести к образованию новых эпитопов, каждый из которых может стать антигеном или иммуногеном. Однако новые анти/иммуногены мембраны способны появляться не только в результате химических превращений в уже существующих эпитопах, но и в результате проявления критических эпитопов, в норме существующих внутри ФЛ и ФЛ/протеиновых комплексов. Итак, экспозиция анионных ФЛ, таких как ФС, на поверхности апоптозных клеток может приводить к специфическому взаимодействию с циркулирующими ФЛ-связывающими протеинами (как $\beta 2GP1$). Окислительные изменения на поверхности апоптозных клеток приводят к анти/иммуногенности связанного с ФЛ мембраны апоптозной клетки $\beta 2GP1$. Таким образом, потенциальной антигенной мишенью для АФА является $\beta 2GP1$, связанный с апоптозной клеткой.

При большинстве патологических состояний апоптоз может возникать в разное время в клетках разного типа. Об этом свидетельствует состав мембранных микрочастиц, выделяемых при апоптозе, и в особенности мембранные антигены, обладающие тенденцией взаимодействовать с мембранными протеинами, имеющими сродство к ФС, включая $\beta 2GP1$, протромбин, протеин С, протеин S, аннексины, или к ФЭ (кининогены). Разнообразие неопитопов, образующихся в результате присоединения этих протеинов, которые могут выступать в роли белков-кофакторов при АФС вместе с разнообразием типов клеток, объясняют гетерогенность фосфолипид-связывающих АФА. Следовательно, антифосфолипидные антитела могут указывать на наличие апоптоза. Некоторые АФА реактивны в отношении именно окисленных фосфолипидов.

Интересно, что те же самые факторы, которые указывались выше в качестве причины активации тромбоцитов при описании АФС, являются также и индукторами апоптоза (радиация, механическое повреждение, оксиданты, ксенобиоти-

ки, рецептор-медиаторные сигналы, TNF и ЛПНП, оксистеролы, аутоантитела, нуклеотиды, тепловой шок и пр.).

В свете вышеизложенного, нам представляется возможным существование непосредственной связи между процессом апоптоза и АФА также по следующему сценарию.

Аннексин V, который обладает высоким сродством к ФС, является своеобразным маркером апоптоза и теперь широко используется как проба на апоптоз клеток, в то же время проявляет свойства естественного антикоагулянта.

В физиологических условиях аннексин V связывается с апоптозными клетками, на поверхности которых экспонирован ФС, образуя «протективный щит» и препятствуя тем самым связыванию факторов свертывания с фосфолипидной матрицей и возможному чрезмерному прокоагулянтному эффекту.

АФА, способные образовывать бивалентные комплексы с $\beta 2GP1$ или с другими белками-кофакторами, способны конкурировать с аннексином V за фосфолипид (ФС). Нарушая аннексиновый щит они способствуют «обнажению» фосфолипидов на поверхности клеточной мембраны и делают ее доступной для факторов свертывания, провоцируя прокоагулянтный ответ.

С одной стороны, АФА как аутоантитела сами могут индуцировать усиление апоптоза; с другой стороны, возможно, при чрезмерной активации процесса апоптоза аннексины не справляются с повышенными требованиями, в связи с чрезмерной экстернализацией анионных фосфолипидов, в результате чего «незащищенные» фосфолипиды включаются в коагуляционный каскад; в свою очередь активация процесса апоптоза может вызывать увеличение образования АФА, тем самым замыкая порочный круг.

Таким образом, функция аннексина V является своеобразной «защитой» системы гемостаза от возможных негативных результатов физиологического апоптоза.

В заключение следует отметить, что во многих случаях в основе образования аутоантител лежит нарушение процесса апоптоза на различных уровнях организации организма: от клеточного до системного. Упрощенно, картину образования антифосфолипидных антител можно представить следующим образом.

Нарушение апоптоза во время формирования иммунной реакции может привести к развитию иммунного ответа, направленного против фосфолипид-белкового комплекса. Снижение количества апоптических процессов, которое наблюдалось в экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний, ведет к меньшей экстернализации анионного фосфатидилсерина. Во время реализации толерантности к собственным антигенам, сниженное количество образованных фосфолипид-белковых комплексов, а также их неизбежная модификация и возможное нарушение фагоцитоза, ведет к моноклональной активации Т и В лимфоцитов против этих эпитопов. Важно подчеркнуть, что необязательно появляются новые эпитопы, их должно быть просто меньше некой пороговой величины, при которой иммунная система распознает их как свои. Активация В-лимфоцитов ведет к генерации аутоантител, направленных против фосфолипид-белковых комплексов.

Может развиться обратная картина — увеличенный уровень апоптоза. Это ведет к повышению количества фосфатидилсерина и фосфолипид-белковых комплексов, а, следовательно, к большей их модификации с появлением новых, не известных иммунной системе, эпитопов. Макрофаги, не распознающие новые эпитопы, переключаются на путь иммунного фагоцитоза, что приводит к активации Т-лимфоцитов и к генерации антифосфолипидных аутоантител.

Как только появляются первые антифосфолипидные антитела, и в том, и в другом случае формируется порочный круг: связываясь с неизменными новыми фосфолипид-белковыми комплексами на поверхности апоптозных клеток, они потенцируют формирование иммунной реакции, а также сдвигают коагуляционный гомеостаз в прокоагулянтную сторону.

Акушерские аспекты патогенеза тромбофилии при АФС

Несмотря на некоторое различие взглядов на конкретный механизм взаимодействия антиген-антитело, однозначным является то, что реализация этих механизмов в организме человека происходит через нарушение микроциркуляции, гемостаза и патологию сосудистой стенки. Причем именно при беременности возникает уникальная, комплексно функционирующая система трех эндотелиальных поверхностей — фетоплацентарного эндотелия, эндотелия сосудов матки и эндотелия трофобласта, выстилающего межворсинчатое пространство. И проявляться эти нарушения могут на всех сроках беременности, начиная с момента зачатия.

После оплодотворения зигота активно делится, на 6 день после овуляции происходит первый контакт образовавшейся бластоцисты с эпителием матки, на 7 день начинается прикрепление и инвазия. Между 10 и 13 днем после овуляции между пролиферирующими клетками трофобласта начинают образовываться лакуны, которые в дальнейшем будут увеличиваться, сливаться и преобразовываться в межворсинчатое пространство плаценты. Именно с этого момента начинается активный контакт с плазмой матери, а значит и циркулирующими АФА. К 21 дню после овуляции ворсины трофобласта уже достаточно васкуляризованы и можно констатировать факт установления маточно-плацентарного кровотока. Факторы, обеспечивающие инвазию трофобласта и нормальное развитие плаценты на ранних стадиях очень многообразны: факторы роста, цитокины, интегрины, молекулы адгезии, антигены комплекса гистиосовместимости (преимущественно 1 класс) и др.

АФА многосторонне, напрямую или опосредовано, влияют на процесс имплантации и ранние эмбриональные стадии.

В процессе подготовки к имплантации под влиянием прогестерона в эндометрии происходит повышение содержания ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1), тканевого фактора (ТФ) и снижение активаторов плазминогена тканевого и урокиназного типов, снижение металлопротеиназ матрикса и вазоконстриктора эндотелина 1. Эти механизмы регуляции гемостаза, фибринолиза, экстрацеллюлярного матрикса и сосудистого тонуса предотвращают образование геморрагий при инвазии трофобласта.

Со своей стороны эмбрион синтезирует активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов и протеазы, которые необходимы для разрушения экстрацеллюлярного матрикса в процессе имплантации. Их синтез ингибируется хорионическим гонадотропином (ХГ). Эмбрион выделяет также некоторое количество простагландинов. Дозированное разрушение матрикса происходит с помощью ферментов, секретируемых эмбрионом. Клетки эндометрия не фагоцитируются и не разрушаются, а отдвигаются посредством контактного ингибирования. Освободившееся место занимает эмбрион. Влияя на синтез PAI-1 и ТФ (повышая их экспрессию), АФА усиливают протромботические механизмы и десинхронизируют процессы фибринолиза и фибринообразования, что может вести к дефектам имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта.

Самые последние исследования с использованием моноклональных АТ к ФЛ показали, что АФА напрямую взаимодействуют с синцитиотрофобластом и цитотрофобластом и ингибируют межклеточное слияние клеток трофобласта. Инвазия трофобласта в спиральные артерии связана с продукцией ФАТ (ацетилглицеринового эфира фосфатидилхолина, процесс, который нарушается при наличии АФА).

В эксперименте человеческие поликлональные АКА ингибируют выделение ХГ из эксплантов плаценты. Таким образом, АФА непосредственно могут влиять на секрецию гормонов эмбриона и плаценты.

Поверхность эмбриона должна обладать определенным зарядом и специфической конфигурацией поверхностных гликопротеидов (лектин-конканавалина А), что обеспечивает ему частичную адгезивность.

АФА могут изменять поверхностные характеристики предимплантационного эмбриона: как заряд, так и конфигурацию.

Весьма весомым фактором представляется снижение уровня интерлейкина — 3 (IL-3) у беременных с АФС. IL-3 принадлежит к семейству лимфокинов, синтезируемых активированными CD4-клетками и Т-клетками, и является активным фактором роста трофобласта, способствуя имплантации и развитию плаценты, а также оказывает регуляторное действие на фибринолитические процессы в эндометрии (за счет активации урокиназы, превращающей плазминоген в плазмин). Аспирин является сильным индуктором продукции цитокинов и, в особенности IL-3, что частично объясняет его эффективность в малых дозах для лечения АФС. Высокий результат дает применение рекомбинантного IL-3 и это открывает новые перспективы терапии.

Как мы уже отмечали выше, процесс дифференцировки трофобласта сопровождается длительным экспонированием на наружную мембрану клеток отрицательно заряженных ФЛ, в частности ФС. ФС является матрицей для активации протромбиназного комплекса и протромбина.

Возникает вопрос, почему тромбообразование не происходит на протяжении всей физиологической беременности. Ответ на этот вопрос дает гипотеза «аннексинового щита», изложенная выше. Исследования последних лет показали, что в процессе дифференцировки трофобласта одновременно с экстернализацией ФС происходит выработка аннексина V, естественного антикоагулянта, с высокой специфичностью связывания с ФС. Сродство аннексина V к отрицательно заряженным ФЛ в 1000 раз сильнее, чем протромбина или фактора Ха. Он покрывает ФС по типу ковра, оказывая местный антикоагулянтный эффект.

Морфометрические исследования плацент от пациенток с АФС, а также с ВЗРП, выявили значительное снижение концентрации аннексина V.

АФА в присутствии β 2-гликопротеина 1, нарушают локальную антикоагулянтную активность Аннексина V. При этом возможны следующие механизмы снижения поверхностной концентрации Аннексина V:

— АФА блокируют транспорт Аннексина V на поверхность апикальной мембраны трофобласта.

— АФА удаляют Аннексин V с поверхности трофобласта с последующим его протеолитическим разрушением.

Казалось бы возникает парадокс — если АФА могут удалять и ингибировать связывание с отрицательно заряженными ФЛ Аннексина V, почему они не оказывают аналогичное действие на связывание с протромбином. По всей видимости, молекулы Аннексина V образуют на поверхности трофобласта межмолекулярные комплексы с множеством соединений по типу «ковра». АФА нарушают эти связи и удаляют Аннексин V с гораздо большей поверхности, чем способны покрыть сами, оставляя места связывания с протромбином.

Таким образом, повреждающее действие может осуществляться АФА несколькими путями:

- изменяются адгезивные характеристики предимплантационного эмбриона
- нарушается слияние синцития
- снижается глубину инвазии трофобласта
- подавляется продукция хорионического гонадотропина
- усиливаются тромботические тенденции за счет предоставления матриц для реакций свертывания

Последний момент объясняет положительный эффект от антикоагулянтной терапии с самых ранних сроков.

Эти механизмы также позволяют объяснить неудачные попытки искусственного оплодотворения и пересадки эмбриона у женщин с АФА.

По мере прогрессирования беременности тромбообразование в сосудах плаценты становится более очевидным. Механизмы его реализации изложены выше (эндотелиальная, плацентарная патология и пр.).

Тромбирование сосудов плаценты и, как следствие, прерывание беременности возможно на различных сроках. Но до сегодняшнего дня исследователей не

перестает интересоваться вопросом, почему местом реализации тромбоза в одном случае является плацента, а в других — сосуды сердца, мозга, сетчатки: что является фактором, определяющим локализацию тромботического процесса, и, самое главное, что обуславливает эпизодический характер процесса.

Многочисленные гистологические исследования плацент от пациенток с АФС представляют собой достаточно пеструю картину. Классифицировать эти морфологические повреждения достаточно сложно. Условно их можно подразделить на 3 варианта:

1. Первичные повреждения маточно-плацентарных сосудов с вторичным повреждением ворсин плаценты. Сюда включают фибриноидный некроз и/или атероз и отсутствие или незавершение физиологической конверсии основных спиральных сосудов. Последний диагноз ставится в случае, когда отсутствует или незавершено эндоваскулярное разрушение трофобластом мышечных и соединительнотканых компонентов децидуальных спиральных артерий, имеющее место при нормальной беременности. При неполноценной конверсии мышечные и соединительнотканые компоненты остаются в стенках сосудов, и сосуды похожи на спиральные сосуды поздней лютеиновой фазы. Вторичные повреждения ворсин включают инфаркты, фиброз конечных ворсин, гиповаскулярные и аваскулярные конечные ворсины.

2. Повреждения, связанные с патологией свертывания: тромбоз спиральных сосудов, избыточное отложение фибрина на поверхности трофобласта и в межворсинчатом пространстве и тромбоз основных сосудов плода и хориона.

3. Повреждения по типу хронического воспалительного процесса: маточно-плацентарный васкулит (мононуклеарная инфильтрация стенок сосудов), плотные децидуальные инфильтраты плазматическими клетками, мононуклеарная инфильтрация ворсин хориона и межворсинчатого пространства.

Плаценты от пациенток, получавших различную терапию во время беременности также гистологически не нормальны: отмечаются бессосудистые конечные ворсины, маточно-плацентарный васкулит, единичные тромбы, а также избыточное отложение фибриновых масс на поверхности трофобласта.

В случае нелеченого АФС и последовавшей гибели плода, а также при сочетании АФС и СКВ, морфологические нарушения представлены множественными инфарктами и некрозами плаценты, скоплением фибриноидных масс в межворсинчатом пространстве, атерозом и тромбозом спиральных артерий, при этом в большинстве случаев отсутствует или не завершена трофобластическая конверсия.

Тем не менее, следует отметить, что тромбоз сосудов плаценты не абсолютно специфичен для АФС и, обычно, не так значителен, чтобы полностью объяснить весь спектр клинических проявлений, вплоть до внутриутробной гибели плода. Возможно, что тромбирование сосудов плаценты является неспецифическим маркером повреждений трофобласта при АФС. Избыточное отложение фибрина также может рассматриваться и как признак локальной активизации каскада свертывания, и как неспецифический признак повреждения синцитиотрофобласта по типу отторжения аллографта.

Конечный результат представляется суммой воздействий АФА на различные этапы формирования и функции трофобласта. Некоторые исследователи полагают, что изучение морфологии плаценты дает неполную картину патологии материнских сосудов. Необходимую информацию возможно получить при биопсии плацентарного ложа, однако такие исследования представляются весьма затруднительными.

Плаценты от пациенток с циркуляцией АФА без клинических проявлений АФС, получавших во время беременности аспирин в низких дозах, характеризуются нормальными гестационными изменениями.

В условиях циркуляции АФА в кровотоке матери Ig класса G свободно проникают в кровотоки плода через поры трофобласта после 15 недель беременности и

могут оказывать прямое повреждающее действие на плод. Отметим, что этот факт неоднократно подтвержден исследованиями плацент в случаях потери плода.

На первый взгляд очевидными представляются макротромботические осложнения также у плода и у новорожденного. Наиболее часто, по данным литературы, встречается тромбоз почечных вен новорожденного.

Снижение активности системы фибринолиза (снижение концентрации плазминогена при одновременном увеличении тканевых активаторов и ингибиторов активаторов плазминогена), несбалансированность системы коагуляции в онтогенезе и при рождении (снижены уровни вит. К — зависимых факторов, но фибриноген, FV, FVIII аналогичны или даже выше, чем у взрослых) предрасполагают не только к геморрагиям, но и к тромботическим осложнениям при наличии такого фактора риска, как циркуляция АФА. Повреждение эндотелия при циркуляции АФА достоверно подтверждено у взрослых. Логично предположить, что подобные изменения возникают и у плода, вызывая более выраженные макротромботические, воспалительные и гипоксические повреждения в незрелых и, следовательно, менее защищенных тканях плода. Морфологически такие изменения не являются специфическими для АФА, и часто в качестве этиологического фактора называются казальсь бы, более очевидные причины (инфекционные и др.).

Возможно также прямое повреждающее действие АФА на ткани плода. Описаны поражения сердечно-сосудистой системы плода в виде блокады проводящих путей, глазной альбинизм, водянка плода и др.

Существует также мнение, что успешный исход беременности не зависит от наличия АФА до беременности. Авторы гипотезы предполагают, что выработка АТ к ФЛ-антигенам плода имеет место и в норме. По мере прогрессирования беременности титр АТ должен снижаться, т.е. подвергаться обратной регуляции. Если этого не происходит, что возможно при нарушениях в системе иммунной регуляции, титр нарастает и беременность прерывается.

Еще одним важным аспектом является часто семейный (и возможно наследственный) характер АФС. В одном недавнем исследовании было показано, что у 1 из 3 родственников пациентов с АФС титр АФА повышен и они более склонны к заболеваниям, связанным с АФС. Развитие АФС связывают с носительством локусов DR4, DR7, DRw53, DRB1 системы HLA. Существует мнение, что для АФС более характерен аутосомно-доминантный тип наследования.

Синдром может носить как спорадический, так и наследственный характер. И возможно, именно исследования в области генетических механизмов дополняют современные взгляды на диагностику, лечение и профилактику этого синдрома.

Сомнительный АФС

Хотя ранее мы уже приводили диагностические критерии АФС, имеется ряд обстоятельств, когда диагноз АФС сомнителен. В связи с этим профессор D.Pitt дал нарицательное наименование «серого лебедя» сомнительному АФС. При этом отсутствию АФС соответствует термин «белый лебедь», а наличие АФС с классическими клиническими и лабораторными признаками — «черный лебедь».

Тем не менее, термин «сомнительный АФС» не является столь же полноправным, как, например «первичный» АФС или «катастрофический» АФС, он всего лишь отражает обстоятельство, когда нет уверенности в диагнозе. Когда же диагноз АФС сомнителен?

Наиболее часто встречаются пациенты с клиническими признаками заболевания — венозными и артериальными тромбозами или повторными прерываниями беременности и низко позитивными АКА, но отрицательным ВА тестом. С другой стороны, хотя большинство пациентов, исследуемых на предмет АФС, имеют средние или высокие титры антител, возможно, даже вероятно, что некоторые пациенты с низкопозитивными результатами могут также иметь АФС. Предполагая, что может иметь место заболевание с более чем одним аутоантителом, и что эти ауто-

антитела могут различаться по своим характеристикам, низко позитивный АКА тест не должен исключать наличие других патогенных антител (табл. 22). Сложность заключается еще и в том, что низко позитивный тест может быть и «ложно» — позитивным, так как этот результат возможен у пациентов с разными заболеваниями и даже у здоровых. Все антитела, которые могут быть причиной позитивного АКА теста, все еще не идентифицированы. Поэтому низкоположительный АКА-тест сложно интерпретировать.

Таблица 22.

Обстоятельства, при которых АФС «сомнителен».

Клиника	Лаборатория
1. Венозные и артериальные тромбозы или повторные потери плода	Низко+АКА (менее 20 GPL единиц) и отрицательный ВА тест
2. «Минорные» признаки заболевания, такие как поражение клапанов сердца, поперечная миелопатия, тромбоцитопения	+АКА тест и другие изотипы или +ВА
3. Другие признаки, описанные в 1 и 2 выше	Отрицательные АКА и ВА тесты, но + β 2GP1 или +АФА ELISA тест
4. Клинически признаки, описанные в 1 и 2 выше	Отрицательные АКА и ВА, но + антипротромбин или антипротеин С или антианнексин тесты

Другие обстоятельства складываются, когда диагностика сложна из-за наличия «неклассических» (минорных) клинических проявлений АФС (табл. 22), таких как поперечная миелопатия или патология кардиальных створок, при отсутствии тромбозов или потерь беременности и позитивных АКА или ВА тестах, хотя в настоящее время имеется большое количество сообщений о таких пациентах и, на сегодняшний день считается, что у больных имеется АФС. Все еще не известно, как вести осложнения, такие как поперечная миелопатия и поражения клапанов сердца. Являются ли эти проявления исключительно характерными для АФС? Существует ли у этих пациентов риск тромбозов в будущем или прерываний беременности, если у них не было характерных осложнений в анамнезе? Следует ли назначать оральные антикоагулянты в этих обстоятельствах?

Исходя из вышеизложенного, возможен следующий подход к сомнительным пациентам.

Диагноз АФС зависит от 2 обстоятельств — клинических проявлений и лабораторных данных. У пациентов с классическими клиническими характеристиками (тромбозы, повторные потери беременности) и низкопозитивными АКА тестами, надо повторить тестирование — желательно в референтной лаборатории, которая часто проводит эти тесты (один из которых на β 2GP1 или АФА ELISA, так как позитивные результаты на 1 или оба теста могут повысить уверенность, что у пациента АФС — особенно, если повторные АКА также позитивны).

У пациентов с неклассическими или «минорными» клиническими признаками диагноз АФС может потенциально быть более вероятным, если имеются средние или высокие уровни АКА или несомненно позитивный тест на ВА.

В обстоятельствах, когда пациенты имеют классические характеристики АФС, отрицательный АКА или ВА-тесты, но позитивный β 2GP1 или АФА-ELISA, высоко вероятен АФС. В сомнительных случаях E.Nigel, Harris et al. рекомендуют следующий алгоритм исследований (рис.23). При этом в первую очередь проводятся исследования на ВА и АКА. Если АКА низкоположителен или отрицателен, а диагноз АФС все еще подозревается, рекомендуется дополнительное тестирование, как указано на рисунке 23.

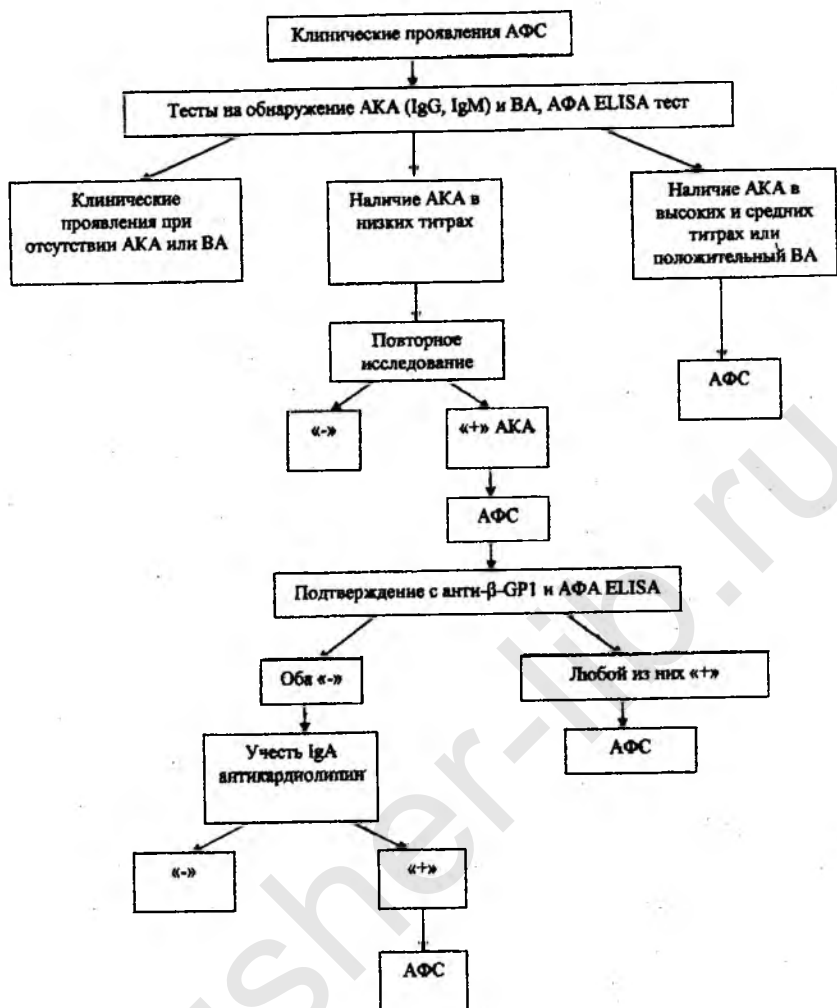


Рис. 23. Алгоритм последовательности тестов у больных с клиническими проявлениями АФС.

Выявление антифосфолипидных антител

Своевременная диагностика АФС является основой предотвращения основных акушерских и тромботических осложнений. Тем не менее, она не всегда доступна и проста, а потому требует глубокого понимания вопросов общей патологии и гемостазиологии.

Лабораторная диагностика АФС не может быть отнесена к рутинным методам и требует строгой стандартизации, на что обращают внимание ведущие исследователи этой проблемы во всем мире.

Выявление АФА осуществляется как с помощью иммунологических методов (ELISA), так и с использованием фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов, направленных на детекцию ВА. Методом выбора при определении антикардиолипидных антител (АКА), по общему признанию является твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), при этом возможно определение идиотипов IgG, М, А. Частота идиотипов (по данным R.L. Bick et al) следующая:

- 36% — изолированный IgG.
- 17% — изолированный IgM.
- 14% — изолированный IgA.
- 33% — различные вариации.

Поскольку АКА связываются с фосфолипидами через β_2 GP1, уже разработаны тест-системы, позволяющие прямо определять концентрацию анти — β_2 GP1 антител. Одновременно несколько исследовательских групп сообщили о тесной корреляции между уровнем анти — β_2 GP1 антител, уровнем АКА и тромбозами у пациентов с АФС. В связи с этим определение анти — β_2 GP1 более предпочтительно, нежели антител непосредственно к АКА.

ELISA для АФА (кардиолипиновый анализ) предназначен для количественного измерения уровня АФА в сыворотке больных с использованием микротитровых плат, покрытых кардиолипином или иным отрицательно заряженным фосфолипидом. В качестве фосфолипида используется преимущественно кардиолипин, но применяются и другие отрицательно заряженные фосфолипиды, такие как фосфатидилсерин, проявляющий сходную реактивность. Среда блокируется альбумином бычьей сыворотки или другим подходящим реагентом, затем добавляется сыворотка больного, разведенная, как правило, в бычьей сыворотке. Разбавитель для сыворотки больного должен содержать β_2 GP1 для максимального связывания антител с фосфолипидами антигенов. Большинство тестовых реагентов в настоящее время содержат известные концентрации β_2 GP1. После инкубационного периода среда промывается и АФА определяют по маркированным IgG и IgM антителам.

Результаты теста выражаются в единицах mpl или GPL. Один mpl эквивалентен 1 мг IgG. Общепринято результаты анализа оценивать как «высокопозитивные» (более 60 mpl U/ml или более 80 GPL), «среднепозитивные» (20—80 GPL или 20—60 mpl U/ml) или «низкопозитивные» (менее 20 GPL или mpl U/ml). Результаты менее 10 GPL или mpl U/ml рассматриваются как отрицательные. Соответствие между данными разных лабораторий для высокопозитивных и отрицательных результатов на IgG и IgM составляет 90%, для среднепозитивных и низкопозитивных результатов соответствие составляет более 75%.

В настоящее время уже разработаны тест-системы для определения антипротромбиновых антител, учитывая, что протромбин выступает в роли кофактора для ВА.

Тем не менее, ряд исследователей сообщают, что ВА и высокий титр АКА в большей степени отражают высокий риск тромбозов, нежели анти — β_2 GP1 антитела или антипротромбиновые антитела. В связи с этим R. Vick et al. рекомендует следующую последовательность лабораторных исследований (табл. 23).

Таблица 23.

Лабораторная диагностика АФС. Подозрение на АФС (необъяснимые тромбозы, ТИА, потери плода, болезнь коронарных артерий и др.).

Исследования, проводимые в первую очередь.	<ul style="list-style-type: none"> — АКА (IgG, IgA, IgM) — ВА (dRVVT) — Нейтрализация гексагональным фосфолипидом — β_2GP1 (IgG, IgA, IgM)
Исследования, проводимые во вторую очередь (при отрицательных тестах на ВА и АКА).	<ul style="list-style-type: none"> — антифосфатидилсерин (IgG, IgA, IGM) — антифосфатидилинозитол (IgG, IgA, IGM) — антифосфатидилхолин (IgG, IgA, IGM) — антифосфатидилэтанолламин (IgG, IgA, IGM) — антифосфатидилглицерол (IgG, IgA, IGM)

Выявление ВА основано на удлинении фосфолипид-зависимых коагуляционных реакций. Однако в связи с отсутствием стандартизации этих исследований и неоднозначными результатами, в 1990 г субкомитет по ВА Международного Общества по тромбозу и гемостазу рекомендовал основные принципы выявления ВА. Эти диагностические подходы на сегодняшний день применяются в специализированных лабораториях гемостаза; с сентября 1997 года они стали применяться и в лаборатории патологии гемостаза при кафедре акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета ММА им И.М. Сеченова (зав. кафедрой профессор Макацария А.Д.). Согласно рекомендациям Международного Общества по тромбозу и гемостазу диагностика ВА складывается из трех этапов (табл. 24). I этап включает скринирующие исследования, основанные на удлинении фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов. С этой целью применяются такие тесты как АЧТВ с минимальным содержанием фосфолипидов, который намного более «чувствителен» к присутствию ВА, нежели обычный АЧТВ; протромбиновое время с разведенным тканевым тромбопластином (dPT), время разведенного яда гадюки Рассела (dRVVT), каолиновое время.

Однако на основании удлинения скрининг-тестов судить о наличии ВА невозможно, поскольку удлинению может быть результатом циркуляции других антикоагулянтов, таких как специфические ингибиторы факторов свертывания, продукты деградации фибрина/фибриногена, парапротеины; а также дефицита факторов свертывания крови или наличия в плазме гепарина или варфарина.

II этап — коррекционная проба, подразумевает уточнение генеза удлинения скрининг-тестов. С этой целью исследуемая плазма смешивается с нормальной. Укорочение времени свертывания свидетельствует о дефиците факторов свертывания. Если же время не корригируется, а в ряде случаев даже удлиняется, это свидетельствует об ингибиторной природе удлинения скрининг-тестов.

III этап — подтверждающая проба, целью которой является выяснение природы ингибитора (специфический или неспецифический). Если при добавлении в исследуемую плазму избытка фосфолипидов время укорачивается — это свидетельствует о наличии ВА, если нет — в плазме присутствуют специфические ингибиторы факторов свертывания крови.

Поскольку чем минимальнее содержание фосфолипидных матриц (а следовательно, тромбоцитов) в исследуемой плазме, тем чувствительнее скрининг-тест, необходимо исключить наличие остаточных тромбоцитов в бедной тромбоцитами плазме, особенно если тестируется замороженная плазма.

Таблица 24.

Лабораторная диагностика ВА.

1. Скрининг-тесты.
Фосфолипид-зависимые коагуляционные тесты должны быть удлинены. К ним относятся:
 - активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ)
 - протромбиновое время с разведенным тромбопластином (dPT)
 - время с разведенным ядом гадюки Рассела (dRVVT)
2. Коррекционные пробы.
Присутствие антикоагулянта демонстрируется, если время свертывания остается удлинённым после смешивания нормальной и исследуемой плазмы.
3. Подтверждающая проба (фосфолипид-зависимость антикоагулянта).
ВА дифференцируется от других коагуляционных ингибиторов при коррекции времени свертывания в присутствии избыточных концентраций фосфолипидов. Фосфолипиды, применяемые для этой процедуры могут быть следующими:
 - лизаты тромбоцитов
 - фосфолипидные липосомы
 - гексагональные фосфолипиды

4. Исключение других коагулопатий, исследование факторов свертывания.

Примечание: специальное внимание должно уделяться правильности проведения исследований, в частности, необходимо исключить в исследуемой плазме наличие остаточных тромбоцитов (тромбоцит-контаминация).

К сожалению, различные тесты обладают разной чувствительностью, и еще не разработан метод исследования, который стал бы «золотым стандартом» при детекции ВА. Поэтому если первый же скринирующий тест на ВА отрицателен, это еще не свидетельствует об отсутствии ВА: необходимо использовать как минимум еще два скринирующих теста. Лишь если 3 скринирующих теста на ВА отрицательны, можно судить об отсутствии в плазме ВА.

Чувствительность АЧТВ к наличию или отсутствию ВА в большой степени зависит от используемых реагентов. У многих пациентов с тромбозами и ВА АЧТВ в норме, даже при применении новейших, объявленных более «чувствительными» реагентов; поэтому АЧТВ не всегда является реальным скрининговым тестом на ВА. Если имеется подозрение на ВА, более точным тестом является dRVVT, который должен ставиться немедленно вслед за АЧТВ. Уже разработан модифицированный dRVVT, при котором яд разводится до получения «нормального» времени 23—27 сек, вслед за этим разводят фосфолипид до минимального уровня, который может «держать» этот интервал. Пролонгация времени свертывания не будет корректироваться в смеси плазм пациента и нормальной; эта система определяет как IgG, так и IgM ВА. dRVVT является наиболее чувствительным из всех анализов на ВА. Подтверждение ВА при таких исследованиях состоит в нейтрализации фосфолипидами (укорочение) пролонгированного теста. Практически большинство врачей и лабораторий исследуют больных на ВА после начала антитромботической терапии. Если пациент на варфарине и dRVVT у него пролонгировано, а затем нейтрализуется подходящим фосфолипидом, то подтверждается ВА. Однако, если пациент на гепарине и dRVVT пролонгировано, нейтрализация тромбоцитарными фосфолипидами не является достоверной, так как большое количество фактора 4 тромбоцитов (антигепариновый фактор) ингибирует эффекты гепарина, корректируя тест. Например, коммерческие экстракты тромбоцитов (BioData Corporation) для процедуры нейтрализации содержат около 100 МЕ/мл фактора 4 тромбоцитов. Нормальный свежемороженый экстракт тромбоцитов человека, часто применяемый для «тромбоцитарной или фосфолипидной процедуры нейтрализации» в клинических лабораториях, содержит около 95МЕ/мл фактора 4 тромбоцитов, что более чем достаточно для нейтрализации гепарина, укорочения пролонгированного времени свертывания и ложно-положительных результатов dRVVT и процедуры нейтрализации на ВА. Практически, таким образом, использование dRVVT является наиболее чувствительным тестом для определения ВА, нейтрализация этого теста фосфолипидами нетромбоцитарного происхождения, особенно цефалином (Bell-Alton), который не содержит фактор 4 тромбоцитов, делает этот тест наиболее специфичным. ВА имеет высокое сродство к фосфолипидам в гексагональной композиции, таким как фосфатидилхолин, фосфоатидилэтаноламин, что имеет место после повреждения мембран при инфекциях, интерлейкином-1 и пр., приводящих к изменению ламеллярной формы в гексагональную, тогда как АКА обладают аффинностью к ламеллярным фосфолипидам в 2-слойной (ламеллярной) композиции. Поэтому тест нейтрализации фосфолипидами гексагональной формы считается наиболее достоверным подтверждающим тестом.

Когда пациенты с тромбозами или повторными прерываниями беременности подозреваются на наличие АФА, при наличии отрицательных тестов на АКА и ВА, необходимо проводить дополнительные исследования на анти — β 2GP1 и антитела к фосфатидилсерину, фосфатидилэтаноламину, фосфатидилглицерину, фосфатидилинозитолу, фосфатидилхолину ELISA-методом (АФА ELISA).

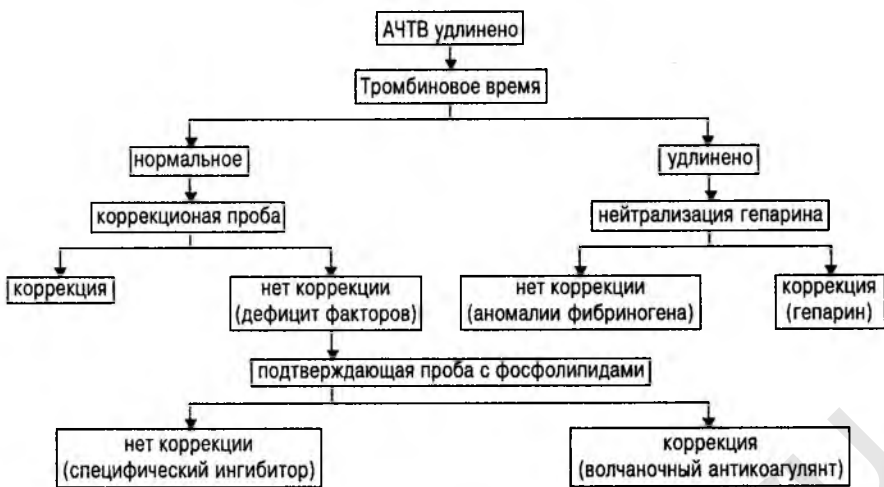


Рис. 24. Алгоритм определения ВА с использованием АЧТВ.

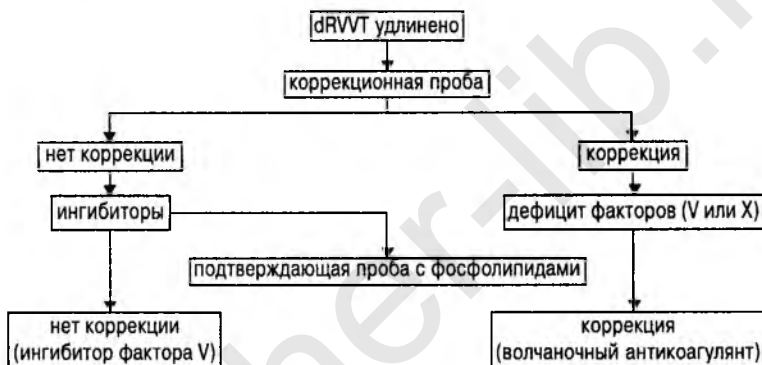


Рис. 25. Алгоритм определения ВА с помощью времени разведенного яда гадюки Рассела (dRVVT)

Многие пациенты будут иметь подгруппы АФА (антифосфатидилинозитол, антифосфатидилэтанолламин, антифосфатидилглицерин, антифосфатидилинозитол, антифосфатидилхолин или анти — $\beta 2GP1$ при отсутствии АКА (всех подтипов) или ВА. Характерно, что такая картина встречается по данным R. Bick у 7% больных с ТГВ/ЛЭ при синдроме антифосфолипидных тромбозов (тип 1), 15% страдающих от тромбозов коронарных сосудов, периферических артерий (тип 2), 15% с цереброваскулярными и ретинальными тромбозами (тип 3) и 22% с типом 5. В таблице 24 указана последовательность выявления АФА.

Поскольку выявление ВА не всегда легкая задача, имеет смысл придерживаться определенного алгоритма исследований. Ниже приводится алгоритм процедуры определения ВА при использовании разных форм фосфолипид-зависимых скринирующих тестов (рис. 24, 25).

Мы считаем крайне важным правильную интерпретацию результатов исследования и исключение ложноположительных результатов. Поэтому необходимо учитывать, что:

- 1) удлинение АЧТВ и каолинового времени может иметь место при:
 - приеме прямых и непрямых антикоагулянтов
 - дефиците факторов внутреннего пути свертывания
 - циркуляции специфических и неспецифических антикоагулянтов

- дефиците витамина К как следствия мальабсорбции и / или длительной антибиотикотерапии
 - механической желтухе
 - коагулопатии потребления
 - гиперфибринолизе
- 2) удлинение dRVVT возможно при:
- циркуляции ВА
 - циркуляции ингибитора фактора V
 - дефиците факторов V, X и I
 - приеме прямых и непрямых антикоагулянтов
- 3) удлинение протромбинового времени в тесте с разведенным тромбопластином возможно при:
- приеме прямых и непрямых антикоагулянтов
 - дефиците факторов внешнего пути свертывания
 - циркуляции специфических и неспецифических антикоагулянтов
 - дефиците витамина К
 - механической желтухе
 - коагулопатии потребления

Время разведенного яда гадюки Рассела удлинено при:

- циркуляции ВА
- циркуляции ингибитора фактора V
- дефиците факторов V, X и I.

Проведение II этапа исследований на ВА также имеет свои особенности. До проведения этой процедуры необходимо исключить наличие гепарина в исследуемом образце; обычно для идентификации гепарина успешно применяется тромбиновое время. Когда наличие гепарина исключено, возможно проведение процедуры «смешивания», которая заключается в добавлении к плазме больного нормальной плазмы в соотношении 4:1. Эта процедура выявляет большинство ингибиторов. Процедура «смешивания» может применяться в большинстве тестов, включая АЧТВ, АВР и dRVVT.

При смешивании нормальной плазмы с плазмой больного наблюдается коррекция АЧТВ (укорочение) как минимум на 5 секунд в случае дефицита факторов. В случае наличия ингибиторов АЧТВ может незначительно укорачиваться, что возможно при наличии специфического ингибитора к определенному фактору, так как этот ингибитор может нейтрализовать фактор свертывания нормальной плазмы, однако это больше характерно при соотношении плазмы больного и нормальной 1:1. В большинстве же случаев (особенно при соотношении 4:1) АЧТВ не меняется или, что очень редко, даже удлиняется, т.н. «люпус-кофакторный» эффект, причина которого пока не известна.

Таким образом, соотношение плазмы больного и нормальной плазмы 1:1 может использоваться для относительной дифференциации между специфическим ингибитором (АЧТВ несколько укорачивается) и ВА (АЧТВ не меняется).

Особое внимание нужно обратить на источник «нормальной плазмы», так как наличие резидуальных (остаточных) тромбоцитов в ней может вести к коррекции удлиненного скрининг-теста, что может симулировать дефицит факторов свертывания. Кроме того, важно инкубировать смесь плазм, по крайней мере, в течение 60 минут, а предпочтительнее 120 минут. Если эти условия не соблюдаются, то в 15—20% случаев ВА не выявляется.

Положительные результаты скрининг-тестов позволяют в дальнейшем при выявлении тромбофилического состояния считать его с большой вероятностью обусловленным АФС. Наибольшее значение здесь играют тесты на выявление молекулярных маркеров тромбофилии и внутрисосудистого свертывания крови, как D-димер, тест склеивания стафилококков, комплекс тромбин-антитромбин (ТАТ), фрагмент F1+2 протромбина (табл. 25).

Принимая во внимание вышеизложенное, следует еще раз подчеркнуть, что лабораторная диагностика АФС не может быть отнесена к рутинным методам и требует строгой стандартизации, на что обращают внимание ведущие исследователи этой проблемы во всем мире.

Таблица 25.

Характеристика маркеров тромбофилии и внутрисосудистого свертывания крови.

Методы	Характеристика и значение метода
Комплекс тромбин-антитромбин	Ранний маркер тромбофилического состояния и начала внутрисосудистого свертывания крови. Снижение свидетельствует об эффективности терапии.
F1+2 — фрагменты протромбина	Образуются при протеолитическом расщеплении протромбина, активированного Ха-фактором. Косвенный маркер образования тромбина позволяет судить о наличии ДВС-синдрома и тромбофилии. При эффективной терапии гепаринами их количество уменьшается или исчезает.
Продукты деградации фибрина-фибриногена	Образуются в результате гиперпротромбинемии и репаративного фибринолиза. Маркер текущего ДВС-синдрома или тромбофилии. При гепаринотерапии уровень снижается или ПДФ исчезает.
D-димер	Характеризует перекрестную полимеризацию фибрина в процессе внутрисосудистого свертывания крови. Один из наиболее специфических тестов диагностики ДВС-синдрома, тромбофилии и тромбоза. Уменьшение и исчезновение свидетельствует об эффективности терапии гепаринами.

Общие принципы терапии АФС

Обоснование терапии АФС является весьма непростой задачей в связи с разнообразием пусковых факторов и многообразием клинических проявлений. Однако несомненным является тромбофилический характер клинических проявлений в абсолютном большинстве случаев данного синдрома. Нам представляется, что важнейшими принципами терапии АФС являются: а) устранение причины (по возможности), его вызвавшей; б) обязательное проведение противотромботической терапии, учитывая повреждение эндотелия и естественных антикоагулянтных путей; в) при катастрофических угрожающих жизни формах АФС показана дополнительная паллиативная, но весьма эффективная в таких случаях процедура — дискретный плазмаферез, обеспечивающий выведение избытка цитокинов, иммунных комплексов и других медиаторов.

Кортикостероиды

Первая схема лечения женщин с привычным невынашиванием, ложно-положительной реакцией Вассермана (ЛПРВ) и циркуляцией ВА, была предложена Lubbe et al. в 1982 году. Она включала преднизолон в дозе 40—60 мг/сут для подавления продукции ауто-антител и аспирин в дозе 75 мг/сут с целью подавления синтеза тромбоксана А2 для профилактики тромботических осложнений. Исследование проводилось на небольшой группе в 6 человек, из которых у четверых была диагностирована СКВ и трое имели тромботические эпизоды в анамнезе. Предложенная схема позволила выносить беременность 5 пациенткам.

За этим первым исследованием последовала серия работ, в которых использовались различные дозы и комбинации глюкокортикоидов и аспирина.

Дозы глюкокортикоидов варьировали от 5 до 80 мг/сут. Аспирин чаще всего применялся в малых дозах, но встречались схемы с применением 250—300 мг/сут. Положительный исход отмечался от 29% до 100% случаев.

Представляется достаточно сложным сравнивать все эти исследования, т.к. пациенты подбирались по неравнозначным критериям. Количество предыдущих потерь, титры антител, а также время начала терапии варьировали в зависимости от исследования.

Некоторыми авторами предлагалось использовать только преднизолон, однако это были отдельные клинические случаи. Аспирин также использовался в качестве монотерапии в ряде работ, при этом положительный исход наблюдался от 43% до 100% случаев.

Хотя использование вышеуказанных схем увеличивало шанс выносить беременность, частота ятрогенных осложнений была очень высока. Длительный прием кортикостероидов связан с высоким риском для матери и плода, который сохраняется даже при использовании меньших доз, чем требуется для подавления аутоиммунного процесса (0,3—0,8 мг/кг) с последовательным снижением дозы с середины второго триместра. Наиболее значимым является повышенный риск развития гипертензии, гестоза и преждевременных родов. Кортикостероиды нарушают процесс коллагенообразования и ведут к истончению околоплодных оболочек и преждевременному излитию околоплодных вод. При этом надо учитывать риск развития восходящей инфекции на фоне подавленного длительным приемом препаратов иммунитета.

Многочисленные исследования показали, что прием кортикостероидов во время беременности является независимым фактором, ведущим к рождению детей со сниженным весом, нарушенной адаптацией в раннем неонатальном периоде, а также на более отдаленных этапах развития.

Кроме того, длительное применение кортикостероидов ведет к реактивации вирусной инфекции и подавлению гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси у матери с нарушением стрессорной адаптации.

Патогенез остеопороза и связанных с ним переломов, включая аваскулярный некроз, при приеме кортикостероидов многокомпонентный. Препараты нарушают функцию остеобластов, препятствуют их созреванию, а также повышают активность остеокластов. Вероятны нарушения по типу вторичного гиперпаратиреозидизма: повышение чувствительности к паратгормону и снижение абсорбции кальция из кишечника.

Другими хорошо известными ятрогенными осложнениями являются нарушение толерантности к глюкозе, гестационный диабет, катаракта, изменение настроения и депрессии, бессонница, кожные проявления — стрии и аллопеция, язвы желудочно-кишечного тракта (риск усиливается при одновременном приеме нестероидных противовоспалительных препаратов).

Однако применение кортикостероидов оправдано при лечении беременных с СКВ и другой аутоиммунной нозологией, т.е. при некоторых вариантах вторичного АФС.

Прямые антикоагулянты

Количество осложнений при применении кортикостероидов повлекло за собой поиски альтернативных подходов к терапии. Первое сообщение об эффективности гепарина при беременности и АФС появилось в 1984 году.

Гепарин является гликозаминогликаном с различной длиной цепей от 5000 до 30000 (в среднем 15000) за счет вариабильности остатка D- глюкозамина. Он не проникает через плацентарный барьер и не оказывает побочного эффекта на плод. Основной антикоагулянтный эффект гепарина обусловлен уникальной последовательностью пентасахарида в его составе, обладающего выраженной способностью связываться с АТIII, изменять его конфигурацию и таким образом усиливать способность АТIII инактивировать тромбин (фактор IIa), фактор Ха и фактор IXa, причем тромбин наиболее чувствителен к ингибиторному действию АТIII.

Инактивировать тромбин способны молекулы гепарина определенной длины, достаточной для одновременной фиксации на своей поверхности тромбина и АТIII. Молекулы с длиной цепи менее 18 сахаридных остатков не влияют на тромбин, но оказывают свой антикоагулянтный эффект через фактор Ха. Однако надо отметить, что гепарин в комплексе с АТIII не способен инактивировать фиксированные на поверхности фибрина и фосфолипидов тромбин и Ха фактор. С этим связаны некоторые ограничения антикоагулянтного эффекта.

Через гепарин-кофактор II гепарин способен оказывать дополнительное ингибирующее влияние на тромбин, но в значительно более высоких концентрациях, чем для реализации эффекта через АТIII.

Физические свойства гепарина (длина молекулы, выраженный отрицательный заряд и др.) определяют его ограниченную биодоступность. Гепарин плохо всасывается из подкожного депо. Молекулы гепарина с большей длиной цепей быстрее, чем низкомолекулярные выводятся из циркуляции. В организме человека гепарин неспецифически связывается с белками плазмы. Этими особенностями объясняется различная степень выраженности антикоагулянтного эффекта при использовании гепарина в малых дозах.

Принцип назначения гепарина при АФС — это профилактика тромбофилии и ее последствий: как локально, на уровне плаценты, так и в системном кровотоке.

Лишь в одном исследовании применялись высокие дозы гепарина до достижения полного антикоагулянтного эффекта. Большинство же исследователей использовали профилактический режим назначения гепарина в дозе от 10000 ЕД дважды в сутки и ниже.

Механизм действия гепарина при АФС не достаточно изучен. Возможно, в профилактических дозах он предотвращает тромбоз и децидуальную васкулопатию. Кроме того, он снижает способность АФА связываться с отрицательно заряженными фосфолипидами и активирует ингибитор лимфоцитотоксичности. Достоверно доказано, что гепарин связывает некоторые белки плазмы (витронектин, липопротеины, фибронектин и фибриноген), а также белки, высвобождаемые из тромбоцитов (тромбоцитарный фактор 4 и низкомолекулярная субъединица фактора Виллебранда) и эндотелия (высокомолекулярная субъединица фактора Виллебранда).

Широкое использование гепарина для лечения АФС при беременности требует оценки риска и преимуществ терапии, включая возможность кровотечения, остеопороза и гепарин-индуцированной тромбоцитопении.

Кровотечения при применении профилактических доз гепарина крайне редки.

Гепарин-индуцированный остеопороз и связанные с этим переломы встречаются у 1—2% женщин длительно получавших лечебные, но не профилактические дозы гепарина. Патогенез остеопороза не до конца понятен. Возможно, это прямой эффект гепарина на клетки остеосинтеза, увеличение активности кислой фосфатазы в костной ткани или связывание гепарином ионов кальция и, как следствие, относительная гипокальциемия.

Субклиническое снижение костной плотности отмечается у 5% пациенток и полностью восстанавливается через 6—12 месяцев после родов. Для профилактики остеопороза беременным женщинам, получающим гепарин, рекомендуется дополнительное потребление кальция (1,500 мг кальция карбоната в сутки) и витамина D, а также упражнения с нагрузкой на осевую скелет, как, например прогулки.

Применение гепарина в редких случаях вызывает идиосинкратическую тромбоцитопению (так называемую гепарин-индуцированную тромбоцитопению). Эта иммунная реакция обычно возникает через 3—15 дней после начала применения гепарина и встречается в 5% случаев, чаще в легкой форме. Однако у 0,5% пациентов возможно развитие тяжелой формы тромбоцитопении (падение количества тромбоцитов ниже 50,000, сопровождающееся парадоксальными артериальными и/или венозными тромбозами). Подробный механизм идиосинкратической тромбоцитопении рассмотрен в главе XV.

С целью контроля гепаринотерапии рекомендуется определение АЧТВ или, что лучше, измерение гепарина сыворотки по анализу ингибирования фактора Ха через 2—4 часа после инъекции, когда наблюдается пик анти-Ха-эффекта.

Достаточно часто встречаются местные реакции (включая подкожные гематомы) при введении препарата, что вызывает негативную реакцию пациентов и значительно осложняет его длительное использование.

После публикаций результатов многоцентровых исследований, показавших, что при использовании преднизолона или гепарина исход беременностей одинаков и даже лучше на фоне терапии гепарином (более 75% по данным разных авторов), а количество серьезных побочных эффектов меньше при применении гепарина, использование гепарина в сочетании с малыми дозами аспирина (обычно 50—81 мг) практически полностью заменило применение кортикостероидов при лечении беременных женщин. Крупные последние исследования предоставили дополнительные данные о неэффективности терапии преднизолоном.

Серия последовательных исследований доказала преимущество сочетания гепарина и малых доз аспирина по сравнению с лечением одним аспирином или только высокими дозами гепарина.

Сочетание гепарина и преднизолона не рассматривается для практики из-за высокого риска развития остеопоретических переломов.

Низкомолекулярные гепарины (НМГ) — это новый класс антикоагулянтов, которые впервые появились в 1995 году и на сегодняшний день заменяют нефракционированный гепарин при широком круге патологических состояний. НМГ получают из стандартного гепарина путем химической или ферментной деполимеризации. Как и гепарин, НМГ гетерогенны по своей молекулярной массе и антикоагулянтной активности. Средняя молекулярная масса НМГ составляет 4,000—5,000, однако может колебаться от 1,000 до 10,000. По сравнению с нефракционированным гепарином, НМГ имеют ряд отличных характеристик, в основном, за счет изменения размера молекул и степени связывания с белками и клетками.

1. НМГ не оказывают выраженного эффекта на инактивацию тромбина из-за малого размера молекулы, но сохраняют способность инактивировать фактор Ха.

2. НМГ в меньшей степени связываются с белками плазмы, что обеспечивает их более предсказуемый антикоагулянтный эффект.

3. НМГ незначительно связываются с макрофагами и клетками эндотелия, и, следовательно, обладают большим периодом полувыведения и пролонгированным действием.

4. НМГ практически не взаимодействуют с тромбоцитами и PF4, что объясняет низкую частоту иммунной тромбоцитопении.

5. НМГ, возможно, меньше связываются с остеобластами, значительно меньше активизируют остеокласты и не вызывают остеопороз.

Противотромботический эффект НМГ долгое время связывали исключительно с преобладанием анти-Ха активности над анти-IIa активностью (у Фраксипарина соотношение анти-IIa активности и анти-Ха активности равно 1:4). Позднее выяснилось, что только 30% противотромботической активности НМГ осуществляется через ATIII и 70% через эффекты, связанные с эндотелием, в частности, с высвобождением из эндотелия естественного ингибитора внешнего пути свертывания TFP1 и антиагрегантных субстанций (простаглицлина) и др. К числу прочих эффектов, не связанных с AT III, относят взаимодействие с гепарин-кофактором II, ингибирование прокоагулянтного действия лейкоцитов, активацию фибринолиза и другую модуляцию эндотелия сосудов (рецепторно и нерепепторно обусловленную). Все это во многом объясняет, почему у пациентов сохраняется «антитромботическое состояние» после однократного подкожного введения профилактической дозы НМГ в течение 24 часов, несмотря на то, что уже через 12 часов после инъекции, анти-Ха активность не обнаруживается. Хотя НМГ довольно широко применяются во многих областях медицины, в первую очередь в кар-

диологии и хирургии, в акушерской практике они начали использоваться сравнительно недавно, т.к. данные о трансплацентарном переходе НМГ долгое время отсутствовали. На сегодняшний день доказано, что НМГ не проходят через плаценту. Это открыло широкие возможности для применения НМГ в акушерской практике и, что особенно привлекательно, в группах, которым требуется длительная антикоагулянтная терапия во время беременности.

Ряд исследований, а так же наш опыт, свидетельствуют о значительном ингибирующем эффекте НМГ (Фраксипарина) на АДФ-, коллаген- и ристомицин-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

Низкая связываемость с белками плазмы обеспечивает высокую биодоступность НМГ. НМГ меньше связывают фактор фон Виллебранда и вызывают меньше кровотечений. Основной путь выведения НМГ через почки, в связи с этим рекомендуется снижать дозу у пациентов с почечной недостаточностью. НМГ лучше всасывается из подкожного депо, удобен в применении (одна инъекция в сутки). При этом ежедневный лабораторный контроль не требуется, препарат может применяться в амбулаторных условиях.

Непрямые антикоагулянты

Применение непрямых антикоагулянтов ограничено их эмбрио- и фетотоксичностью и возможно лишь кратковременно во втором триместре. Описаны два тератогенных синдрома. Варфариновая эмбриопатия первого триместра при применении с 6 по 9 недели беременности (по типу генетического синдрома Конради) — хондродисплазия осевого скелета, бедренного сустава и пяточной кости в сочетании с выраженной гипоплазией носа. И сложный синдром нарушений со стороны ЦНС, включающий дорсальную и вентральную дисплазию, атрофию оптического нерва, микроцефалию, судороги и кровоизлияния, при использовании во втором и третьем триместре (подробнее см. главу VII).

Иммуноглобулин В/В

Еще одним подходом к терапии невынашивания при АФС является применение гамма-глобулина в/в (ВВГГ). В 1985 году McVery и соавт. продемонстрировали способность ВВГГ подавлять продукцию ВА у больных с тромбоцитопенией. В это же время возрос интерес к роли ВВГГ в лечении других аутоиммунных заболеваний, включая СКВ, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, аллоиммунную тромбоцитопению новорожденных, синдром Кавасаки, миастению, а также при терапии различных иммунодефицитных состояний.

Имеются данные о применении ВВГГ для лечения привычного невынашивания при АФС, и что особенно привлекательно о снижении при этом риска развития гестозов.

ВВГГ обычно хорошо переносится, но может вызывать транзиторное увеличение креатинина крови и не рекомендуется пациентам с нарушенной почечной функцией, т.к. может спровоцировать острую почечную недостаточность. Из побочных эффектов отмечены гриппоподобный синдром, легко купируемый назначением парацетамола, а из более серьезных осложнений — асептический менингит, довольно редкое осложнение, обусловлено образованием иммунных комплексов. Улучшение наступает самопроизвольно, либо при назначении кортикостероидов.

Механизм действия ВВГГ при АФС вероятно является многофакторным.

Препарат гамма-глобулина содержит антиидиотипические АТ, которые связывают ауто АТ к ФЛ у пациентов с АФС, нарушая, таким образом, их патогенное воздействие и ускоряя их выведение с помощью ретикуло-эндотелиальной системы. По сходному механизму (идиотипическое-антиидиотипическое взаимодействие) нарушается функция Т-лимфоцитов и, возможно, В-лимфоцитов, и их способность синтезировать антитела.

Кроме того, ВВГГ оказывает модулирующий эффект на продукцию цитокинов и активацию системы комплемента.

Однако все имеющиеся исследования проводились на небольших группах пациентов и оставляют множество вопросов относительно применения ВВГГ при беременности: дозы, длительность курсов, интервал между курсами, на каком сроке надо начинать терапию и требуется ли дополнительное назначение антиагрегантов или антикоагулянтов. И хотя с момента публикации первых результатов прошло более десяти лет, до сегодняшнего дня нет данных крупного рандомизированного исследования, которые позволили бы объективно оценить результаты и преимущества данного подхода и выработать четкие показания к применению. Высокая стоимость терапии также является значимым лимитирующим фактором применения ВВГГ.

Как показывает практика, применение гамма-глобулина в/в, является эффективным дополнительным средством в случаях, когда стандартная терапия не дает положительных результатов. Клинически выраженная и резистентная к кортикостероидам тромбоцитопения при АФС может быть одним из таких показаний.

Плазмаферез

В мировой практике плазмаферез, используется только для лечения катастрофического АФС, сопровождающегося HELLP — синдромом и резистентного к другим видам терапии. При этом в основном используется непрерывно-проточный плазмаферез. В нашей стране показания к применению плазмафереза и плазмафильтрации значительно расширены и широко используется прерывистый режим плазмафереза. Показания к проведению плазмафереза и плазмафильтрации в акушерско-гинекологической практике, предлагаемые Научным центром акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, включают следующие состояния:

- Ранние и поздние гестозы.
- Резус-сенсibilизация.
- Вирусоносительство.
- АФС.
- Заболевания почек, печени, артериальная гипертензия и др. экстрагенитальная патология.
- Эндогенные интоксикации (послеродовый пельвиоперитонит, эндометрит, сальпингоофорит, септические состояния).

Возможный механизм работы этого метода при АФС — удаление аутоантител, цитокинов и др. медиаторов, что нарушает взаимодействие между ФЛ-протеиновыми комплексами и эндотелиальными клетками. Вероятно, эти эффекты объясняет успешное применение плазмафереза при катастрофическом АФС.

Дополнительно плазмаферез влияет на эритроциты и макрофаги, иммунокомпетентные клетки, повышая их функциональную активность, улучшает микроциркуляцию, реологические свойства крови.

Противопоказаниями к применению плазмафереза являются выраженные органические изменения в ССС, анемия (Ht ниже 30%), гипопротеинемия (общий белок ниже 55 г/л), гипокоагуляция, иммунодефицитные состояния, а также отсутствие венозного доступа, флебит, аллергические реакции на антикоагулянты, коллоидные и белковые препараты.

Осложнения различной степени выраженности при проведении плазмафереза встречаются в 28% случаев. Осложнения включают:

- сердечно-сосудистые и дыхательные нарушения: коллапс, сердечная недостаточность, инфаркт, тяжелая аритмия, бронхоспазм, отек легких, воздушная эмболия;
- цитратная интоксикация;
- непереносимость инфузионных средств (самое часто встречающееся осложнение): от гипертермии и озноба до анафилактического шока;
- инфекционные осложнения (в 2,5% случаев);
- электролитные нарушения: гипокалемия, гипокальцемиа, и как следствие судорожный синдром, сердечная аритмия, тетания;
- анемия и симптомы стенокардии;

— тромбоз магистральных сосудов, тромбирование иглы, тромбоз флебит, склерозирование кубитальных вен.

Анализ 140000 лечебных процедур плазмафереза в США, Франции, Англии и Канаде показал, что частота смертельных исходов непосредственно от плазмафереза составляет 3 на 10000 сеансов. Проведение процедур требует обязательного присутствия врача и медицинской сестры, прошедших специальную подготовку по использованию эфферентных методов терапии.

Применение плазмафереза и плазмафильтрации для терапии невынашивания при АФС на сегодня не имеет достаточного обоснования с учетом соотношения стоимости и эффекта метода, доступности процедуры, частоты осложнений.

Рекомбинантный интерлейкин 3

Принимая во внимание позитивный эффект IL-3 на процесс имплантации эмбриона, рост плаценты и увеличение количества тромбоцитов, неоднократно проводились экспериментальные исследования по применению рекомбинантного IL-3 при АФС. Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности подхода и перспективах его применения при лечении невынашивания и АФС. Одновременно доказано стимулирующее влияние малых доз аспирина на синтез IL-3, как *in vivo*, так и *in vitro*.

В литературе встречаются ссылки на применение гирудотерапии, электрофореза, гомеопатии, плантарного массажа, антагонистов тромбоксана, ципрофлоксацина и даже пересадки костного мозга. Эти методы широко в практике не применяются и эффективность их спорная.

Большинство исследований подтверждают, что лечение тем эффективнее, чем раньше оно начато. Терапия, начатая до зачатия, также считается более эффективной. Терапию продолжают в послеродовом периоде, когда часто происходит обострение аутоиммунных процессов и повышен риск тромботических осложнений, включая тромбоз ветвей легочной артерии.

Список литературы

1. Агаджанова А.А. Основные подходы к комплексной терапии антифосфолипидного синдрома в клинике невынашивания беременности. // Акушерство и гинекология. — 1999. — № 3 — с.6—8.
2. Алекберова З.С., Насопов Е.Л. Клиническое значение определения волчаночного антикоагулянта и антител к кардиолипину. // Тер. архив. — 1988 — № 7 — с. 45—47.
3. Баркаган З.С., Сердюк Г.В. Невынашивание беременности при нарушениях в системе гемостаза. // Гематология и трансфузиология, 1991. — № 4 — с. 3—4.
4. Демидова Е.М. Привычный выкидыш. (Патогенез, акушерская тактика). Автореферат дисс... докт. мед. наук. — Москва, 1993, с.42.
5. Калашникова Л.А. Нарушение мозгового кровообращения и другие неврологические проявления антифосфолипидного синдрома. // Жур. неврологии и психиатрии им. Корсакова, 1997. — т. 97, — № 10, — с. 63—73.
6. Кидралиева А.С. Ведение беременных с антифосфолипидным синдромом. Автореф. дисс...канд. мед. наук. — Москва, 1991, 26с.
7. Кошелева Н.М. Системная красная волчанка и беременность. Мониторинг активности заболевания и антифосфолипидного синдрома. Дисс... канд. мед. наук. — Москва, 1994. — 177с.
8. Макацария А.Д., Раскуражев А.Б., Мищенко А.Л., Табакова Е.В. Вопросы патогенеза, диагностики и терапии осложнений беременности, связанных с циркуляцией волчаночного антикоагулянта. // Акушерство и гинекология, — 1987 — № 12. — с. 62—67.

9. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Гениевская М.Г., Догущина Н.В. Роль антифосфолипидного синдрома в акушерской практике. // *Материалы научного форума «Новые технологии в акушерстве и гинекологии»*. 1999г.
10. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Вопросы патогенеза тромбофилии и тромбозов у больных с антифосфолипидным синдромом. // *Акушерство и гинекология*, — 1999, — № 2, — с. 13—17.
11. Мамаев А.Н. Прокоагулянтная активность плазменных фосфолипидных мембран при тромбофилиях. // *Автореферат дисс... канд. мед. наук*. Барнаул, 1997.
12. Селиванов Е.В. Иммунные нарушения и особенности лабораторной диагностики антифосфолипидного синдрома.// *Автореферат дисс... канд. мед. наук*. Барнаул, 1998.
13. Сухих Г.Т., Пономарева И.В., Городничева Т.А. Валько Л.В. Спектр антифосфолипидных антител у беременных с гестозом.// *Акушерство и гинекология*, — 1998. — № 5 — с. 22—26.
14. Amergual O., Atsumi T., Khamashta M.A, Tinohones F., Hughes G.R.V. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein in antiphospholipid syndrome. // *Br. J. Rheumatol.*, 1997;36:964—968.
15. Amigo M-C. The antiphospholipid syndrome: what is the prognosis? // *Lupus*, 1998;7:1—2.
16. Arnout J., Wittevrongel C., Vanrusselt M., Vermeylen J. Beta-2-glycoprotein I-dependent lupus anticoagulants form stable bivalent antibody beta-2-glycoprotein complexes on phospholipid surfaces. / *Thromb. Haemost.*, 1998;79:79—86.
17. Arnout J. The pathogenesis of the antiphospholipid syndrome: a hypothesis based on parallelism with heparin-induced thrombocytopenia. // *Thromb. Haemost.*, 1996;75:536—541.
18. Arvieux J., Darnige L., Caron C et al. Development of ELISA for autoantibodies to prothrombin showing their prevalence in patients with lupus anticoagulants. // *Thromb. Haemost.*, 1995;74:1120—1125.
19. Asherson R.A., Mery P., Acheron J.F., Harris E.N., Hughes G.R.V. Antiphospholipid antibodies: a risk factor for occlusive vascular disease in systemic lupus erythematosus and the primary antiphospholipid syndrome. // *Ann. Rheum. Dis.*, 1989;48:358—361.
20. Asherson R.A., Piette J.C. The catastrophic antiphospholipid syndrome 1996: acute multi-organ failure associated with antiphospholipid antibodies a review of 31 patients. // *Lupus*, 1996; 5:414—417.
21. Asherson R.A., Zulman J., Hughes G.R. Pulmonary thromboembolism associated with procainamide induced lupus syndrome and anticardiolipin antibodies. // *Ann. Rheum. Dis.*, 1989;82:50—52.
22. Atsumi T., Khamashta M.A., Ames P.R.J., Ichikawa K., Koike T., Hughes G.R.V. Effect of β 2-glycoprotein I and human monoclonal anticardiolipin antibodies on the protein S/c4b-binding protein system. // *Lupus*, 1997;6:358—364.
23. Bailliere's: Clinical obstetrics and Gynecology International. Practice and research.// *Thromboembolic disease in obstetrics and gynecology*, 1997.
24. Bernini J.C., Buchanan G.R., Ashcraft J. Hypoprothrombinemia and severe hemorrhage associated with a lupus anticoagulant. // *J. Pediatr.*, 1993;123:937—939.
25. Blasubramanian K., Chandra J., Schroit A.J. Immune clearance of phosphatidylserine-expressing cells: the role of β 2-glycoprotein I in macrophage recognition. // *J. Biol. Chem.*, 1996;272:31113—31117.

26. Bordron A.E., Duemaes M., Levy Y., et al. The binding of some human anti-endothelial cell antibodies induces endothelial cell apoptosis. // *J. Clin. Invest.*, 1998;101:2029—2035.
27. Botet F., Romera G., Montagut P., Figueras J., Carmona J., Balasch J. Neonatal outcome in women treated for the antiphospholipid syndrome during pregnancy. // *J. Perinat. Med.*, 1997;25:192—196.
28. Branch D.W., Dudley D.J., Mitchell M.D., Creighton K.A., Abbott T.M., Hammond E.H., Daynes R.A. Immunoglobulin G fractions from patients with antiphospholipid antibodies cause fetal death in BALB/c mice: a model for autoimmune fetal loss. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990;163:210—216.
29. Cabiedes J., Cabral A.R., Alarcon-Segovia D. Hidden anti-phospholipid antibodies in human sera circulate as immune complexes whose antigen can be removed by heat, acid, hyperosmolar buffers or phospholipase treatments. // *Eur. J. Immunol.*, 1998;21:2108—2114.
30. Cabral A.R., Amigo M.C., Cabiedes J., Alarcon-Segovia D. The antiphospholipid/cofactor syndromes: a primary variant with antibodies to β 2-glycoprotein I but no antibodies detectable in standard antiphospholipid antibodies. // *Am. J. Med.*, 1996;101:472—481.
31. Campi A., Filippi M., Comi G., Scotti G. Recurrent transverse myelopathy associated with anticardiolipin antibodies. // *Am. J. Neuroradiology*, 1998;19:781—786.
32. De Maistre E., Wahl D., Perret-Guillaume C., et al. A chromogenic assay allows reliable measurement of Factor VIII levels in the presence of strong lupus anticoagulants. // *Thromb. Haemost.*, 1998;79:237—238.
33. Delucia D., Vel Giudice V., Lautherano M., Maisto G., Marotta R., Marra M. Antiphospholipid antibodies associated to migraine in patients suffering from TIA. // 16th Congress on thromb and haemost, Porto, 2000.
34. Digre K.B., Durcan F.J., Branch D.W., Jacobson D.M., Varner M.W., Baringer J.R. Amaurosis fugax associated with antiphospholipid antibodies. // *Ann. Neurol.*, 1989;25:228—232.
35. Esmon N.L., Smirnov M.D., Esmon C.T. Thrombogenic mechanisms of antiphospholipid antibodies. // *Thromb. and Hemost.*, 1997 V78 N1 p. 79—84
36. Fijnheer R., Horbach D.A., Donders R.C. Factor V Leiden, antiphospholipid antibodies and thrombosis in systemic lupus erythematosus. // *Thromb. Haemost.*, 1996;76:514—517.
37. Galli M., Finazzi G., Barbui T. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. // *Br. J. Haematol.*, 1996;93:1—5.
38. Galli M., Finazzi G., Barbui T. Antiphospholipid antibodies: predictive value of laboratory tests. // *Thromb. and Hemost.*, 1997. — V78. — N1. — p. 75—79.
39. Galli M. Thrombocytopenia in the antiphospholipid syndrome. // *Br. J. Haematol.*, 1996;93:1—5.
40. Gandra M.J., Fraga M., Saraiva J.P., Andrade J. Anticardiolipin antibodies and high risk pregnancy. // 16th Congress on thromb and haemost, Porto, 2000.
41. Gharavi A.E., Pierangeli S.S. Origin of antiphospholipid antibodies: induction of aPL by viral peptides. // *Lupus*, 1999;7(Suppl 2):S52—S54.
42. Ginsberg J.S., Brill-Edwards P., Johnston M., et al. Relationship of antiphospholipid antibodies to pregnancy loss in patients with systemic lupus erythematosus; a cross-sectional study. // *Blood*, 1992; 80:975—980.
43. Gordon C., Kilby M.D. Use of intravenous immunoglobulin therapy in systemic lupus erythematosus and antiphospholipid antibody syndrome. // *Lupus*, 1998;7:429—433.

44. Greaves M., Hill M.B., Phipps J., et al. The pathogenesis of antiphospholipid syndrome. // *Thromb. Haemost.*, 1996;76:817—818.
45. Guermazii S., Lamloum M., Rad M., Hamza. Anti beta-2-glycoprotein I and thrombosis in patients with Behcet's disease. // 16th Congress on thromb and haemost, Porto, 2000.
46. Halbmayer W.M. The discrimination of Factor XII deficiency and lupus anticoagulant. // *Thromb. Haemost.*, 1996;75:693—699.
47. Harper M.F., Hayes P.M., Lentz B.R., Roubey R.A. Characterization of β 2-glycoprotein I binding to phospholipid membranes. // *Thromb. Haemost.*, 1998;80:610—614.
48. Harris E.N., Gharavi A.E., Hughes G.R.V. Antiphospholipid antibodies. // *Clin. Rheum. Dis.*, 1985;11:591—609.
49. Hojnik M., George J., Ziporen L., Shoenfeld Y. Heart valve involvement (Libman-Sacks endocarditis) in the antiphospholipid syndrome. // *Circulation*, 1996; 93: 1579—1587.
50. Horbach D.A., Oort E.V., Donders R.C.J.M., Derksen R.H.W.M., de Groot Ph.G. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. Comparison between different assays for the detection of antiphospholipid antibodies. // *Thromb. Haemost.*, 1996;76:916—924.
51. Horkko S., Miller E., Branch D.W., Palinski W., Witztum J.L. The epitopes for some antiphospholipid antibodies are adducts of oxidized phospholipid and β 2-glycoprotein I (and other proteins). // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1997;94:10356—10361.
52. Hughson M.D., McCarty G.A., Sholer C.M., Brumback R.A. Thrombotic cerebral arteriopathy in patients with the Antiphospholipid Syndrome.// *Mod. Pathol.*, 1993;5:644—653.
53. Hulkova M., Adzima D., Kubisz P. Antiphospholipid thrombosis syndrome.// 16th Congress on thromb and haemost, Porto, 2000.
54. Jacob H. Rand, Xiao-Xuan Wu. Antibody-Mediated Disruption of the Annexin-V Antithrombotic Shield: a new Mechanism for Thrombosis in the Antiphospholipid Syndrome. // *Thromb. and Hemost.*, 1999 V82 N2 p. 649—656.
55. Joist J.H., Ross C., Jagadeesan K., Change D., Eby C.S. Effective strategies for testing for lupus anticoagulants. // 16th Congress on thromb. and haemost, Porto, 2000.
56. Joseph J.E., Donohoe S., Harrison P., Mackie I.J., Machin S.J. Platelet activation and turnover in the primary antiphospholipid syndrome. // *Lupus*, 1998;7:333—340.
57. Kobayashi T., Stang E., Fang K.S., de Moerloose P., Parton R.G., Gruenberg J. A lipid associated with antiphospholipid syndrome regulates endosome structure and function. // *Nature*, 1998;392:193—197.
58. Kordich L.C., Forastiero R.R., Basilotta E., Porterie P., Carreras L.O. Natural inhibitors of blood coagulation and fibrinolysis in patients with lupus anticoagulant. // *Blood Coagulat. Fibrinol.*, 1992;3:765—771.
59. Labarca J.A., Rabagliati R.M., Radrigan F.J., et al. Antiphospholipid syndrome associated with cytomegalovirus infection: case report and review. // *J. Infect. Dis.*, 1997;24:197—200.
60. Lanir N., Yron I., Tennenbaum G., Schechter Y., Brenner B. Rectivity patterns of antiphospholipid antibodies and endothelial cells: effect of antiendothelial antibodies on cell migration. // *J. Lab. Clin. Med.*, 1998;131:548—556.

61. Lawrie A.S., Purdy G., Mackie I.J., Machin S.J. Monitoring of oral anticoagulant therapy in lupus anticoagulant patients with the antiphospholipid syndrome. // *Br. J. Haematol.*, 1997;98:887—892.
62. Levine S.R., Brey R.L. Neurological aspects of antiphospholipid antibody syndrome. // *Lupus*, 1996;5:347—353.
63. Levy R.A., Avvad E., Olivera J., Porto L.C. Placental pathology in antiphospholipid syndrome. // *Lupus*, 1998;7(Sppl 2):S81—S85.
64. Lockshin M.D. Antiphospholipid antibody: babies, blood clots, biology. // *J. Am. Med. Inform. Assoc.*, 1997;277:1549—1551.
65. Manfredi A., Rovere P., Heltai S., et al. Anti-phospholipid antibodies bind apoptic cells in a β 2-GPI dependent fashion (Abstract). // *Lupus*, 1996;5:558.
66. Marciniak E., Romond E.H. Impaired catalytic functions of activated protein C: a new in vitro manifestation of lupus anticoagulant. // *Blood*, 1989;74:2426—2432.
67. Martinuzzo M.E., Forastiero R.R., Carreras L.O. Anti beta 2 glycoprotein I antibodies: detection and association with thrombosis. // *Br. J. Haematol.*, 1995;89:397—402
68. Masahiro Ieko, Ken-ichi Sawada, Takao Koike, Atsushi Notoya, Masaya Mukai, Norio Wada, Tomohiro Itoh, Narihito Yoshioka. The putative mechanism of thrombosis in antiphospholipid syndrome: impairment of the protein C and the fibrinolytic systems by monoclonal anticardiolipin antibodies. // *Seminars in thromb. and hemost.*, 1999. — vol. 25. — N 5.
69. MCnALLY T., Purdy G., Mackie I.J., et al. The use of an anti- β 2-GP I assay for discrimination between anticardiolipin antibodies associated with infection and increased risk of thrombosis. // *Br. J. Haematol.*, 1995;91:471—473.
70. Meroni P.L., Del Papa N., Raschi E., et al. β 2-glycoprotein I as a «cofactor» for antiphospholipid reactivity with endothelial cells. // *Lupus*, 1998;7(Suppl2)S44—S47.
71. Merrill J.T., Shen C., Gugnani M., Lahita R.G., Mongey A.B. High prevalence of antiphospholipid antibodies in patients taking procainamide. // *J. Rheumatol.*, 1997;24:1083—1087.
72. Michael D. Lockshin. Pregnancy loss in the Antiphospholipid Syndrome. // *Thromb. and Hemost.*, 1999 V82 N2 p. 641—649.
73. Moestrup S.K., Schousboe I., Jacobsen C., Leheste J.R., Chrisensen E.I., Willnow T.E. β 2-glycoprotein I (Apolipoprotein H) and β 2-glycoprotein I-phospholipid complex harbor a recognition site for the endocytic receptor megalin. // *J. Clin. Invest.*, 1998;102:902—909.
74. Petri M. Diagnosis of antiphospholipid antibodies. // *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*, 1994;20:443—469.
75. Rai R.S., Regan L., Clifford K., et al. Antiphospholipid antibodies and beta-2-glycoprotein I in 500 women with recurrent miscarriage; results of a comprehensive screening approach. // *Hum. Reprod.*, 1995;10:101—545.
76. Rand J.H., Wu X.X., Andree HAM., et al. Pregnancy loss in the antiophospholipid syndrome a possible thrombogenic mechanism. // *N. Engl. J. Med.*, 1997;337:154—160.
77. Renaudineau Y., Revelen R., Bordon A., Moyyier D., Youinou P., Le C orre R. Two populations of endothelial cell antibodies cross-react with heparin. // *Lupus*, 1998; 7: 86—94.
78. Robert A.S. Roubey. Immunology of the antiphospholipid Syndrome: antibodies, antigens, and the autoimmune response. // *Thromb. and Hemost.*, 1999 V82 N2 p. 656—662.

79. Rodger L. Bick. The antiphospholipid thrombosis syndromes: a common multi-disciplinary medical problem. // *Thromb. Haemost.*, 1997;3(4):270—283.
80. Roubey R.A. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of lupus anticoagulants and other «antiphospholipid» autoantibodies. // *Blood*, 1994;84:2854—2867.
81. Sandoval J., Amigo M-C, Barragan R., et al. Primary antiphospholipid syndrome presenting as chronic thromboembolic pulmonary hypertension. Treatment with thromboendarterectomy. // *J. Rheumatol.*, 1996;23:772—775.
82. Schulman S., Svenungsson E., Granqvist S. Anticardiolipin antibodies predict early recurrence of thromboembolism and death among patients with venous thromboembolism following anticoagulant therapy. // *Am. J. Med.*, 1998;104:332—338.
83. Shaprio S.S. The lupus anticoagulant/antiphospholipid syndrome. // *Ann. Rev. Med.*, 1996;47:533—553.
84. Smirnov M.D., Triplett D.A., Comp P.C., et al. On the role of phosphatidylethanolamine in the inhibition of activated protein C activity by antiphospholipid antibodies. // *J. Clin. Invest.*, 1995;95:309—316.
85. Stephens C.J.M. Sneddon's syndrome. // *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1992;10:489—492.
86. The Antiphospholipid Antibodies in Stroke Study (APASS) Group. Anticardiolipin antibodies are an independent risk factor for ischemic stroke. // *Neurology*, 1993;43:2069—2073.
87. Tietjen G.E., Day M., Norris L., et al. Role of anticardiolipin antibodies in young persons with migraines and transient focal neurologic events: a prospective study. // *Neurology*, 1999;50:1433—1440.
88. Vermynen J., Arnout J. Is the antiphospholipid syndrome caused by antibodies directed against physiologically relevant phospholipid-protein complexes? // *J. Lab. Clin. Med.*, 1992;120:10—12.
89. Wahl D.G., Guillemin F., de Maistre E., Perret C., Lecompte T., Thibaut G. Risk for venous thrombosis related to antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. // *Lupus*, 1997;6:467—473.
90. Wilson W.A., Gharavi A.E., Koike T., et al. International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome. // *Arth. Rheum.*, 1999;42:1309—1311.
91. Zangari M., Lockwood C.J., Scher J., Rand J.H. Prothrombin activation fragment (F1.2) is increased in pregnant patients with antiphospholipid antibodies. // *Thromb. Res.*, 1997;85:177—183.

Глава IV. Гипергомоцистеинемия и патология беременности

История вопроса

Проблема гипергомоцистеинемии берет свое начало с публикации, вышедшей в свет в 1962 году, где впервые была проведена параллель между метаболическими нарушениями и умственной отсталостью. Исследование проводили Carson et al., которые выявляли значительное количество гомоцистина в моче у своих пациентов. Открытое таким образом нарушение метаболизма метионина было названо гомоцистинурией. В дальнейшем в 1964 году были опубликованы гистологические находки при гомоцистинурии, описания различных поражений сосудистой стенки и тромбозов при этом состоянии. В том же году Mudd et al. определили возможную причину развития гомоцистинурии в наличии дефекта гена, кодирующего фермент цистатионин- β -синтазу (CBS), приводящего к отсутствию либо снижению активности фермента. Стало очевидно, что вышеуказанный дефект нарушает нормальный метаболизм метионина и приводит к значительному повышению в плазме крови метионина и гомоцистеина и снижению цистеина. В 1969 году два независимо проведенных исследования с одним и тем же больным показали, что причиной сосудистых нарушений при CBS мутации является повышенное содержание гомоцистеина в крови.

Пациентом был ребенок, умерший через семь с половиной недель после рождения. Биохимические исследования, проведенные Mudd, Levy и Abeles выявили значительное повышение в крови и моче ребенка концентрации гомоцистеина, цистатионина, однако вопреки ожиданиям концентрация метионина была снижена в крови и равно нулю в моче. Дальнейшие исследования показали, что имело место нарушение реметилирования гомоцистина в метионин, при этом отмечалась метилмалоновая ацидурия и нормальная концентрация витамина B12 в печени, в связи с чем был сделан вывод о нарушении метаболизма витамина B12.

Проведенная аутопсия позволила McCully описать различные сосудистые поражения и тромбозы и предположить патологическую роль гомоцистеина в их возникновении. Доказательством данной гипотезы явилось, во-первых, снижение риска развития сосудистых осложнений при снижении или нормализации концентрации гомоцистеина, а во-вторых, выявление возможных биологических механизмов, посредством которых гомоцистеин вызывал вышеуказанные осложнения.

Barber и Spaeth в 1969 году предложили возможную схему лечения, приводящую к значительному снижению гомоцистеина в крови. Больным с CBS дефицитом они рекомендовали прием пиридоксина (250—500 мг/сут), при этом около 50% больных оказались чувствительны к такой терапии. Дополнительно для усиления эффекта рекомендовалось вводить фолаты, дабы усилить процессы реметилирования, происходящие в почках.

Исходя из механизмов обмена метионина становится ясно (рис. 26), что пиридоксин-чувствительные пациенты — это лица с остаточной активностью CBS, активность которого повышается при добавлении пиридоксина, который, в свою очередь, усиливает путь транссульфатирования. Фолаты (и витамин B12) способствуют активации пути реметилирования в метионин.

У нечувствительных к пиридоксину больных, как показал в своих исследованиях Smolin, концентрация гомоцистеина в крови снижалась при длительном приеме бетаина, что связано с усилением процессов реметилирования (рис. 26).

Ранние исследования выявили и механизмы формирования эндотелиальной дисфункции при гипергомоцистеинемии, и ее связь с различными факторами риска. Jacobsen отмечал, что поддержание гомоцистеина на должном уровне обеспечивается взаимодействием генетически определенной ферментной активности и факторами питания, особенно поступлением в организм с пищей витаминов В6, В12 и фолатов. S-аденозилметионин при этом выступал в роли модулятора этих взаимодействий.



Рис. 26. Пути метаболизма метионина.

1 — MAT; 2 — АдоМет-зависимое трансметилирование; 3 — аденозилгомоцистеиназа; 4 — цистатион-β-синтаза; 5 — γ-цистатионаза; 6 — дальнейший метаболизм цистеина; 7 — бетаин-гомоцистеинметилтрансфераза (BHMT); 8 — метилфолат-гомоцистеинметилтрансфераза; 9 — холин + бетаин альдегид-дегидрогеназы; 10 — равновесие между свободным метионом и метионином в составе белка; 11 — серин гидроксиметилаза; 12 — метилентетрагидрофолат-редуктаза (MTHFR); 13 — АдоМет декарбоксилаза; 14 — спермидин (спермин) синтаза; 15 — метилтиорибозин фосфорилаза + формирование метионина с участием метилтиорибозы-1-фосфата.

Обмен гомоцистеина

1. Источники гомоцистеина

Источником гомоцистеина в организме человека является метионин, получаемый с пищей. В отличие от метионина (см. табл. 26), гомоцистеин содержится в потребляемой нами животной и растительной пище в остаточных количествах.

Как явствует из таблицы 26, животный белок содержит гораздо больше метионина и в значительной степени повышает концентрацию гомоцистеина в плазме крови по сравнению с растительным белком.

**Содержание метионина в различных продуктах питания
в зависимости от общего количества потребляемого белка.**

Источник	Продукты питания	Метионин (в г на 100 г белка)	Исключения
Растительная пища	Фрукты	0,9	Персики/виноград, 3,6 г
	Овощи	1,2	
	Орехи	1,4	Бразильские орехи, 5,6 г
	Крупы	1,8	
Животная пища	Рыба и мясо	2,7	Материнское молоко, 1,4 г
	Коровье молоко	2,9	
	Яйца	3,2	

Для проведения метионинового теста с целью выявления нарушений в метаболизме гомоцистеина у лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями используется так называемый нагрузочный тест — введение 7 г L-метионина (0.1 г/кг или 3.8 г/м²), что соответствует приему 200—300 г пищи, богатой животным белком. В норме при проведении теста происходит повышение концентрации гомоцистеина в плазме крови в 2—3 раза в течение 6—8 часов. Нормализация уровня гомоцистеина отмечается на протяжении 24 часов. У лиц с различного рода нарушениями в метаболизме гомоцистеина отмечается гораздо более выраженный подъем концентрации гомоцистеина в плазме и его поддержание на этом уровне в течение более длительного времени.

2. Метаболизм гомоцистеина

Метаболизм гомоцистеина неразрывно связан с метиониновым циклом. Синтез гомоцистеина, цитотоксичной аминокислоты в больших концентрациях, является результатом образования лабильных метильных групп. Несмотря на то, что во всех клетках происходит образование гомоцистеина как продукта метионинового цикла, различие заключается в наличии путей его утилизации. Mudd, Finkelstein и соавторы разработали модель обмена гомоцистеина в тканях и органах крысы. Их исследование показало, что большинство клеток и тканей имеет, по меньшей мере, путь реметилирования гомоцистеина для его утилизации, и лишь некоторые клетки способны к транссульфатированию. Очевидно, клетки и ткани человека обладают тем же потенциалом.

Метиониновый цикл

Большая часть метионина в конечном итоге включается в метиониновый цикл (рис. 27).

Метионин аденозилтрансфераза (MAT) катализирует переход аденозильной группы от АДФ к метионину с образованием энергоемкой связи в S-аденозилметионине (SAM или AdoMet). Трифосфатный остаток АДФ (PPP) в дальнейшем подвергается ферментному гидролизу с образованием неорганического фосфора (P_i) и пирофосфата (реакция 1), которые и превращают данную реакцию в необратимую.



Уже идентифицированы гены, ответственные за синтез соответствующих ферментов в печени и почках человека. В печени синтезируется два изофермента: MAT I, гомодимер, и MAT III, гетеродимер, которые соответственно обладают «средней K_m» и «высокой K_m». При высокой концентрации метионина в плазме крови лишь в печени сохраняется способность синтезировать SAM, благодаря наличию изофермента MAT III, активатором которого является продукт реакции, а именно — SAM.

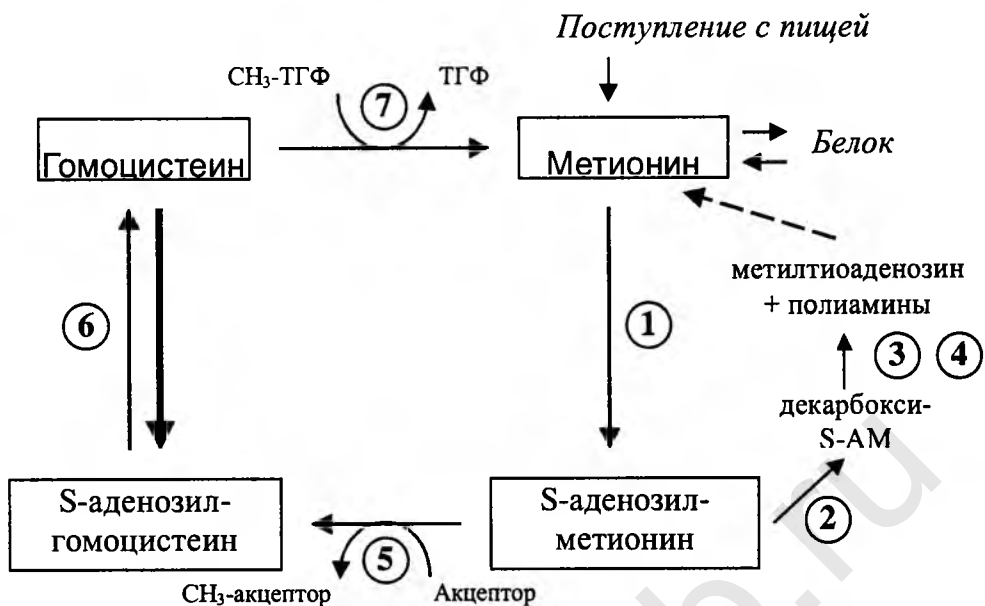


Рис. 27. Метиониновый цикл.

Метионин, поступающий с пищей превращается в S-аденозилметионин (SAM) благодаря метионин аденозилтрансферазе (реакция 1). SAM включается в синтез полиаминов благодаря SAM декарбоксилазе (реакция 2). Пропиламинотрансферазы I (реакция 3) и II (реакция 4) используют декарбоксилированный SAM в качестве субстрата для синтеза полиаминов. Метилтиоаденозин (МТА) и другие продукты реакций синтеза полиаминов возвращаются обратно в метиониновый цикл. Метилтрансферазы (реакция 5) используют SAM в качестве субстрата для акцепторов (А) метильных групп. S-аденозилгомоцистеин (SAH) является продуктом реакций с участием метилтрансфераз, который в дальнейшем подвергается гидролизу SAH-гидролазой (реакция 6). Метиониновый цикл завершается реметилированием гомоцистеина в метионин благодаря B-12 зависимой метионин синтазой (реакция 7) с участием 5-метилтетрагидрофолата (CH₃-ТНФ) в качестве субстрата. В печени и почках реметилирование гомоцистеина в метионин происходит с помощью бетаин-гомоцистеин метилтрансферазы (реакция 10 на рисунке 28).

В почках выделен ген, ответственный за синтез изофермента MAT II, экспрессируемый во всех тканях. MAT II обладает «низкой K_m» и ингибируется продуктом реакции. Активация ферментов MAT I и MAT III регулируется благодаря воздействию NO. Их ферментная активность снижается в значительной степени при нитрозилировании специфических цистеиновых последовательностей в этих двух ферментах.

Формирование SAM является ключевой точкой метионинового цикла, так как помимо того, что он является донором метильных групп, он же служит и донором аминопропильных групп в синтезе полиаминов. S-аденозилметионин включается в синтез полиаминов благодаря пируват-зависимой SAM декарбоксилазе (реакция 2).



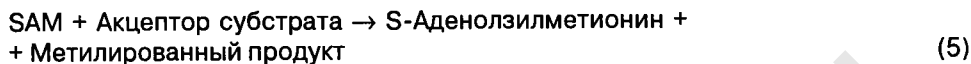
Декарбоксилированный SAM используется пропил аминотрансферазами I и II в качестве донора аминопропильных групп в синтезе спермидина (реакция 3).



Еще одним продуктом пропиламинотрансферазной активности является метилтиоаденозин (МТА), который возвращается в метиониновый цикл. Синтез по-

лиаминов регулируется и в процессе пролиферации клеток. Катионные полиамины играют важную роль в стабилизации отрицательно заряженных нуклеиновых кислот при конденсации хроматина, по этой причине, синтез полиаминов является мишенью для химиотерапевтических воздействий при онкологических заболеваниях.

S-аденозилметионин участвует в роли донора метильных групп с различными метилтрансферазами внутри клетки. Метилирование является основой таких процессов как экспрессия гена, трансляция белка, хемотаксис, клеточная дифференцировка и передача сигнала. 5-метилтетрагидрофолат является еще одним донором метильных групп, его ферментом служит метионин синтаза. SAM-зависимые метилтрансферазы катализируют основные реакции, схематично изображенные на рисунке 30.



Вещества с низким молекулярным весом, такие как гуанидиоацетиловая кислота или норэпинефрин, соединяясь с метильной группой от SAM, образуют креатин и эпинефрин, соответственно. Макромолекулы (фосфолипиды, белки, ДНК, РНК) присоединяют метильную группу от SAM с помощью специфических метилтрансфераз. Еще одним продуктом SAM-зависимой метилтрансферазной активности является S-аденозилгомоцистеин (SAГ или AdoHcy), непосредственный предшественник гомоцистеина в организме человека.

SAГ-гидролаза расщепляет S-аденозилгомоцистеин с образованием гомоцистеина и аденозина (реакция 3)



Реакция обратима, причем обратная реакция является термодинамически значительно предпочтительнее. Таким образом, для осуществления прямой реакции продукты ее должны постоянно метаболизироваться. Гомоцистеин является второй ключевой точкой метионинового цикла. Он может участвовать в процессах реметилирования и транссульфатирования. При накоплении SAГ в результате инактивации SAГ-гидролазы или запуске обратной реакции 6, SAM-зависимые метилтрансферазы также окажутся недееспособными, так как SAГ — конечный продукт в их реакциях. При гипергомоцистеинемии накопление гомоцистеина внутри клетки приводит к значительному повышению концентрации SAГ и нарушению метилтрансферазной активности. Окончанием метионинового цикла является реметилирование гомоцистеина в метионин (рис. 28).

Фермент, катализирующий превращение гомоцистеина в метионин носит название метионин синтазы (МС)(5-метилтетрагидрофолат: гомоцистеин метилтрансфераза). Он переводит гомоцистеин в метионин, используя в качестве донора метильной группы 5-метилтетрагидрофолат и метилкобаламин, коферментную форму цианкобаламина (витамина B₁₂) в качестве катализатора. Для фермента необходим SAM в качестве «субстрата восстановления», который утилизируется примерно каждую тысячу циклов катализа. Для функционирования ферментной системы также необходима система удаления продукта для поддержания максимальной эффективности. Важным продуктом реакции, катализируемой МС, является тетрагидрофолат, активная форма фолиевой кислоты (реакция 7).



Таким образом, витамин B₁₂ и фолиевая кислота играют огромную роль в метаболизме гомоцистеина, и их недостаток может привести к тяжелой форме гипергомоцистеинемии.

Тетрагидрофолат, реагируя с серином, приводит к формированию глицина и 5,10-метилентетрагидрофолата. Эта реакция катализируется B₆ зависимой серин: глицин гидроксиметилтрансферазой (СГГМТ).

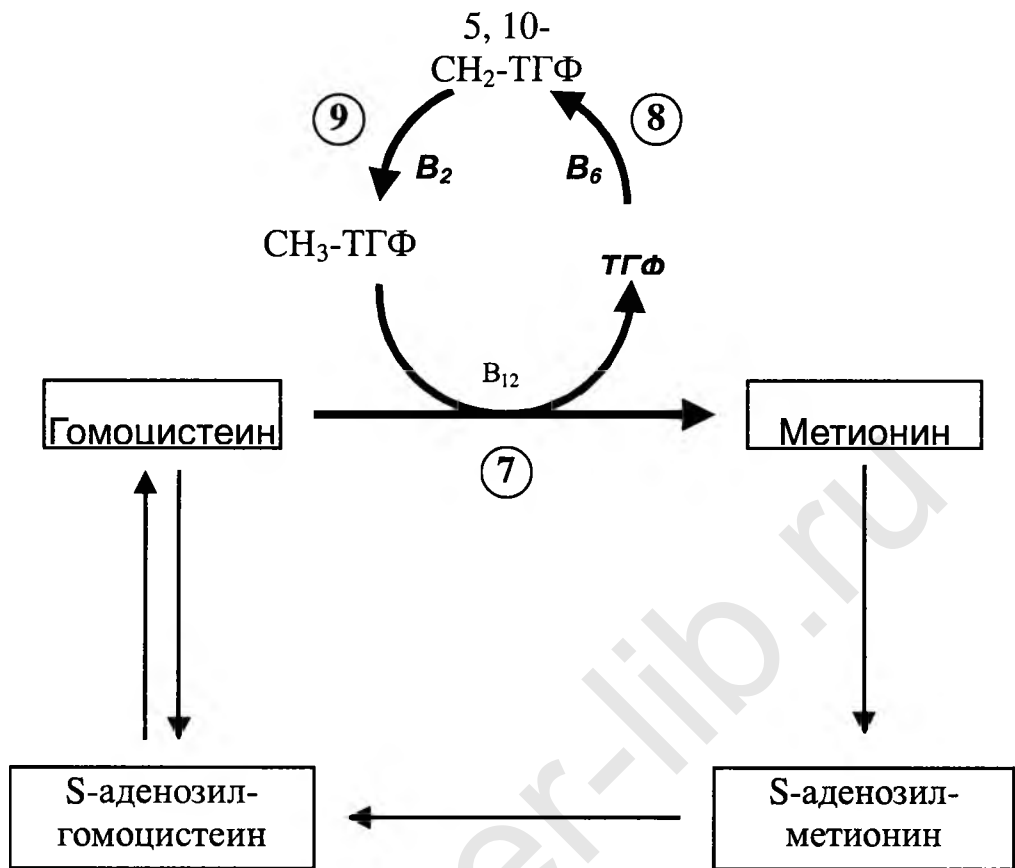


Рис. 28. Реметилирование гомоцистеина.

B_{12} -зависимое реметилирование гомоцистеина в метионин с участием метионин синтазы (реакция 7). Тетрагидрофолат (ТНФ), образованный в реакции 7 взаимодействует с серином с формированием 5,10-метилентетрагидрофолата (5,10-CH₂ТНФ). Реакция 8 катализируется B_6 -зависимой серин-глицин гидрометилтрансферазой. Мини-фолатный цикл заканчивается превращением 5,10-CH₂ТНФ в CH₃ТНФ при участии B_2 -зависимой метилентетрагидрофолатредуктазы (реакция 9).

L-Серин + Тетрагидрофолат → Глицин + 5,10-Метилентетрагидрофолат (8)

5,10-метилентетрагидрофолат превращается в дальнейшем в 5-метилтетрагидрофолат под влиянием B_2 — зависимого фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR) с участием NADPH в качестве субстрата (реакция 9).

5,10-Метилентетрагидрофолат + NADPH → 5-Метилтетрагидрофолат (9)

Фермент, ген которого у человека уже клонирован, является гомодимером с Мг 77,000 и имеет в своем составе как каталитический, так и регуляторный домены. В Европейской популяции имеет место полиморфизм MTHFR, который нередко служит причиной значительного повышения гомоцистеина в крови, особенно при дефиците фолиевой кислоты.

Второй фермент, участвующий в реметилировании находится не во всех органах и тканях и использует в качестве донора метильных групп бетаин (триметилглицин), продукт окисления холина. В печени и почках гомоцистеин может быть реметилирован в метионин благодаря бетаин-гомоцистеин метилтрансферазе (BHMT). Побочным продуктом реакции является диметилглицин (реакция 8).



ВНМТ является цинк содержащим металлопротеином с гексамерной структурой и $M_r = 45,000$. Этот фермент встречается в печени и почках человека и не выявляется в других тканях. Роль ВНМТ в метаболизме гомоцистеина до сих пор до конца не ясна. Его уже давно используют для снижения концентрации общего количества гомоцистеина в крови при гомоцистинурии, особенно у лиц, не чувствительных к пиридоксину. Однако эффективность применения этого фермента при наследственных нарушениях метаболизма гомоцистеина остается под вопросом.

Транссульфатирование гомоцистеина

Реакции транссульфатирования, в результате которых гомоцистеин превращается в цистеин, имеют место лишь в некоторых органах и тканях организма человека. В дальнейшем при этом цистеин может полностью катаболизироваться до неорганического сульфата или превратиться в серосодержащий метаболит, такой как, например, таурин (рис. 29).

Транссульфатирование запускается B_6 -зависимым ферментом цистатионин- β -синтазой (CBS). Вместе с пиридоксаль фосфатом, кофакторной формой витамина B_6 , фермент катализирует реакцию между серином и гомоцистеином, в результате которой образуется цистатионин (реакция 11).



CBS представляет собой гомотетрамер, каталитическая активность которого, помимо пиридоксаль фосфата зависит еще и от наличия гема. Фермент у человека обладает пятью изоформами мРНК, различающимися между собой начальными 5' участками. Активность CBS в свою очередь регулируется SAM, который является в данном случае положительным аллостерическим эффектором. В присутствии SAM ферментная активность повышается в 3—10 раз.

Вторым этапом транссульфатирования является расщепление L-цистатионина на L-цистеин, α -кетобутират и аммиак B_6 зависимым ферментом цистатионазой (цистатионин γ -лиаза) (реакция 12).



Транссульфатирование заканчивается формированием цистеина (реакция 12), который в свою очередь может подвергаться и другим превращениям (рис. 29).

Особенности обмена гомоцистеина в различных органах и тканях

Ранние исследования, посвященные изучению активности ферментных систем в органах и тканях крысы показали, что в отличие от процессов B_{-12} -зависимого реметилирования, происходящих повсеместно, реакции с участием B_6 — зависимой CBS имеют место лишь в почках, печени, поджелудочной железе, жировой ткани, мозге и, возможно, слизистых. Ферментной активности CBS не было выявлено в легких, надпочечниках и сердце. Аналогичные исследования у человека показали, что CBS активность также присутствует в почках и мозге. Все это навело на мысль о том, что для некоторых клеток и тканей необходимо получать цистеин непосредственно из кровотока.

Концентрация цистеина в плазме крови варьирует от 200 до 300 мМ, а свободный цистеин составляет примерно 50% от общего количества. Комплекс цистеин-глицин также служит источником цистеина для клеток, не имеющих пути транссульфатирования.

Регуляция обмена гомоцистеина

Как следует из вышесказанного, метаболизм метионина является циклом с единственным, однонаправленным выходом в реакции транссульфатирования. Он характеризуется двумя параметрами: количеством метионина, проходящего цикл, и долей гомоцистеина, уходящей в реакции транссульфатирования в каждом цик-

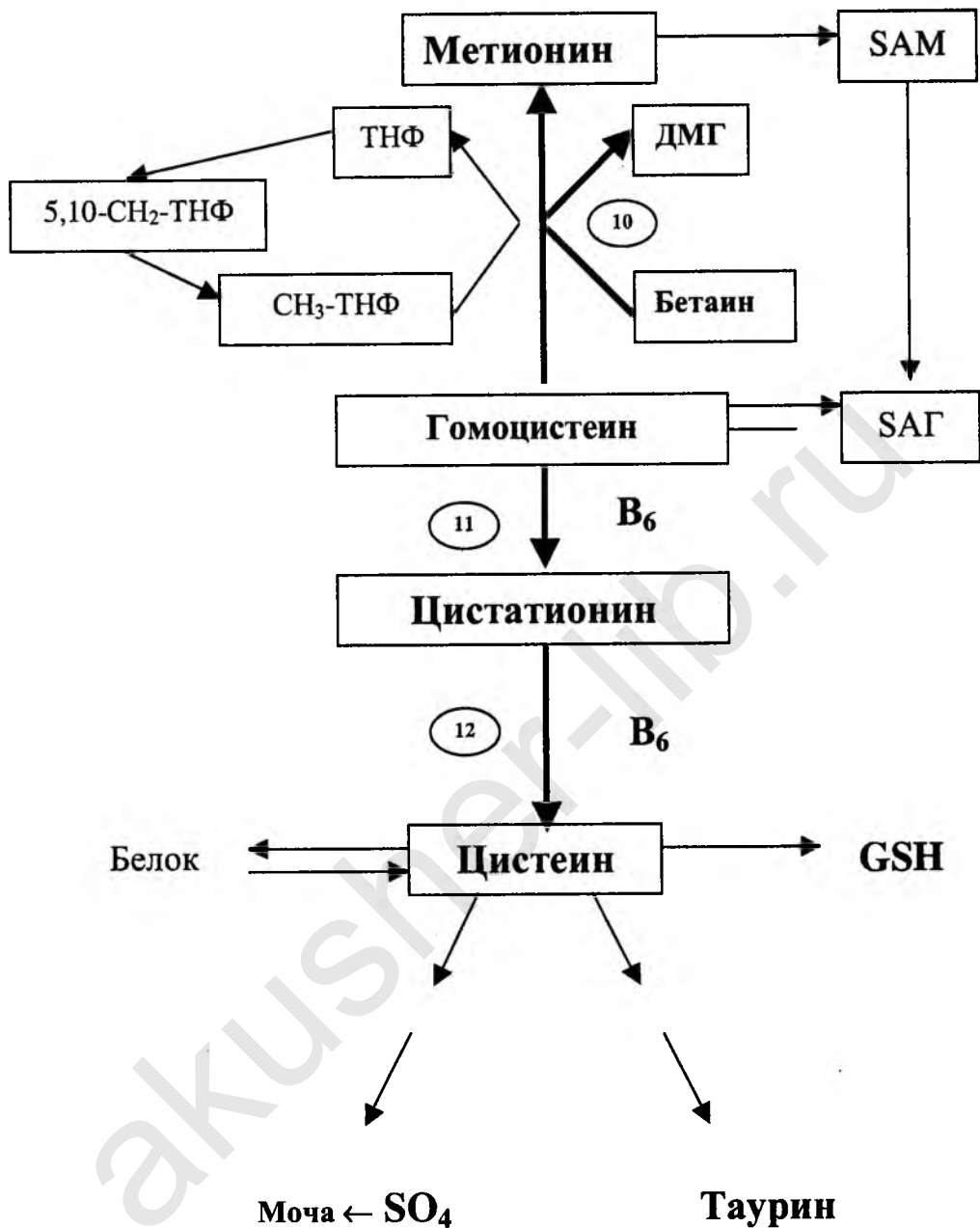


Рис. 29. Транссульфатирование и альтернативные пути реметилирования.

ле. В соответствии с этим имеются два возможных участка регуляции. Первым является распределение метионина между конкурирующими реакциями синтеза белков и синтеза АдоМет. Во втором принимают участие ферменты, использующие гомоцистеин. Регуляция на уровне ферментов связана с концентрацией фермента в тканях, которая в свою очередь зависит от возраста, диеты и приема гормональных и других препаратов. Важны также и кинетические особенности каждого отдельного фермента, его аффинитет к субстрату и ответ на воздействие афферторов. К таким метаболическим афферторам относятся АдоМет, АдоГци и метионин THF.

Кинетические свойства ферментов

Различают две группы ферментов в зависимости от их кинетических характеристик (табл. 27).

Таблица 27.

Фермент	Km (mM)	Эффекты метаболитов		
		метионин	АдоМет	АдоГци
«Метионин-сберегающие» ферменты				
MAT I	0,003—0,041	S	P,I	
	0,004—0,023	S	P,I	
Аденозилгомоцистеиназа гидролиз синтез	0,008—0,06			S
	0,16			P,I
Бетаин-метилтрансфераза	0,012—0,06	P,I	I	I
Метионинсинтетаза	0,06	P,I	CoS	I
MTHFR	—	I	A	
«Метионин-катаболизирующие» ферменты				
MAT III	0,03—1,3	S	P,A	
Цистатионин-β-синтетаза	1—25		A	A
Г-цистационаза	3			
Глицинметилтрансфераза	0,03—0,18		S,A	P,I
Неклассифицируемые ферменты				
АдоМет-декарбоксилаза	0,05—0,08		S	

Km — константа Михаэлиса для серосодержащих субстратов;

S — субстрат;

P — продукт;

I — ингибитор или инактиватор;

A — активатор;

CoS — косубстрат.

«Метионин-сберегающие ферменты» имеют низкие значения Km для серосодержащих субстратов и могут ингибироваться как продуктами реакции, так и другими метаболитами цикла. MFMT является исключением, потому что АдоМет является необходимым косубстратом, однако и метионин, и АдоГци ингибируют MFMT и синтез его субстрата, метил THF, ингибируется АдоМет. Как показано в таблице 27, ферменты метионинового цикла (MAT I и II, аденозилгомоцистеиназа (гидролиз), BHMT, и MFMT) составляют группу метионин-сберегающих ферментов.

В противоположность им, «метионин-катаболизирующие ферменты» имеют относительно высокие значения Km, и могут активироваться под воздействием своих метаболитов. Эта группа включает MAT III с высокой Km, цистатионин-синтазу и цистатионазу — ферменты реакций транссульфатирования. Этим ферментам для завершения пути превращения требуется АдоМет-зависимая трансметилаза. В идеале, трансметилаза должна активироваться АдоМет, не ингибироваться АдоГци, использовать несущественный и доступный субстрат, и производить неядовитый продукт, который мог бы быть вновь переработан. Этим требованиям

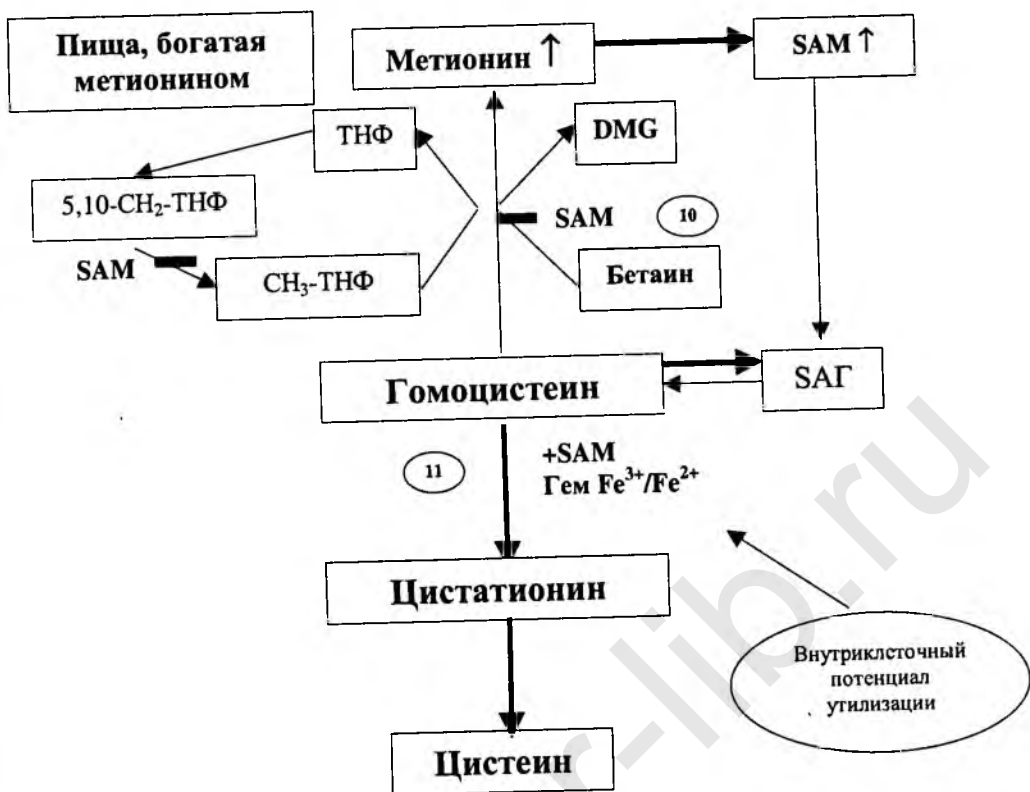


Рис. 30. Регуляция метаболизма гомоцистеина.

Концентрация SAM, отрицательного аллостерического фактора, повышается при увеличении потребляемого метионина в рационе, при этом происходит подавление MTHFR (реакция 9) и снижение синтеза $\text{CH}_3\text{-THF}$. SAM также подавляет BHMT (реакция 10). Положительным аллостерическим фактором SAM является для CBS (реакция 11), в результате чего, большая часть гомоцистеина метаболизируется в цепи реакций транссульфатирования. Активность CBS как гем-зависимого белка регулируется степенью окисления атома железа в составе гема.

соответствует глицин-метил-трансфераза, и интересно отметить, что распределение этого фермента в тканях соответствует распределению ферментов реакций транссульфатирования.

Выделенные группы ферментов по-разному реагируют на изменения в питании и возрастные изменения. В экспериментах на крысах было показано, что содержание в печени катаболизирующих ферментов увеличивается с возрастом и в ответ на повышение потребления белка или метионина с пищей. Была выявлена интересная особенность BHMT. Уровень этого фермента в печени крыс увеличился как при снижении, так и при повышении поступления метионина.

Продукты питания

Распределение гомоцистеина между двумя процессами реметилирования и транссульфатирования зависит от наличия в принимаемой пище лабильных доноров метильных групп, таких как метионин или холин. Исследования показали, что у мужчин и женщин при соблюдении сбалансированной диеты доля реметилированного гомоцистеина составляет 1,9 и 1,5, соответственно. Однако, при удалении из рациона источников лабильных метильных групп синтез метионина из гомоцистеина возрастает в 3,9 и 3,0 раза, соответственно.

Наличие в дневном рационе необходимых микроэлементов также определяет эффективность обмена гомоцистеина. К ним относятся как минимум четыре витамина из группы В: фолиевая кислота, В₁₂, В₆ и В₂. Витамин В₁₂ в конечном итоге превращается в кофактор метилкобаламин, В₆ - в кофактор пиридоксаль фосфат, В₂ - в кофактор флавин аденин динуклеотид. Дефицит этих витаминов, за исключением витамина В₂ в принимаемой пище является причиной развития приобретенной гипергомоцистеинемии. Фолиевая кислота не выполняет роли кофактора, а является субстратом для лабильных метильных групп метионинового цикла. Из всех вышеуказанных микронутриентов, именно низкая концентрация фолатов в плазме крови способна значительно влиять на содержание гомоцистеина.

У лиц с гипергомоцистеинемией легкой степени или концентрация гомоцистеина в плазме, у которых находится на верхней границе нормы, прием 100—200 мкг фолиевой кислоты в сутки приводит к значительному улучшению ситуации.

S-аденозилметионин

SAM регулирует процессы как реметилирования, так и транссульфатирования (рис. 30).

При увеличении потребляемого с пищей гомоцистеина, концентрация SAM внутри клетки возрастает, а утилизация гомоцистеина концентрируется на пути транссульфатирования. При этом SAM выступает в роли положительного аллостерического эффектора CBS, стимулируя запуск реакций транссульфатирования и ингибируя реметилирование. Для подавления реакций реметилирования SAM становится отрицательным аллостерическим эффектором в отношении MTHFR и BHMT. Подавление активности MTHFR снижает продукцию 5-метилтетрагидрофолата, и, таким образом, снижается количество субстрата для В₁₂-зависимой МС.

Еще одним способом регуляции активности ферментов является способность SAH выступать как в роли положительного, так и отрицательного аллостерического регулятора.

Транспортные системы гомоцистеина

В норме концентрация общего гомоцистеина в плазме крови здорового человека варьирует в пределах 4 — 12 мкм. В кровь среднестатистического здорового лица каждый час поступает около 55 ммоль гомоцистеина (что эквивалентно 1,32 ммоль/сутки), однако лишь 0,006 ммоль/сутки экскретируется с мочой. Таким образом, в течение дня организму необходимо метаболизировать (не выделить с мочой) около 2—3 ммоль гомоцистеина. Исследования показали, что в отличие от крысы, у человека отсутствует значимое различие в концентрации общего гомоцистеина в артериях и венах почек, что говорит о протекании активных обменных процессов преимущественно в печени и других органах.

Механизмы транспорта

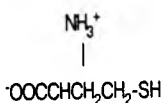
Исследования, проведенные на культурах эндотелиальных клеток пупочной вены, показали, что транспорт гомоцистеина происходит благодаря транспортным системам цистеина.

Экспорт гомоцистеина клетками напрямую зависит от выраженности процессов пролиферации, и, таким образом, может блокироваться такими препаратами как метатрексат. Помимо этого, клетки также способны экспортировать гомоцистеин и из межклеточного пространства.

У большинства лиц с сердечно-сосудистыми заболеваниями имеет место легкая степень гипергомоцистеинемии, с содержанием общего гомоцистеина в плазме чуть более 25 мкм. Большая часть гомоцистеина в плазме находится в окисленной форме в виде дисульфида, окисление происходит практически сразу после поступления гомоцистеина в циркулирующую кровь. Основные формы гомоцистеина представлены на рисунке 31. Концентрация свободного гомоцистеина у здоровых лиц и людей с легкой формой гипергомоцистеинемии обычно составляет менее 2% от общего количества гомоцистеина в плазме крови. На-

Свободная форма:

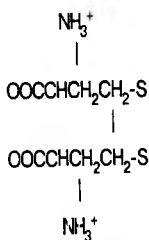
Гомоцистеин



< 2%

Окисленная форма:

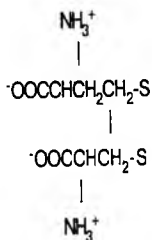
Гомоцистин



5—10%

Смешанные дисульфиды:

Цистеин-гомоцистеин



5—10%

Белок-связанный гомоцистеин

Белок

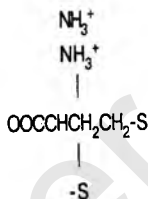


Рис. 31. Основные формы гомоцистеина.

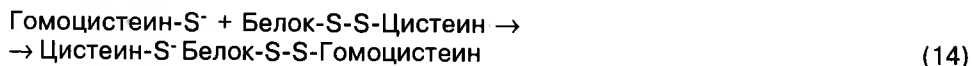
против, при гомоцистинурии, концентрация свободного гомоцистеина значительно выше: около 5—20% от общего количества гомоцистеина. Окисленный продукт гомоцистеина носит название *гомоцистин*. Окисленную форму гомоцистеина и гомоцистина называют *гомоцистеин-гомоцистин-смешанным дисульфидом*. Дисульфидная связь является характерной чертой всех форм гомоцистеина, циркулирующего в плазме. Низкомолекулярные формы гомоцистеина и гомоцистеин-гомоцистина составляют 5—10% от общего количества гомоцистеина. Гомоцистеин, связанный с белком дисульфидной связью представлен шире и составляет 80—90%. Наиболее подходящим транспортным белком в организме человека является белок с одним остатком цистеина в позиции 34. Еще одной циркулирующей в крови формой является гомоцистеин тиолактон, стабильная форма гомоцистеина, состоящая из пяти молекул, собранных в кольцо присутствует в крови и в норме у здорового человека.

После попадания гомоцистеина из клетки в кровь он подвергается процессам окисления в присутствии молекулярного кислорода, в результате которых образуются дисульфидные формы (S-S) и перекись кислорода. Основная реакция сульфидрильного аутоокисления представлена ниже (реакция 13).



Эти реакции значительно ускоряются при наличии ионов меди или кобальта. Наиболее часто встречаемым участником реакций окисления *in vivo* является медь-содержащий церулоплазмин. Гомоцистеин окисляется *CYS*₃₄содержащим белком с образованием белок связанного гомоцистеина *in vitro*. Помимо аутоокисления альбумин связанный гомоцистеин может так же образовываться в обмен-

ный реакция с участием тиол-дисульфида. При физиологических значениях рН около 1% гомоцистеина присутствует в виде тиолат аниона. Тиолатный анион гомоцистеина может достаточно быстро приводить к отрыву CYS₃₄ от белка, содержащего остаток цистеина в результате нуклеофильного замещения, как показано в реакции 14.



В результате реакции между белком, содержащим остаток цистеина в положении 34 и гомоцистеина образуется белок связанный гомоцистеин (реакция 15).



Таким образом, к формированию наиболее широко представленной формы гомоцистеина в плазме крови могут приводить различные реакции.

Метаболические эффекторы

Изменения содержания ферментов в тканях, их сродства к субстратам и различия в концентрации этих субстратов составляют основу для метаболической регуляции. Изменения концентраций трех метаболических эффекторов — АдоМет, АдоГци, метил-ТНФ — обеспечивают потенциал для дополнительной немедленной адаптации.

Концентрация АдоМет в печени в норме — показатель доступности метионина. Kutzbach и Stokstad показали, что АдоМет ингибирует МТНФР, в результате уменьшается концентрация метил-ТНФ и замедляется реакция MFMT. Впоследствии было обнаружено, что АдоМет активирует цистатион-синтазу и ингибирует ВНМТ. На основании этих результатов было высказано предположение, что АдоМет служит метаболическим «выключателем», повышение его концентрации ускоряет реакции транссульфатирования и ограничивает ресинтез метионина. Регулирующую роль АдоМет подтверждает также тот факт; что он является положительным эффектором МАТ III и глицин-метилтрансферазы, ферментов, участвующих в катаболизме избытка метионина.

Концентрация АдоМет во всех тканях, кроме печени, относительно постоянна, поэтому в них более существенными являются регулирующие свойства АдоГци. Концентрация АдоГци обычно отражает концентрацию гомоцистеина в тканях (очевидное исключение составляет присутствие ингибиторов аденозил-гомоцистеиназы). АдоГци имеет несколько существенных метаболических эффектов. Он является мощным ингибитором большинства АдоМет-зависимых трансметилаз и гомоцистеин-метилтрансфераз — MFMT и ВНМТ. АдоГци восстанавливает МТНФР, ингибированную АдоМет. АдоГци, как и АдоМет, активирует цистатионин-синтазу в тех ситуациях, когда эти два метаболита не являются антагонистами. Учитывая это разнообразие метаболических эффектов, трудно предсказать результирующее влияние увеличения концентрации АдоГци. In vitro было обнаружено, что АдоГци в малых концентрациях практически не оказывает влияния на гомоцистеин-катаболизирующие ферменты, но при повышении его концентрации в определенный момент увеличивается синтез цистатионина. Однако, эта модель не отражает изменений МТНФР. Таким образом, эффект накопления АдоГци in vivo, вероятно, выражается в повышении использования гомоцистеина из-за увеличения его притока через MFMT и реакции транссульфатирования.

Недавно было показано, что метил-ТГФ ингибирует глицин-метилтрансферазу, что позволило предположить наличие еще одного дополнительного механизма метаболической регуляции. Как указывалось выше, АдоМет ингибирует синтез метил-ТНФ. Таким образом, концентрации метил-ТНФ имеют тенденцию уменьшаться с увеличением доступного метионина. Если глицин-метилтрансфераза является главной трансметилазой, связывающей катаболизм метионина и реакции транссульфатирования, возможно наличие еще одного «выключателя».

Избыток метионина может увеличивать концентрацию АдоМет. В свою очередь, синтез метил-ТНФ может уменьшаться, и метилирование глицина может облегчаться. Повышение уровня метил-ТНФ в тканях может ограничивать активность глицин-метилтрансферазы и реакций транссульфатирования.

Существует еще одна возможность метаболической регуляции обмена метионина и гомоцистеина. Цистатионин-синтаза является гем-содержащим ферментом, ее активность возрастает в кислой среде. С другой стороны, MFMT подвержена окислению и, возможно, находится *in vivo* в ассоциации с растворимым цитохромом b5, и цитохром P450 редуктазой. В присутствии АдоМет осуществляется метилирование, при этом окисленная MFMT восстанавливается в активную форму. Обобщив эти наблюдения, Vanerjee, Mattew, Chen и Vanerjee предложили другой механизм распределения гомоцистеина между реметилированием и синтезом цистатионина. В ответ на стресс отдается предпочтение транссульфатированию, что облегчает синтез глутатиона.

Другие пути превращения

Имеется еще один цикл превращения, основанный на синтезе холина путем последовательного метилирования этаноламина. Путь превращения от метионина через АдоМет к холину и затем от бетаина к метионину приводит к потере двух метильных групп. Другой путь, последовательное окисление диметилглицина, продукта реакции ВНМТ через саркозин к глицину приводит к появлению двух молекул метилен-ТНФ.

Мало изучен вопрос образования и клинического значения гомоцистеин-тиолактона. В условиях эксперимента, Jakubowski показал, что ошибочное образование гомоцистеин-ТРНК может быть исправлено выбросом гомоцистеин-тиолактона, и что клетки с нарушениями метаболизма гомоцистеина продуцируют большее количество тиолактона. В других исследованиях он обратил внимание на процесс последующего гомоцистеинилирования белков и предположил, что это может иметь значение для клинической гомоцистинурии и гипергомоцистеинемии у человека. Эта гипотеза требует подтверждения.

Высвобождение гомоцистеина из клеток

Высвобождению гомоцистеина уделяется относительно небольшое внимание, хотя в результате этого процесса содержание гомоцистеина в клетках может поддерживаться на относительно постоянном уровне. Ueland и соавт. считают, что оно зависит от пролиферации клеток и ингибиторов метаболизма гомоцистеина. Было показано, что выделение гомоцистеина отражает неустойчивость его синтеза и метаболизма в клетке.

В цельной крови при комнатной температуре происходит повышение концентрации гомоцистеина в результате его высвобождения из различных клеток крови. В эритроцитах имеется недостаток функционального реметилирования гомоцистеина. В цельной крови при комнатной температуре общее количество гомоцистеина в плазме возрастает примерно на 0,5—1,0 микромоль/л в час. Следовательно, для точного определения концентрации гомоцистеина в крови необходимо либо ее срочно центрифугировать, либо заморозить. Эта процедура трудно осуществима в общей практике, в особенности в больших эпидемиологических исследованиях. Недавно было продемонстрировано, что использование кислых цитрат-содержащих пробирок позволяет предотвратить увеличение концентрации гомоцистеина в плазме в течение 4 часов.

Refsum и соавт. подсчитали, что *in vivo* высвобождение гомоцистеина из клеток крови не влияет на его концентрацию в плазме.

Исследования на эндотелиальных клетках человеческой пупочной вены показали, что эти клетки в культуре выделяют гомоцистеин с постоянной скоростью в течение 7,2 часов. За это время концентрации метионина, витамина B6 и фолатов уменьшаются незначительно. Добавление физиологических количеств метил-

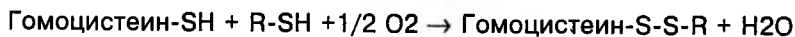
ТНФ к питательной среде приводит к уменьшению выделения гомоцистеина в зависимости от дозы, например, добавление от 10 до 30 нмоль/л метил-ТНФ, что выше нормального уровня фолатов в человеческой плазме, уменьшает выделение гомоцистеина на 50%. Выделение гомоцистеина не изменяется под влиянием метилкобаламина, флавин-аденин-динуклеотида (ФАД) или пиридоксальфосфата (PLP). Очевидно метаболизм гомоцистеина в эндотелиальных клетках зависит от метионин-синтазы, которой требуется метил-ТНФ в качестве субстрата. Это наблюдение подтверждается экспериментами с эндотелиальными клетками пациентки с гомозиготной формой дефицита CBS. У этой женщины были выявлены высокий уровень гомоцистеина, сниженная активность CBS в культуре фибробластов и при генетическом исследовании было обнаружено, что она гомозиготна по мутации T833C. Высвобождение гомоцистеина эндотелиальными клетками и маркеры эндотелиальной функции (vWF, tPA и PAI-1) были в норме. Даже в среде с очень высокой концентрацией метионина (до 200 микромоляр) клетки с дефицитом CBS выделяли то же количество гомоцистеина что и нормальные эндотелиальные клетки, и эндотелиальная функция оставалась нормальной. Примечателен тот факт, что повышение концентрации метионина не приводит к увеличению выделения гомоцистеина, в отличие от увеличения его выделения в гепатоцитах, культивированных при высоких концентрациях метионина. Процесс трансметилирования (превращения метионина в гомоцистеин) в эндотелиальных клетках, вероятно, прерывается на уровне метионин-аденозилтрансферазы, которая предотвращает накопление АдоМет. Высокие концентрации АдоМет нежелательны из-за риска безудержного метилирования таких соединений, как ДНК, белки мембран клеток и др. Таким образом, в эндотелиальных клетках образование гомоцистеина зависит от объема трансметилирования, в то же время, удаление гомоцистеина зависит от его реметилирования метионин-синтазой и экскреции.

Сосудистая система

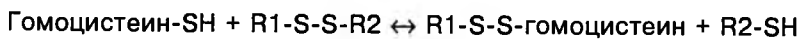
Считается, что метаболизм гомоцистеина в сосудистой системе определяется фолат-зависимым реметилированием и высвобождением его из клеток. ВНМТ имеется только в печени и почках. Предполагают, что хотя CBS определяется в нескольких тканях, ее периферическая активность слишком низка для того, чтобы внести значительный вклад в метаболизм гомоцистеина. Это означает, что, как только возможности фолат-зависимого реметилирования гомоцистеина исчерпаны, он начинает секретироваться в кровь с помощью неизвестных пока транспортных систем (см. ниже). Высвобождение гомоцистеина необходимо для обеспечения низкого его внутриклеточного содержания, и предотвращения накопления АдоМет. Поэтому такой транспорт восстановленного гомоцистеина может строго регулировать его концентрацию в клетках.

В клетках глутатион, цистеин и гомоцистеин находятся в своей восстановленной форме. Как только гомоцистеин поступает из эндотелиальной клетки в кровь, он сразу окисляется в результате высокого содержания кислорода. Гомоцистеин в крови окисляется до дисульфида с различными тиол-содержащими соединениями — самим собой, цистеином или белками. Гомоцистеин может также участвовать в реакциях обмена дисульфидами с любыми доступными соединениями.

Окисление



Реакции обмена дисульфидов



R = любое соединение в плазме с тиоловой группой, доступное для реакции с гомоцистеином, типа белков, глутатиона, γ -глутамилцистеина или цистинилглицина.

Из-за окисления в плазме только около 1% общего количества гомоцистеина он присутствует в восстановленной форме. Это означает, что при умеренной

гипергомоцистеинемии с общим количеством, гомоцистеина около 20 мкмоль/л, только 0,2 мкмоль/л присутствует в свободной восстановленной форме. Таким образом, проведение экспериментов *in vitro* или *in vivo* с содержанием восстановленного гомоцистеина в миллимолярных концентрациях (практикующееся во многих исследованиях), что в 10 000 раз превышает физиологические значения, лишено клинического смысла. В биохимии хорошо известно, что соединения со свободной сульфгидрильной группой, типа β-меркаптоэтанола или дитиотреитола в миллимолярных концентрациях изменяют функцию белков. В этом свете становится понятным, почему в литературе имеется множество сообщений о воздействии гомоцистеина на различные белки. Миллимолярные концентрации гомоцистеина не должны использоваться в патобиохимических исследованиях.

Вопросы эпидемиологии гипергомоцистеинемии (возрастные, этнические особенности, влияние питания, генетические причины)

Концентрация гомоцистеина в плазме крови зависит от ряда факторов (табл. 28):

- Генетические факторы
- Физиологические особенности
- Образ жизни
- Сопутствующие заболевания
- Лекарственные препараты

Таблица 28.

Основные причины развития различных форм гипергомоцистеинемии.

Концентрация гомоцистеина	Частота	Основные причины
Умеренное повышение (15—30 мкмоль/л)	</= 10%	Неправильный образ жизни, включая несбалансированное питание. Мутация MTHFR в сочетании с нарушением фолатного статуса.
		Дефицит фолатов. Умеренный дефицит кобаламина. Почечная недостаточность. Гиперпролиферативные заболевания. Влияние лекарственных веществ.
Средняя степень (30—100 мкмоль/л)	</= 1%	Мутация MTHFR в сочетании с дефицитом фолатов. Умеренный дефицит кобаламина. Тяжелый дефицит фолатов. Тяжелая почечная недостаточность.
Тяжелая степень (> 100 мкмоль/л)	</= 0,02%	Тяжелый дефицит кобаламина. Мутация CBS (гомозиготная).

Генетические факторы

Гетерозиготная мутация гена цистатионин-β-синтазы (CSB) как причина повышения в крови концентрации гомоцистеина была впервые выявлена 30 лет назад. При дефиците CBS повышение концентрации гомоцистеина было не столь выраженным, хотя ученые считали, что именно оно являлось основной причиной развития сосудистой патологии у ряда больных.

Наследственный фактор гипергомоцистеинемии подтверждали исследования уровня гомоцистеина в крови у монозиготных и дизиготных близнецов, а также у членов семей с отягощенной наследственностью в отношении сердечно-сосудистых заболеваний.

Более значимым наследственным дефектом, приводящим к выраженному повышению концентрации гомоцистеина в крови, был в дальнейшем признан полиморфизм гена метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T. Мутация гена метионин синтазы, как оказалось, является причиной развития умеренной гипергомоцистеинемии.

Физиологические особенности

Концентрация гомоцистеина в крови повышается в течение жизни, как у мужчин, так и у женщин. Концентрация гомоцистеина в крови у девочек и мальчиков в препубертате примерно одинакова и равна в среднем 5 мкмоль/л. В пубертатном возрасте происходит значительное повышение концентрации, особенно у мальчиков, и по его окончанию разница между полами становится сравнимой с таковой у взрослых лиц.

У взрослого мужчины концентрация гомоцистеина в крови на 1—2 мкмоль/л выше, чем у женщины. Причиной этого, возможно, является различие в количестве мышечной массы, витаминном и гормональном статусе. В период от пубертата до престарелого возраста концентрация гомоцистеина возрастает у обоих полов примерно на 3—5 мкмоль/л, однако у долгожителей отмечается ее снижение. Концентрация гомоцистеина в постменопаузе значительно выше, чем в пременопаузе. При этом ряд исследований показали значительное снижение концентрации гомоцистеина в крови при приеме эстрогенов в составе ЗГТ в постменопаузе, так и оральных эстроген-содержащих контрацептивов в репродуктивном периоде. Возрастные изменения могут быть связаны с нарушением функции почек, изменением фолатного статуса, в то время как половые различия определяются влиянием половых гормонов на гомоцистеин или, возможно, на его продукцию.

Отмечено достоверное снижение концентрации гомоцистеина во время беременности (более 50%), не зависящее от концентрации в крови. Это снижение происходит между первым и вторым триместрами, и концентрация сохраняется затем на протяжении всей беременности. Уровень гомоцистеина после родов находится в обратной зависимости от веса плода и срока гестации. Нормализация концентрации гомоцистеина происходит в течение 2—4 дней послеродового периода. Снижение уровня гомоцистеина во время беременности можно рассматривать как физиологическую адаптацию организма матери, направленную на поддержание адекватной циркуляции крови в плаценте.

Образ жизни и характер питания

Уровень гомоцистеина в плазме крови возрастает примерно на 14% в течение 8 часов после приема пищи, богатой белком. Однако характер питания не является причиной развития гипергомоцистеинемии при нормальном содержании кобаламина и фолатов в крови.

Содержание гомоцистеина в норме в плазме крови исследовалось во многих крупных популяционных исследованиях. Повышенное содержание гомоцистеина у взрослых людей обычно связывают с низкой концентрацией в крови витаминов группы В, а также фолатов.

Возраст и пол являются двумя основополагающими детерминантами, определяющими концентрацию гомоцистеина, при этом с возрастом идет значительное повышение его концентрации, а также концентрация у мужчин превосходит таковую у женщин. В Фрамингемском исследовании у мужчин и женщин разного возраста были исследованы концентрации гомоцистеина, фолатов и витаминов группы В в крови (табл.29). В этом исследовании помимо всего прочего было показано, что повышенная концентрация гомоцистеина в крови (> 14 мкмоль/л) имеет место у лиц с ишемической болезнью сердца, а также у лиц старшего возраста обоих полов.

Таблица 29.

Средние концентрации гомоцистеина по данным Фрамингемского когортного исследования.

	Возраст	n	Средняя концентрация гомоцистеина (мкмоль/л)	Гомоцистеин > 14 мкмоль/л (%)
Мужчины	65—74	239	11,8	25,3
	75—79	110	11,9	26,7
	≥ 80	108	14,1	48,3
Р (отклонение в зависимости от возраста)			$< 0,001$	$< 0,001$
Женщины	65—74	310	10,7	19,5
	75—79	204	11,9	28,9
	≥ 80	189	13,2	41,4
Р (отклонение в зависимости от возраста)			$< 0,001$	$< 0,001$
Р (отклонение в зависимости от пола)			0,003	0,09

Фрамингемское исследование доказало, что сниженный уровень фолатов и витаминов группы В в крови является причиной развития различных по выраженности форм гипергомоцистеинемии.

Дефицит фолатов, витамина В₆ и кобаламина является одной из основных причин развития умеренной и тяжелой формы гипергомоцистеинемии. Прием фолиевой кислоты наиболее эффективен в отношении снижения концентрации гомоцистеина, по сравнению с фолатами, извлекаемыми из принимаемой пищи. Эффективной в отношении снижения концентрации гомоцистеина в крови является доза фолиевой кислоты не менее 4 мг/сут. Было отмечено значительное различие в содержании гомоцистеина в крови у курящих и не курящих лиц. Более

того, прослежена зависимость от количества выкуриваемых за сутки сигарет и концентрацией гомоцистеина в плазме крови не зависящая от возраста и пола у людей даже с высоким «фолатным статусом». У курильщиков с высоким фолатным статусом отмечается значительное повышение гомоцистеина в крови, что может свидетельствовать о влиянии курения на метаболизм фолатов в организме. При этом курильщики реже соблюдают правильный режим питания, потребляют меньше овощей, а также витаминов, особенно группы В. Плюс ко всему, табачный дым содержит свободные радикалы, которые усугубляют кислородный стресс.

Прием более 6 чашек кофе в день приводит к повышению в крови гомоцистеина примерно на 2—3 мкмоль/л. Кофе, как известно традиционно ассоциируется с нездоровым образом жизни и несбалансированным питанием. Кофе, не содержащий кофеин, не влияет на содержание гомоцистеина в плазме крови, а, следовательно, кофеин является основным компонентом, запускающим процесс. Кофеин при этом может влиять как на сердечно-сосудистую систему, так и на функцию почек и функциональную активность витамина В₆.

Физическая активность и умеренное употребление алкоголя способствуют поддержанию нормальной концентрации гомоцистеина в крови. У людей, занимающихся физической культурой концентрация гомоцистеина в плазме на 1 мкмоль/л ниже, чем у лиц, ведущих сидячий образ жизни. Прием крепких спиртных напитков в больших количествах также способствует нарастанию количества гомоцистеина в крови. Причиной тому является инактивация метионин синтазы ацетальдегидом. Хронический алкоголизм является одной из причин развития приобретенной гипергомоцистеинемии, особенно у лиц с несбалансированным питанием.

Влияние лекарственных препаратов

Таблица 30.

Влияние лекарственных препаратов на содержание гомоцистеина в плазме крови.

Класс лекарственных веществ	Эффект	Возможные механизмы действия
Антагонисты фолатов		
Метатрексат	Повышает	Ингибирование дигидрофолат редуктазы (ДГФЛ), снижение концентрации фолатов
Противосудорожные препараты	Повышают	Ингибирование полиглутаминирования, снижение концентрации фолатов
Колестипол	Повышает	Ингибирование абсорбции фолатов
Холестирамин	Повышает	Ингибирование абсорбции фолатов
Антагонисты кобаламина		
Метформин	Повышает	Ингибирование абсорбции кобаламина
Антагонисты H ₂ рецепторов	Не определено	Ингибирование абсорбции кобаламина
Омепразол	Не определено	Ингибирование абсорбции кобаламина
Холестирамин	Не определено	Ингибирование абсорбции кобаламина

Класс лекарственных веществ	Эффект	Возможные механизмы действия
Антагонисты витамина В ₆ Ниацин Азауридин Изониазид Теofilлин	Повышает	Ингибирование пиридоксаль киназы
	Повышает	Ингибирование пиридоксаль киназы
	Не определено	Ингибирование пиридоксаль киназы
	Повышает	Ингибирование пиридоксаль киназы
Продукты гомоцистеина Аналоги аденозина L-дофа	Снижает	Ингибирование АдоГци гидролазы
	Повышает	Субстрат для АдоМет зависимого трансметилирования
Сульфгидрильные компоненты D-пенициламин N-ацетилцистеин	Снижает	Нарушение обмена дисульфидов
	Снижает	Нарушение обмена дисульфидов
Половые гормоны Оральные контрацептивы Эстрогены Андрогены	Снижают в различной степени	Неизвестны, возможно, влияние на обмен витаминов
	Снижают	Неизвестны, возможно, влияние на обмен витаминов
	Повышают	Увеличивают мышечную массу и усиливают синтез креатинина
Антиэстрогены Тамоксифен	Снижает	Неизвестны
Другие Циклоспорин А Бетаин	Повышает	Нарушает функцию почек
	Снижает	Усиливает реметилирование

Различные классы лекарственных веществ по-разному влияют на концентрацию гомоцистеина в крови (табл. 30). Их влияние опосредовано различными механизмами, включая изменение функционирования витаминов (фолатов, кобаламина или витамина В₆), влияние на продукцию гомоцистеина, нарушение тиол-дисульфидных реакций обмена, изменение функции почек и гормонального статуса.

Прием метатрексата, обладающего антифолатным действием в высокой дозе онкологическими больными при проведении химиотерапии приводит к значи-

тельному повышению концентрации гомоцистеина в течение нескольких часов, это влияние устраняется последующим введением высоких доз фолиевой кислоты.

Ряд других препаратов вызывают развитие гипергомоцистеинемии путем изменения метаболизма фолатов. К таким веществам относятся противосудорожные препараты, снижающие концентрацию фолатов в печени, ингибируя процесс полиглутаминирования. Аналогичными свойствами обладают ниацин и колестипол. Колестипол также нарушает абсорбцию фолатов.

Закись азота приводит к выраженному повышению гомоцистеина в плазме крови. Это повышение, в свою очередь ведет к необратимому окислению кобаламина в реакциях с участием метионин синтазы. Более того, далее происходит обратимая инактивация метионин синтазы. Все это дополняет список побочных эффектов закиси азота, таких как влияние на костный мозг и центральную нервную систему. Для устранения влияния закиси азота на метионин синтазу рекомендуется вводить заблаговременно до анестезии метионин. Эндотелиальный релаксирующий фактор, оксид азота, обладает аналогичным влиянием на метионин синтазу.

Препараты, нарушающие абсорбцию кобаламина, также приводят к развитию гипергомоцистеинемии. К таким препаратам относятся холестирамин, антагонисты H_2 рецепторов, омепразол и метформин, при этом последние два препарата также влияют и на абсорбцию фолатов.

Некоторые препараты способны нарушать функцию витамина B_6 . Основным механизмом их действия является ингибирование пиридоксаль киназы. В эту группу входят такие препараты как азауридин, изониазид, ниацин и теофиллин.

Еще одним механизмом действия некоторых лекарственных веществ является влияние на продукцию гомоцистеина. Ряд противовирусных препаратов, являющихся аналогами аденозина способны ингибировать S-аденозилгомоцистеин гидролазу и таким образом снижать продукцию гомоцистеина. Однако, таких препаратов не много. В частности к ним относится антимаетаболит 2-деоксикоформин. Повышение продукции гомоцистеина может происходить в результате приема препаратов, являющихся субстратами в S-аденозилметионин зависимых реакциях трансметилирования, например, L-Дофа.

Три препарата, содержащие сульфгидрильную группу в своем составе, D-пенициламин, N-ацетилцистеин и 2-меркаптоэтан (месна) способны снижать концентрацию гомоцистеина в крови. Это, возможно, происходит при участии тиол-дисульфидных реакций обмена.

Влияние половых гормонов на концентрацию гомоцистеина опосредуется изменением гормонального статуса, например, в пременопаузальном возрасте концентрация гомоцистеина в крови снижается. При приеме оральных контрацептивов влияние на концентрацию гомоцистеина различно и зависит от фазы менструального цикла. Гормональная заместительная терапия эстрогенами в постменопаузе приводит к снижению концентрации гомоцистеина в крови через 3—6 месяцев от начала приема, после чего у ряда больных концентрация возвращается к исходному уровню. Средние цифры снижения составляют 13,5%, при этом более выражено оно у женщин с повышенным исходным уровнем.

Терапия эстрогенами снижает содержание гомоцистеина как у здоровых мужчин, так и у мужчин с карциномой простаты, при том, что высокие дозы тестостерона у здоровых мужчин не приводят к подобным результатам. Последние исследования, проведенные с участием транссексуалов обоих полов, показали снижение содержания гомоцистеина после приема эстрогенов и антиандрогенов лицами мужского пола, и повышение гомоцистеина в крови после введения андрогенов лицам женского пола. Результатом исследования явилось предположение о том, что физиологические концентрации половых гормонов могут регулировать концентрацию гомоцистеина. Прямая зависимость между гомоцистеином и креатинином плазмы и приемом андрогенов наводит на мысль о том, что андрогены, повышая синтез креатинина, вторично повышают синтез гомоцистеина

при росте мышечной массы. Более того, половые гормоны и оральные контрацептивы могут нарушать обмен фолатов, кобаламина и витамина В₆, что, в свою очередь, ведет к гипергомоцистеинемии.

Обладающий иммуносупрессивным действием циклоспорин А способен повышать концентрацию гомоцистеина в плазме крови. Содержание гомоцистеина в крови у больных с пересаженными почками, принимающими циклоспорин А, значительно повышено. Однако в этом случае причина гипергомоцистеинемии может быть и в нарушении функции почек. При трансплантации других органов, сопровождающейся приемом циклоспорина А, также выявляется достоверное повышение гомоцистеина в плазме. Возможно, механизмом действия циклоспорина А в отношении гомоцистеина является влияние на фолат зависимое реметилирование.

Бетаин является косубстратом в реакциях с участием бетаин-гомоцистеин метилтрансферазы и эффективным средством, используемым для снижения концентрации гомоцистеина при гомоцистинурии. В отличие от витамина В₆, фолата или кобаламина, бетаин эффективен при всех формах гомоцистинурии. Бетаин в суточной дозе 6 грамм значительно снижает и нормализует содержание гомоцистеина у больных с сосудистой патологией, однако, его дальнейшее использование требует дополнительных исследований в этой области.

Сопутствующая патология

Дефицит фолатов, кобаламина, почечная недостаточность — типичные состояния, приводящие к повышению содержания гомоцистеина в плазме крови.

Повышение содержания гомоцистеина в крови отмечается у детей с острым лимфобластным лейкозом и у больных псориазом. Эти состояния связаны с появлением в крови большого количества пролиферирующих клеток, экспортирующих больше гомоцистеина.

Данные о содержании гомоцистеина в крови больных ревматическими заболеваниями весьма разноречивы, отчасти потому, что при системных заболеваниях часто применяется специфическая терапия. У больных с ревматоидным артритом, не принимающих метотрексат отмечено достоверное повышение гомоцистеина в крови, связанное в нарушенным обменом витамина В₆ и абсорбции кобаламина.

При первом типе сахарного диабета гипергомоцистеинемия сопровождается повышением концентрации креатинина и макроальбуминурией. Повышение гомоцистеина в крови связано при этом с нарушением функции почек, однако, и крайне низкая концентрация фолиевой кислоты также вносит свою лепту в развитие данного состояния. При первом и втором типах сахарного диабета повышение гомоцистеина в крови также связано с микроангиопатией, однако взаимосвязь с микроангиопатией и микроальбуминурией доказана не во всех исследованиях. При первом типе сахарного диабета и нормальном содержании креатинина, а также у больных без сахарного диабета с повышенным содержанием инсулина в крови отмечается субнормальное содержание гомоцистеина в плазме, что может быть связано с гиперфльтрацией в гломерулах клубочка, отмеченную на ранних стадиях диабета, либо с метаболическим эффектами высоких доз инсулина. Последнее предположение подтверждается тем фактом, что концентрация гомоцистеина у инсулин-резистентных больных повышена. Снижения концентрации гомоцистеина не отмечается при втором типе диабета, что, возможно, связано с нарушением влияния инсулина на обмен гомоцистеина.

Умеренное повышение гомоцистеина отмечено у больных с гипотиреозом, а снижение у больных с гипертиреозом. Причина, возможна, связана с влиянием тиреоидных гормонов на рибофлавин, функцию фолатов или синтез креатинина.

Значительное повышение гомоцистеина отмечено у больных, после пересадки сердца. При этом рост концентрации возникает в раннюю послеоперационную фазу и возможно связан с нарушением функции фолатов, витамина В₆ или В₁₂. Подобная ситуация предрасполагает к развитию сосудистых осложнений, и в результате к летальному исходу.

Концентрация гомоцистеина значительно снижается в острую фазу инфаркта миокарда и инсульта, по сравнению с этапом выздоровления. После инфаркта содержание гомоцистеина повышается на 40% в течение 7 дней, держится на постоянном уровне в течение 6 месяцев, после чего постепенно снижается. Низкая концентрация гомоцистеина в острую фазу инфаркта, возможно, вызвана стрессом, приводящим к гемодинамическим и гормональным изменениям.

Молекулярные аспекты патогенеза генетически обусловленной гипергомоцистеинемии

Самым тяжелым проявлением генетических нарушений является гомоцистинурия, возникающая при сочетании дефицита нескольких ферментов метаболизма гомоцистеина, таких как CBS, метионин синтетаза и MTHFR. Появление этого состояния может быть обусловлено появлением различных по своему механизму возникновения типов мутаций: сплайсинг, нонсенс и миссенс. Мутация, затрагивающая этап транссульфатирования, при котором конечным продуктом является цистеин, приводит к повышению в крови как концентрации гомоцистеина, так и метионина. В случае нарушения этапа реметилирования концентрации метионина в плазме крови остается в норме или незначительно снижается.

Мутации ферментов, участвующих в метаболизме гомоцистеина, приводящие к развитию гипергомоцистеинемии, включают, по крайней мере, 92 мутации CBS и 24 мутации MTHFR. Мутации других ферментов, в частности метионин синтетазы так же имеют место. Однако взаимосвязи между уровнем гомоцистеина в плазме крови и генотипом не найдено. Редко вовлечены в патогенез гипергомоцистеинемии и мутации ферментов синтеза коэнзима кобаламина (Cbl C, D, E, F или G), которые нарушают образование кофактора метил В₁₂.

1. Мутация цистатионин-β-синтазы (CBS)

Существует ряд мутаций, приводящих к повышению концентрации гомоцистеина в плазме крови. В последние годы гомозиготная форма дефицита CBS была подробно описана как на биохимическом, так и на генетическом уровне, выработаны подходы к лечению и профилактике гипергомоцистеинемии при данном состоянии, многие, из которых уже успешно применяются на практике.

Ген CBS находится в 21q22.3 хромосоме. К возникновению дефектного гена со сниженным аффинитетом к субстратам (серин, гомоцистеин, витамин В₆, пиридоксаль 5 фосфат) могут приводить ряд мутаций. Гомоцистинурия является следствием появления гомозиготной формы мутации. Частота гомоцистеинурии, вызванной мутацией CBS составляет 1:335000 во всем мире, при этом в Ирландии она равна 1:65000, а в Японии 1:900000.

Клиническая картина гомозиготного дефицита CBS характеризуется эктопией хрусталика, умственной отсталостью, скелетными нарушениями и высокой частотой сердечно-сосудистых заболеваний, в ряде случаев приводящих к смерти еще в младенчестве.

Клиническая картина весьма разнообразна, но неотъемлемой ее частью всегда является эктопия хрусталика. Сосудистые осложнения проявляются рано и составляют 24—45%.

Нарушения метаболизма гомоцистеина приводят к накоплению в плазме крови и секрети с мочой гомоцистеина — аминокислоты, отсутствующей в моче в норме.

Диагноз гомоцистинурии, связанной с дефицитом CBS можно поставить при наличии следующих критериев:

1. присутствие гомоцистеина в моче;
2. снижение активности CBS в культуре клеток фибробластов кожи и/или при гиперметионинемии и гипергомоцистеинемии с очень низкой концентрацией цистеина в крови.

К сожалению диагностика гомоцистинурии обычно следует за тяжелыми клиническими проявлениями заболевания.

Гетерозиготный дефект гена проявляется себя развитием гипергомоцистеинемии средней степени. Его частота составляет 0,3—1% в общей популяции. При гетерозиготной форме мутации активность фермента может составлять 50% и более, практически, как и у многих здоровых лиц. Поэтому диагностика гетерозиготной формы не должна быть основана лишь на измерении активности фермента.

К нарушению функции фермента приводят около 92 аутосомно-рецессивных мутаций гена CBS. Наиболее частыми из них являются G307S(CBS_{G919A}) в 31% случаев, I278T(CBS_{T833C}) и C341T. Первые две мутации встречаются в 50% у лиц с гомоцистинурией. Частота мутаций в большой степени зависит от этнической принадлежности: у 70% ирландцев имеет место мутация G919A, а 50% аллелей в датской когорте с гомозиготным дефицитом CBS положительны на T833C. Tsai установил, что частота гомозиготных точечных мутаций CBS составляет от 1:20000 до 1:200000, гетерозиготных — от 1:70 до 1:225, и что 30—40% пациентов с преждевременными сосудистыми заболеваниями гетерозиготны по точечным мутациям CBS.

Еще одна точечная мутация описана Клуитмансом и соавт. у больных с частичной B₆ зависимой гомоцистинурией. Эта мутация — G1330A-нарушает АдоМет-зависимую регуляцию CBS. Данная мутация вызывает изменения в регуляторном домене CBS.

Sebastio et al. обнаружили 687 вставочную мутацию, отмеченную только в комбинации с T833C миссенс мутацией.

В различных работах представлена разная частота вставочных мутаций. Tsai et al. выявили частоту гетерозиготной формы в 12% в здоровой популяции. Comeglio et al. отмечают различия частоты в этнических группах: 0% среди китайцев и 33% среди западных африканцев. Giusti обнаружил наличие двойных мутаций у 25,8% северных итальянцев. Известно, что двойная мутация «устраняет» влияние миссенс мутации T833C и приводит к сохранению активности CBS, а значит, не связана с развитием гипергомоцистеинемии.

2. Мутация гена метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR)

Мутация гена MTHFR была впервые выявлена у больных с выраженным повышением в крови гомоцистеина. С момента описания гена открыто на данный момент уже более 20 мутаций. Наиболее частыми из них являются вставочная мутация C559T, которая преобразовывает аргининовый кодон в терминальный, и вставочная мутация G482A, преобразовывающая аргинин в глутамин. Kang описал наиболее частую изоформу фермента, который не обладал остаточной активностью при нагревании до 46°. Этот термолabile вариант с 50% потерей активности фермента сегодня считается одной из основных причин развития ишемической болезни. Молекулярной основой термолabileности является аутосомно-рецессивная мутация MTHFR C677T с заменой аланина на валин, приводящая к развитию гипергомоцистеинемии средней степени у взрослых лиц.

MTHFR катализирует превращение 5,10-метилентетрагидрофолата в 5-метилтетрагидрофолат при участии фолиевой кислоты как кофактора. При этом состоянии нарушение реметилирования гомоцистеина в метионин приводит к повышению в крови гомоцистеина без повышения цистатинина и с низкой концентрацией метионина в крови.

Частота гомозиготной формы мутации варьирует от 0—1,4% у африканцев и американцев до 15% у европейцев, жителей среднего востока и японцев.

При гомозиготном дефиците MTHFR, кодируемой геном, локализованным в 1р.36.3 хромосоме, отмечается преждевременное поражение сосудистой стенки, развитие тромбозов и различные поражения нервной системы. Гомозиготная форма дефицита MTHFR ассоциируется с трехкратным увеличением риска преждевременного развития сердечно-сосудистых заболеваний.

У больных с гомозиготной формой мутации MTHFR концентрация гомоцистеина в плазме значительно повышалась лишь в случае сочетанного дефицита фолатов. При нормализации концентрации фолатов в плазме, концентрация гомоцистеина соответствовала таковой при гетерозиготной форме и таковой у здоровых лиц. Вышеуказанная ситуация является примером состояния, при котором генетическая предрасположенность может корректироваться извне. ФАД, как кофактор MTHFR, так же способствует поддержанию его функции.

Причиной средней и легкой степени гипергомоцистеинемии чаще является гетерозиготно наследуемый дефицит MTHFR, наблюдающийся у 30—40% популяции.

Еще одной наиболее часто встречающейся мутацией в гене MTHFR является замена глутамина на аланин (1298 A→C). В этом случае не отмечалось, однако, появления термолabile варианта фермента.

3. Другие мутации

Метионин синтаза

Ген, кодирующий метионин синтазу, находится в хромосоме 1q42.3. Метионин синтаза катализирует процесс реметилирования гомоцистеина в метионин, в котором участвуют метилтетрагидрофолат и метил кобаламин. При наличии дефицита витамина B₁₂ наиболее часто встречаемая мутация метионин синтазы D191G (MSA276G) может привести к повышению концентрации гомоцистеина в плазме крови. Описаны редкие мутации в синтезе коэнзим кобаламина, проявляющиеся нарушением продукции метил В-12. Так как метил В12 является косубстратом в метионин синфазных реакциях, эти мутации проявляются как функциональные дефициты метионин синтазы.

Гипергомоцистеинемия как причина нарушений гемостаза, артериального и венозного тромбозов

Значительное количество клинических исследований выявили взаимосвязь между гипергомоцистеинемией и различными по своей выраженности сосудистыми тромбозами, как артериальными, так и венозными. Гипергомоцистеинемия в свою очередь классифицируется по степени тяжести на легкую, среднюю и тяжелую в зависимости от концентрации аминокислоты 15—25 мкмоль/л, 26—50 мкмоль/л и >50 мкмоль/л, соответственно. Результаты исследований свидетельствуют о том, что гипергомоцистеинемия является независимым фактором риска развития артериальных тромбозов, включая тромбозы коронарных и церебральных сосудов, а также венозных тромбозов и тромбоемболии легочной артерии. Риск развития тромботических осложнений увеличивается при наличии сопутствующих факторов, таких как курение, артериальная гипертензия и тд.

Патогенез развития тромбоза и атеросклероза у лиц с гипергомоцистеинемией еще до конца не изучен. Большинство данных по этому вопросу основано на *in vitro* моделях с использованием высоких концентраций аминокислоты (от 1 до 10 мМ, что в 10—100 раз выше концентрации гомоцистеина в плазме при тяжелой гипергомоцистеинемии). Наиболее вероятными и экспериментально обоснованными на сегодняшний момент являются следующие механизмы:

- влияние гомоцистеина на коагуляционный каскад;
- влияние гомоцистеина на сосудисто-тромбоцитарное звено;
- нарушение нормального баланса окислительно-восстановительных реакций.

Повышенный уровень гомоцистеина вызывает повреждение сосудистой стенки, нарушая тем самым нормальный прокоагулянтно-антикоагулянтный баланс. Гомоцистеин способен также непосредственно повреждать клетки *in vitro* и запускать комплексы биохимических реакций внутри клетки. Биологические эффекты гомоцистеина неспецифичны и характерны для других серо-содержащих веществ. *Ex vivo* и *in vitro* исследования на людях ограничиваются лицами, страдающими тяжелой гипергомоцистеинемией и гомоцистинурией.

Влияние гомоцистеина на коагуляционный каскад

По последним данным, большинство показателей гемостаза, свидетельствующих о состоянии гиперкоагуляции, таких как АРС, комплексы тромбин-анти-тромбин повышены у больных с CBS-мутацией. У них отмечено также снижение концентрации в плазме крови фактора VII и других витамин К зависимых белков, что ранее связывали в основном с погрешностями в диете. Однако, прием 10 мг в день витамина K per os в течение 2 недель не приводил к повышению концентрации витамин К зависимых белков в плазме.

Низкая концентрация фактора VII в плазме у больных с тяжелой гипергомоцистеинемией скорее свидетельствует об активации коагуляционного каскада и увеличении частоты гиперкоагуляционных состояний при гомоцистинурии. Вероятно, снижение уровня FVII является следствием повышения активности тканевого фактора, так как некоторая активация внешнего пути свертывания может приводить к снижению уровня фактора VII. В связи с этим некоторые пациенты с гипергомоцистеинемией могут ошибочно классифицироваться как дефицитарные по фактору VII.

В 1968 году Ratnoff впервые описал, что окисленный димер гомоцистеина, гомоцистин, способен активировать XII фактор, и, соответственно, введение в сосудистую стенку серо-содержащих субстанций приводит к возникновению протромботических состояний. На данный момент стали известны и другие потенциальные механизмы возникновения дисфункции эндотелия и поражения его при гипергомоцистеинемии.

В плазме крови при повышении концентрации гомоцистеина повышается концентрация тканевого фактора (табл.31). Повышение концентрации этого ключевого белка внешнего пути коагуляции связано со способностью гомоцистеина в четыре раза увеличивать количество TF мРНК. Этот процесс возможно замедлить путем введения N-этилмалеионида, что свидетельствует о заинтересованности сульфидной группы в возникновении данного феномена. Сравнимый эффект достигается при использовании других веществ, содержащих свободные тиоловые группы (глутатион и β -меркаптоэтанол). При инкубации эндотелиальных клеток аорты свиньи в течение 24 часов с 1 мМ гомоцистеина максимальная АТ связывающая способность с гепаран-сульфатом, основным активатором этого естественного антикоагулянта, снижается на 30% от нормы. Этот эффект также опосредован наличием сульфгидрильных групп.

Таблица 31.

Гомоцистеин и коагуляционный каскад.

Показатель	Эффект	Источник
Ex vivo/in vivo данные		
Активность АТ III	↓	Giannini et al., Palareti et al.
Фактор VII	↓	Charlot et al., Palareti et al.
Время жизни плазминогена и фибриногена в плазме	↓	Harker et al.
In vitro данные		
Экспрессия тканевого фактора	↑	Fryer et al.
Активация фактора V и протромбина	↑	Rodgers и Kane
Активация протеина C	↓	Rodgers и Conn, Hayashi et al., Lents и Sadler

Показатель	Эффект	Источник
Связывание АТIII с гепаран сульфатом	↓	Nishiniga et al.
Активация фактора XII	↑	Ratnoff et al.

Под действием гомоцистеина повышается активация фактора V и протромбина. Активация этих белков связана с воздействием гомоцистеина на протеин С.

Гомоцистеин значительно снижает активацию протеина С, путем конкурентного ингибирования тромбомодулин-тромбинового взаимодействия, необходимого для активации тромбином протеина С.

Кроме того, гомоцистеин способен снижать активность тромбомодулина, благодаря разрыву дисульфидных связей в его молекуле. Подобный разрыв отмечается и в гомологичном участке молекулы протеина С. Уменьшая связывающую способность редуцированного тромбомодулина, гомоцистеин препятствует его взаимодействию с тромбином. Компенсаторное увеличение количества мРНК свидетельствует о нарушении синтеза и процессинга тромбомодулина. Нарушение гликозилирования дефектной молекулы ведет к уменьшению ее экспрессии на поверхности клеток эндотелия и снижению функционирования эндотелия как антикоагулянтной поверхности.

Гомоцистеин способен вмешиваться в процессы регуляции фибринолиза. Он снижает количество клеточных участков связывания с тканевым активатором плазминогена (t-РА). Уменьшение активности t-РА происходит в результате конкурирующего взаимодействия гомоцистеина и t-РА с одними и теми же рецепторами посредством кофактора аннексина II, что ведет к нарушению превращения плазминогена в плазмин и снижению фибринолитической активности крови.

Другим эффектом гомоцистеина является его влияние на липопротеин а (Лпа). Лпа участвует в фибринолизе, благодаря своему сходству с kringle IV доменом плазминогена. Harpel et al. (1992) пришли к выводу, что гомоцистеин способен усиливать связывание Лпа с фибрином, увеличивая аффинитет Лпа путем удаления дисульфидных связей из молекулы аполипопротеина (а). Этот эффект гомоцистеина проявляется даже при незначительных его концентрациях (8 мкМ).

Влияние гомоцистеина на тромбоциты

Влияние гомоцистеина на тромбоциты изучалось в основном у пациентов с гомоцистинурией. Полученные данные были весьма разноречивы.

В 1974 году Harker и Scott описали 50% снижение времени жизни тромбоцитов у четырех больных с гомоцистинурией и у животных с искусственно вызванной гомоцистеинемией. Считалось, что этот показатель является результатом повышенного потребления тромбоцитов в ответ на повреждение эндотелия. В эксперименте было показано, что инфузия гомоцистеина действительно вызывает десквамацию эндотелия и вторичную активацию тромбоцитов. Последующие исследования не подтвердили этих данных.

Особых изменений в отношении агрегации тромбоцитов выявлено не было. Однако синтез ТХА₂ повышался на 30—40% после воздействия на тромбоциты гомоцистеина или гомоцистина. Маркерами биосинтеза ТХ in vivo является экскреция с мочой его метаболитов, таких как 11-дегидро ТХВ₂ и 2,3-динор-ТХВ₂. У пациентов с CBS мутацией отмечается повышение экскреции этих метаболитов с мочой.

Гиперкоагуляция характеризуется значительным повышением концентрации тромбина. Помимо его участия в превращении фибриногена в фибрин, тромбин так же является сильным индуктором активации тромбоцитов и формирования ТХ. Считается, что гирудин способен предотвращать эффект тром-

бина в отношении тромбоцитов. Введение гирудина больным с CBS-мутацией приводит к длительному угнетению свертывающей способности плазмы, снижению концентрации в плазме ТАТ, однако показатель экскреции ТХА2 значительно не меняется. Эти данные опровергают предположение о том, что усиленный биосинтез ТХА2 у пациентов с мутацией CBS может отражать активацию тромбоцитов при состояниях гиперкоагуляции.

Гомоцистеин в плазме крови достаточно быстро окисляется с образованием гомоцистина, смешанных дисульфидов и гомоцистин тиолактона. В процессе окисления идет формирование *активных форм кислорода*, к которым относятся *супероксид радикал, гидроксильный радикал и перекись водорода*. Формирование гидроксильного радикала запускает перекисное окисление *липидов*, как в мембране эндотелиальных клеток, так и в циркулирующих липопротеинах. Окисленные формы ЛНП способствуют активации тромбоцитов и проявлению атерогенного эффекта гомоцистеина. *In vitro*, пробукол препятствует окислению ЛНП. Исследования, с использованием коротких курсов терапии пробуколом при повышенном синтезе ТХА2 у пациентов с гомоцистинурией привели к следующим выводам: экскреция 11-дегидро-ТХВ2 и 2,3 — динор ТХВ2, продукта *b*-оксидазного пути, с мочой значительно снижается. Следовательно, механизмы продукции ТХА2 у больных с CBS-мутацией чувствительны к антиоксидантной терапии. Окислительные реакции, запускаемые окислением гомоцистеина и формированием активного кислорода, оказывают влияние на клетки, участвующие в гемостазе, вызывая *in vivo* активацию тромбоцитов. Эти процессы являются ключом к разгадке атерогенных и тромбогенных механизмов действия гомоцистеина.

Гомоцистеин и окислительно-восстановительные реакции

Ряд изменений, происходящих в системе гемостаза, имеют в своей основе окислительно-восстановительные реакции, запускаемые гомоцистеином.

В *in vitro* исследованиях при инкубации гомоцистеина, метионина с эндотелиальными клетками от здоровых пациентов и гетерозиготных CBS-пациентов происходило нарушение адгезии тромбоцитов. Stamler et al. указывают на возможность «обезвреживания» гомоцистеина клетками эндотелия путем выделения *NO*, который в присутствии кислорода реагирует с гомоцистеином с образованием *S-нитрозогомоцистеина (SNOHO)*. Последний, обладает сильным вазодилатирующим действием и не токсичен для эндотелия. Более того, нитрозилирование тиоловых групп гомоцистеина препятствует опосредованному сульфгидрильными группами образованию H_2O_2 .

Таким образом, в норме поддержание нормальной концентрации гомоцистеина в плазме и блокирование его токсического эффекта обеспечивается формированием SNOHO и нарушением образования активных форм кислорода.

Клетки эндотелия используют для защиты от влияния повышенной концентрации гомоцистеина глутатион пероксидазу и каталазу. Глутатион поддерживает сульфгидрильные группы клеточных белков и других компонентов в восстановленной форме. Глутатион пероксидаза катализирует превращение липидов и водородных радикалов в соответствующие спирты, а также предотвращает окислительную инактивацию *NO*.

В случае гипергомоцистеинемии, гомоцистеин связывает весь доступный арсенал *NO*, и в циркуляции появляется немодифицированный гомоцистеин. Неупотребленный гомоцистеин подвергается аутоокислению с образованием H_2O_2 , супероксидных и гидроксильных радикалов. При этом H_2O_2 также способствует лизису эндотелиальных клеток. А так как гомоцистеин также блокирует синтез глутатион-пероксидазы, катализирующей переход оксидов в соответствующие спирты, то они откладываются на эндотелии с последующим его повреждением. Это приводит к повреждению эндотелия (реакции окисления), с последующим снижением синтеза *NO*, снижению формирования SNOHO, а, следовательно, и

защитных функций эндотелия. «Кислородный стресс» в эндотелии выражается потерей АТФ, разрушением ДНК, активацией поли-АДФ рибоза полимеразы, утратой НАД⁺, окислением глутатиона и перекисным окислением липидов. Гомоцистеин так же способен непосредственно нарушать синтез NO путем снижения экскреции эндотелиальной NO-синтазы или в результате непосредственного разрушения NO в процессе перекисного окисления липидов.

В исследованиях *ex vivo* прослежено нарушение функций и повреждение эндотелия под действием гомоцистеина. После того, как Harker и Scott продемонстрировали частичную утрату эндотелия на артериях после инфузий гомоцистеина, эндотелиальная дисфункция была подробно исследована на животных (усиление вазоконстрикции в ответ на коллаген при индуцированной гипергомоцистеинемии) и на человеке (уменьшение вазодилатации у детей с гомозиготной формой гомоцистинурии). Chambers et al. обнаружили уменьшение степени дилатации плечевой артерии при индуцированной гипергомоцистеинемии L-метионином у здоровых лиц. При этом имела место обратная зависимость между концентрацией гомоцистеина и выраженностью дилатации. Эффект гомоцистеина был менее выражен в случае, если проводилась предварительная терапия витамином С. Авторы считают, что повышение концентрации гомоцистеина приводит к нарушению функций эндотелия, что может быть предупреждено предварительным приемом витамина С. Эти данные подтверждают гипотезу об окислительном механизме возникновения реакций.

Избыток гомоцистеина может переводиться в циклический эфир гомоцистеин-тиолактон, а также связываться с липопротеинами низкой плотности, образуя соединение ЛНП-HSL, которые фагоцитируются макрофагами, участвующими в образовании атеромы. Более того избыток гомоцистеин-тиолактона может приводить к процессу «гомоцистеинирования» аминокрупп белков внутри и вне клеток мишеней.

Помимо эндотелия (см. табл. 32), гомоцистеин оказывает влияние и на другие участки сосудистой стенки, принимающие участие в атерогенезе. Tsai et al. констатируют митогенный эффект гомоцистеина на гладкомышечные клетки сосудов. Welch et al. связывают этот эффект гомоцистеина с активацией транскрипции фактора NF-κB свободными радикалами. Он, в свою очередь, является важным фактором, способствующим пролиферации этих клеток.

Таблица 32.

Влияния гомоцистеина на функцию эндотелиальных клеток.

Медиаторы эндотелиального происхождения	Влияние гомоцистеина
NO	Выраженное снижение продукции и биологической активности как <i>in vivo</i> , так и <i>in vitro</i>
Простаглицлин	Разноречивые данные свидетельствуют как о стимуляции, так и об угнетении продукции <i>in vitro</i>
Тромбомодулин	Снижение экспрессии и активации как <i>in vitro</i> , так и <i>in vivo</i>
Гепаран сульфат	Гомоцистеин модулирует поверхностную экспрессию гепаран сульфата и, таким образом, снижает активность антитромбина III <i>in vitro</i>
Тканевой активатор плазминогена (t-PA)	Гомоцистеин селективно снижает количество участков связывания и активность <i>in vitro</i>
АТФ-аза	Снижение активности

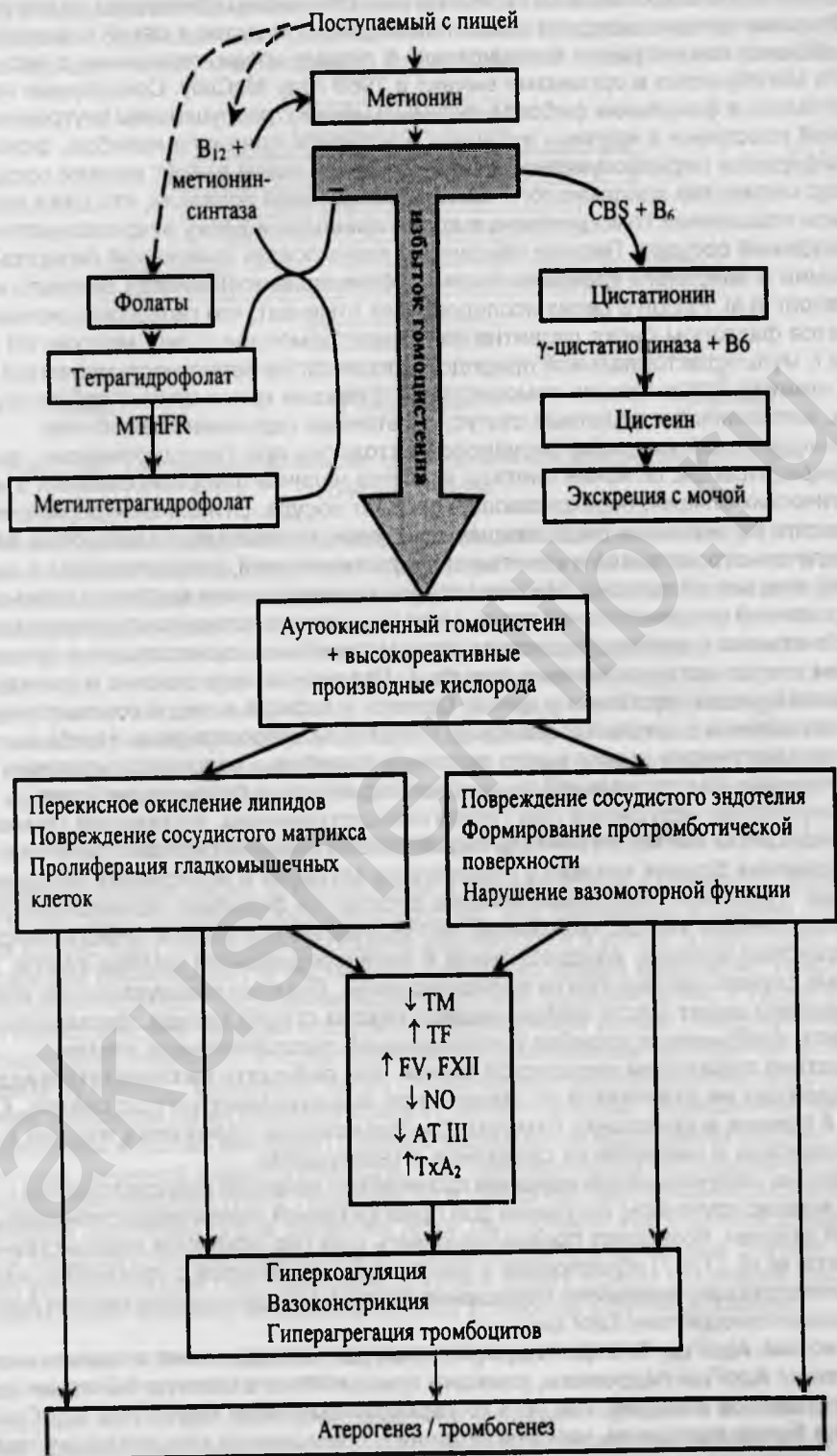


Рис. 32. Атерогенные и тромбогенные механизмы действия гомоцистеина.

Возможные атерогенные и тромбогенные механизмы приведены на рисунке 32.

Впервые атеросклеротические повреждения сосудов у детей с выраженным повышением концентрации гомоцистеина в плазме крови, связанным с нарушением его метаболизма в организме выявил в 1969 году McCully. Секционные находки заключались в фокальном фиброзе интимы и медиа с разрушением внутренней эластичной пластинки в крупных артериях и артериях среднего калибра, фокальной пролиферации периваскулярной соединительной ткани вокруг мелких сосудов. С тех пор множество эпидемиологических исследований показали, что даже незначительное повышение гомоцистеина в крови приводит к риску атеросклеротических повреждений сосудов. Первые сведения о взаимосвязи умеренной гипергомоцистеинемии и венозного тромбоза были опубликованы в 1993 году Bienvenu et al. и Brattstrom et al. Falcon в своих исследованиях отмечает, что гипергомоцистеинемия является фактором риска развития венозных тромбозов у лиц, моложе 40 лет. В связи с мультифакториальной природой процесса, на вероятность развития тромбоза помимо концентрации гомоцистеина в плазме крови влияет так же функция почек, витаминный и фолатный статус, сочетанные нарушения гемостаза.

Классической картиной сосудистой патологии при гомоцистинурии, вызванной *дефицитом цистатионин синтазы* является наличие фиброзированных атеросклеротических бляшек, перекрывающих просвет сосуда. Эти бляшки формируются в результате гиперплазии гладкомышечных клеток, отложения коллагеновых волокон и внеклеточного матрикса в сочетании с фрагментацией, расщеплением и дегенерацией эластичной интерны. Многие артерии концентрически выстланы слоями фиброзированной соединительной ткани. Нередко наличие атеросклеротических бляшек сочетается с внутрисосудистым острым тромбозом приводящим в полной окклюзии сосуда организованным тромбом. Отложение холестерина и липидов наблюдается редко, особенно у детей. Однако, у взрослых лиц с гомоцистинурией типично наличие аортальных аневризм с картиной атеросклероза. Наиболее часто при гомоцистинурии имеют место венозные тромбозы, например, мозговых синусов, почечных вен, портальной вены, тромбозы вен и легочная эмболия.

Сосудистые нарушения при гипергомоцистеинемии, вызванной гомозиготным *дефицитом метионин синтазы* выражаются в наличии распространенных фиброзированных бляшек интимы в пораженных артериях и артериолах большинства органов. Типичные фиброзные бляшки состоят из фокально пролиферирующих гладкомышечных клеток, отложений метакроматичного внеклеточного матрикса, коллагеновых волокон, раздробленной и дегенерированной *elastica interna*. В некоторых случаях *elastica interna* кальцинирована. Помимо вышеуказанных изменений нередко имеет место фибриноидный некроз стенки сосуда, формирование в просвете фибриновых тромбов и вакуолизация эндотелиальных клеток.

Картина поражения сосудистой стенки при дефиците метилентетрагидрофолатредуктазы не отличается от таковой при вышеупомянутых состояниях. Кроме того, в печени и селезенке отмечается повышенное отложение железа в виде гемосидерина в макрофагах селезенки и гепатоцитах.

Данные, полученные при изучении хронической почечной недостаточности — наиболее хорошо изученном состоянии при приобретенной гипергомоцистеинемии умеренной степени, позволяют проанализировать еще ряд эффектов гомоцистеина.

Perna et al. (1997) обнаружили в эритроцитах пациентов с уремией и умеренной гипергомоцистеинемией нарушение отношения *аденозилметионин*(АдоМет)/*аденозилгомоцистин*(АдоГци).

В норме АдоГци быстро гидролизует до гомоцистеина и аденозина под действием АдоГци-гидролазы, реакция приоритетна в связи с быстрым удалением продуктов реакции. Как только термодинамически биосинтез АдоГци становится более выгодным, чем его гидролиз, повышенная концентрация гомоцистеина приводит к накоплению АдоГци внутри клетки, вызывая нарушение отношения АдоМет/АдоГци и нарушение АдоМет-зависимых реакций с участием

метилтрансферазы. Метилирование белков является ключевым моментом в процессе восстановления стареющих или поврежденных белков. Эти данные свидетельствуют о том, что АдоГци — возможный медиатор *in vivo* эффектов гомоцистеина (рис. 33).

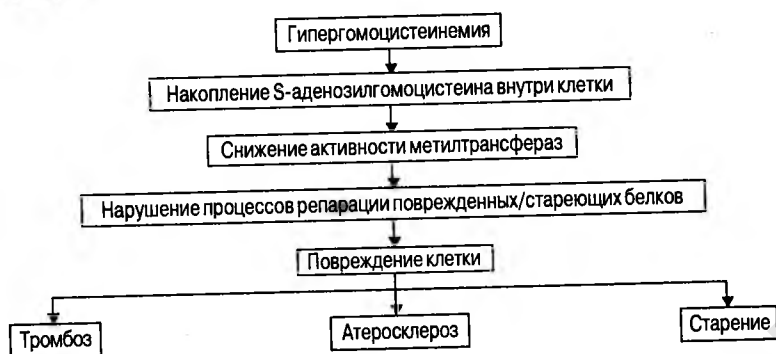


Рис. 33. Гипометилирование как возможный механизм действия гомоцистеина.

Таким образом, даже незначительная гипергомоцистеинемия, возникшая в результате генетического дефекта синтеза ферментов или приобретенного дефицита витаминов, является независимым фактором риска развития как артериальных, так и венозных тромбозов.

Риск тромбозомболических осложнений у больных с гипергомоцистеинемией увеличивается при наличии других факторов риска, таких как наследственные и приобретенные дефекты гемостаза. Наиболее часто встречающимися нарушениями являются резистентность к активированному протеину С/ фактор V Лейден, дефицит протеина С или протеина S. По данным различных авторов при наличии и гипергомоцистеинемии и мутации фактора V/Лейден, риск тромбоза увеличивается в 10—20 раз.

Гипергомоцистеинемия и заболевания почек

Высокая концентрация гомоцистеина в плазме крови отмечается довольно часто у больных с почечной недостаточностью. Это нарушение в обмене гомоцистеина сопутствует нарушениям обмена аминокислот в целом и некоторых серосодержащих аминокислот в частности. Предполагаемый механизм гипергомоцистеинемии включает нарушение выделительной функции почек, а также подавление биологических реакций при уремии. Повышение уровня гомоцистеина также может быть связано с абсолютным или относительным дефицитом фолатов, витамина B_6 или B_{12} . Возможно также снижение внутриклеточной активности витаминов, несмотря на их высокую концентрацию в плазме. Повышенный уровень гомоцистеина в крови приводит также к развитию атеротромботических нарушений при почечной недостаточности. Ряд проспективных исследований с вовлечением контрольных групп показали, что гипергомоцистеинемия является независимым фактором риска развития таких осложнений как конечная стадия почечной недостаточности и хронический диализ. Как и в остальных случаях к снижению концентрации гомоцистеина в крови ведет прием фолиевой кислоты. Положительное влияние витаминов группы В пока не совсем доказано.

Формы гомоцистеина, циркулирующие в плазме крови при почечной недостаточности

В норме около 80—90% гомоцистеина в плазме связано с белком. Несвязанный гомоцистеин находится в виде гомоцистеин-цистеин связанных дисульфидов, гомоцистеин-гомоцистеин димеров (гомоцистин) или свободного гомоцистеина. При почечной недостаточности концентрация как связанного, так

и свободного гомоцистеина в плазме растет. Исследование различных фракций гомоцистеина, цистеина и цистеинглицина, проведенное у 17 больных с хроническим гемодиализом, 9 больных со сниженной функцией почек и 4 больных с нефротическим синдромом, показало, что общий гомоцистеин, цистеин и цистеинглицин были повышены у больных со сниженной функцией почек и больных с хроническим гемодиализом в отличие от 14 здоровых пациентов. Три (не связанных с белком) формы гомоцистеина плазмы и цистеина были значительно повышены во всех группах, однако не отмечалось повышения восстановленных форм и цистеина. Более того, концентрация восстановленного гомоцистеина была значительно снижена в плазме пациентов с нарушением функции почек, что говорит о том, что концентрация восстановленных форм гомоцистеина не отражает повышения дисульфидных форм.

Хроническая почечная недостаточность и гемодиализ

Хотя о присутствии гомоцистеин-цистеин связанных дисульфидов при почечной недостаточности предполагал еще Robins, четко повышение как концентрации гомоцистеина, так и цистеина при этом состоянии доказали Wilcken et al. и Cohen et al. С того момента нарушения в обмене гомоцистеина стали изучаться во многих исследованиях у больных с почечной недостаточностью. Wilcken et al. показали, что цистеин-гомоцистеин связанные дисульфиды были повышены в 3 раза у больных с почечной недостаточностью, что находилось в прямой зависимости от концентрации креатинина в сыворотке крови. Концентрации других серосодержащих аминокислот, включая гомоцистеин, цистеин и таурин также были повышены.

Трансплантация почки

Концентрация гомоцистеина в крови повышается также и после пересадки почки. Это наблюдение было впервые сделано Wilcken et al. в 1981 году, когда в контролируемом исследовании было показано повышение средних значений гомоцистеин-цистеин связанных дисульфидов у 27 больных. Massy et al. продемонстрировали высокие цифры гомоцистеина у больных с пересаженной почкой через 11 лет после операции. При этом концентрация гомоцистеина была выше у больных, помимо всего принимающих циклоспорин. Результатом исследований стал вывод о том, что гипергомоцистеинемия у больных, не принимающих циклоспорин с пересаженной почкой, является следствием почечной недостаточности.

Изучая влияние пересадки почки на течение гипергомоцистеинемии у 8 больных на гемодиализе van Gulddener et al. показали, что ее степень значительно снижается после пересадки, при этом происходит улучшение функции почки.

Более того, повышение гомоцистеина в плазме крови отмечается и после пересадки сердца, печени и легких.

Причины гипергомоцистеинемии и факторы, влияющие на концентрацию гомоцистеина в плазме крови при почечной недостаточности

Генетические факторы

Исследования показали, что частота мутаций основных ферментов метаболизма гомоцистеина у больных с почечной недостаточностью не превосходит таковую у лиц в общей популяции.

Дефицит витаминов

Нарушения обмена фолатов и витаминов являются одной из ведущих причин повышения концентрации гомоцистеина у больных с конечной стадией заболевания почек. У больных на гемодиализе низкая концентрация фолатов в крови связана с большими потерями при диализе. Сниженная абсорбция фолатов у больных с гемодиализом так же может быть связана с наличием ингибиторов при уремии, которые нарушают превращение полиглутаматных форм фолатов в более доступные моноглутаматы.

Метаболические нарушения

У человека ферменты реметилирования и транссульфатирования находятся как в печени, так и в почках. Существует гипотеза о том, что высокая концентрация гомоцистеина отмечается при снижении экскреторной функции почек. Однако в норме лишь незначительное количество гомоцистеина экскретируется с мочой. Вероятно, что причиной гипергомоцистеинемии может служить и снижение интенсивности метаболических процессов в почке при почечной недостаточности.

Еще одним фактором, способствующим повышению концентрации гомоцистеина в плазме крови у больных на гемодиализе является дефицит витамина В₆. Это может быть связано с нарушением абсорбции, повышенным клиренсом или уремическим подавлением пируват киназы, которая необходима для синтеза пиридоксаль-5'-фосфата.

Влияние гемодиализа на концентрацию гомоцистеина

Wilcken et al. отмечали влияние гемодиализа на концентрацию гомоцистеина у больных с почечной недостаточностью. После 3—4 часов диализа концентрация цистеин-гомоцистеин-связанных дисульфидов снижалась примерно на 40%. Проводимые позже исследования подтвердили полученные результаты. Тип диализной мембраны также влиял на уровень гомоцистеина в плазме крови. Smolin et al. продемонстрировали снижение лишь на 11% концентрации гомоцистеина при использовании мембран с низким уровнем потока, в отличие от высокопоточной мембранной техники, которая приводила к более значительному удалению гомоцистеина из плазмы. Различием диализных мембран также можно объяснить низкую концентрацию гомоцистеина у больных с хроническим перитонеальным диализом, по сравнению с гемодиализом.

Гипергомоцистеинемия и атеросклероз при заболеваниях почек

Хроническая почечная недостаточность

Как Cohen, так и Wilcken предполагали, что накопление гомоцистеина может приводить к повреждению сосудистой стенки у больных с хронической почечной недостаточностью. В исследовании Chauveau et al. из 79 больных с хронической почечной недостаточностью у 20 в анамнезе имели место окклюзии артериальных сосудов.

Гемодиализ

Из 50 пациентов на хроническом гемодиализе Bachmann выделил 24 больных с окклюзионными заболеваниями сосудов. Это выявило взаимосвязь между концентрацией гомоцистеина и сосудистыми осложнениями. Как показали многочисленные популяционные исследования, у больных, подвергающихся хроническому гемодиализу повышен риск атеросклеротических и тромботических осложнений, при этом на степень этого риска не влияют традиционные факторы риска и продолжительность диализа. Гипергомоцистеинемия у диализных больных является независимым фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и летальности с ними связанной.

Механизмы сосудистых повреждений

Механизмы, посредством которых гомоцистеин приводит к возникновению поражений сосудистой стенки у больных с почечной недостаточностью, остаются до конца не ясны, они частично приведены в предыдущих главах. Потенциальные механизмы включают влияние гомоцистеина на сосудистую стенку, тромбоциты и/или факторы свертывания.

Терапия гипергомоцистеинемии у больных с почечной недостаточностью

Как и у лиц без почечной недостаточности, методом выбора в данной ситуации является терапия фолатами. Больные с почечной недостаточностью обычно

отвечают на дозы фолиевой кислоты, превышающие таковые у лиц с другими заболеваниями. Однако и при длительной терапии фолатами в дозе 5 мг, 15 мг и 40 мг в сутки концентрация гомоцистеина может оставаться высокой у больных с конечной стадией заболевания.

Факторами, влияющими на эффективность проводимой терапии, являются степень нарушения функции почек, сопутствующие дефициты витаминов или наличие термолabile варианта мутации метилентетрагидрофолатредуктазы. Более того, есть важное отличие в ответе на прием фолиевой кислоты, который может зависеть от вида проводимого сопутствующего диализа.

Ни пиридоксин, необходимый для нормального протекания процессов транссульфатирования, ни витамин В₁₂ сами по себе не являются эффективными в отношении снижения концентрации гомоцистеина в плазме этих больных. Необходимы так же дальнейшие исследования влияния терапии витамином В₆ для снижения уровня гомоцистеина, а также серина, бетаина и N-ацетилсерина.

Список литературы

1. Баркаган З. С., Костюченко Г. И., Котовщикова Е. Ф. Гипергомоцистеинемия как самостоятельный фактор риска поражения и тромбирования кровеносных сосудов. // Патология кровообращения и кардиохирургия, 2002, — № 1.
2. Кашежева А.З, Ефимов В.С. Гемокоагуляционный аспект развития гипергомоцистеинемии // Тромбоз, гемостаз и реология, 2000, — № 4(4).
3. Кашежева А.З., В.С.Ефимов. Тромбоваскулярные осложнения — следствие гипергомоцистеинемии и возможности ее уменьшения у больных (на примере пациентов, страдающих хронической почечной недостаточностью) // Тромбоз, гемостаз и реология, 2001. № 4, С. 24—28.
4. Кашежева А.З., Ефимов В.С. Лекарственное происхождение гипергомоцистеинемии//Тромбоз, гемостаз, реология — 2001(март),— № 3 — с.14—18.
5. Озолиня Л.А., Патрушев Л.И., Шполянская Н.Ю., Макаров О.В., Стукачева Е.А., Струкова С.М., Мирошников А.И. Распространенность мутаций в генах фактора V (G1691A, LEIDEN), протромбина (G20210A) и метилентетрагидрофолатредуктазы среди беременных московской популяции (С677Т) и их связь с патогенезом // Тромбоз, гемостаз и реология, 2001, — № 1(5).
6. Савельева Г.М., Ефимов В.С., Кашежева А.З. Осложненное течение беременности и гипергомоцистеинемия.// Акушерство и гинекология, — 2000 — № 3 — с.3—5.
7. Шмелева В.М. Гипергомоцистеинемия и тромбоз // Тромбоз, гемостаз и реология, 2000, — № 4(4).
8. Alifthan G., Aro A., Gey K.F. Plasma homocysteine and cardiovascular disease mortality. // Lancet 1997; 349: 397.
9. Ambrosi P., Garcon D., Riberi A., et al. Association of mild hyperhomocysteinemia with cardiac graft vascular disease. // Atherosclerosis, 1998; 138: 347—350.
10. Ambrosi P., Garcon D., Riberi A., et al. Association of mild hyperhomocysteinemia with cardiac graft vascular disease. // Atherosclerosis, 1998; 138: 347—350.
11. Anker G.B., Refsum H., Ueland P.M., Johannessen D.C., Lien E.A., Lonning P.E. Influence of aromatase inhibitors on plasma total homocysteine levels in postmenopausal breast cancer patients. // Clin. Chem., 1999; 45: 252—256.
12. Aronow W.S., Ahn C., Schoenfeld M.R. Association between plasma homocysteine and extracranial carotid arterial disease in older persons. // Am. J. Cardiol., 1997; 79(10): 1432—1433.

13. Avila M.A., Mingorance J., Martinez-Chantar M.L., et al. Regulation of rat liver S-adenosylmethionine synthetase during septic shock: Role of nitric oxide. // *Hepatology*, 1997; 25: 391—396.
14. Bao L.M., Vleek C., Paces V., Kraus J.P. Identification and tissue distribution of human cystathionine β -synthase mRNA isoforms. // *Arch. Biochem. Biophys.*, 1998; 350: 95—103.
15. Basu T.K., Mann S. Vitamin B-6 normalizes the altered sulfur amino acid status of rats fed diets containing pharmacological levels of niacin without reducing niacin's hypolipidemic effects. // *J. Nutr.*, 1997; 127: 117—121.
16. Bates C.J., Mansoor M.A., Van der Pols J., Prentice A., Cole T.J., Finch S. Plasma total homocysteine in a representative sample of 972 British men and women aged 65 and over. // *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1997; 51: 691—697.
17. Bjorke-Monsen A.L., Vollset S.E., Ueland P.M., Refsum H. Plasma total homocysteine, vitamin status and the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism in children. // *Netherl. J. Med.*, 1998; 51: 550.
18. Boers G.H.J. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for arterial and venous disease. A review of evidence and relevance. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 520—522.
19. Bos G.M.J., Rijkers D.T.S., Willems H., den Heijer M., Geirits W.B.J., Hemker H.C. Can an elevated endogenous thrombin potential explain the elevated risk for venous thrombosis in case of hyperhomocysteinemia? [Letter] // *Thromb. Haemost.*, 1999; 81: 467—468.
20. Bostom A.G., Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. // *Kidney International*, 1997; 52(1): 10—20.
21. Bostom A.G., Shemin D., Verhoef P., et al. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. // *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology*, 1997; 17(11): 2554—2558.
22. Carl G.F., Hudson F.Z., Meguire B.S.. Phenytoin-induced depletion of folate in rats originates in liver and involves a mechanism that does not discriminate folate form. // *J. Nutr.*, 1997; 127: 2231—2238.
23. Carlsen S.M., Felling I., Grill V., Bjerve K.S., Schneede J., Refsum H. Metformin increases total serum homocysteine levels in non-diabetic male patients with coronary heart disease. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1997; 57: 521—527.
24. Cattaneo M., Baglietto L., Zighetti M.L., et al. Tamoxifen reduces plasma homocysteine levels in healthy women. // *Br. J. Cancer*, 1998; 7: 2264—2266.
25. Cattaneo M., Franchi F., Zighetti M.L., Martinelli I., Asti D., Mannucci P.M. Plasma levels of activated protein C in healthy subjects and patients with previous venous thromboembolism. Relationships with plasma homocysteine levels. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1371—1375.
26. Cattaneo M., Martinelli I., Mannucci P.M. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis [letter]. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 974—975.
27. Cattaneo M., Tsai M.Y., Bucciarelli P., et al. A common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T) increases the risk for deep-vein thrombosis in patients with mutant factor V (factor V:Q506). // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 1662—1666.
28. Chen Z.Q., Banerjee R. Purification of soluble cytochrome b_5 , as a component of the reductive activation of porcine methionine synthase. // *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 26248—26255.

29. Clark R., Woodhouse P., Ulvik A., Frost C., Sherlikcr P., Refsum H., et al. Variability and determinants of total homocysteine concentrations in plasma in an elderly population. // *Clin. Chem.*, 1998; 44(1): 102—107.
30. Cobbaert C., Arentsen J.C., Mulder P., Hoogerbruggen, Lindemans J. Significance of various parameters derived from biological variability of lipoproteina, homocysteine, cysteine, and total antioxidant status. // *Clin. Chem.*, 1997; 43: 1958—1964.
31. Cole D.E.C., Ross H.J., Evrovski J., et al. Correlation between total homocysteine and cyclosporine concentrations in cardiac transplant recipients. // *Clin. Chem.*, 1998; 44: 2307—2312.
32. Cordoba-Porras A., Sanchez-Quesada J.L., Gonzales-Sastre F., Ordonez-Llanos J., Blanco-Vaca F. Susceptibility of plasma low- and high-density lipoproteins to oxidation in patients with severe hyperhomocysteinemia. // *J. Mol. Med.*, 1996; 74: 771—776.
33. de Franchis R., Buoninconti A., Fermo I., Sebastio G., Sperandeo M.P., Mazzola G., Cerbone A.M., Soriente L., Orefice G., Di Minno G., D'Angelo A., Andria G. Increased thrombotic risk for patients with associated 844ins68 mutation of the cystamoniirte β -synthase (CBS) gene and the 677C->T mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHRF) gene. // *Am. J. Hum. Gen.*, 1998; 63: A210 (abstract).
34. de Vaik H.W., van Eeden M.K.G., Banga J.D., van der Griend R., de Groot E., Haas F.J.L.M., Meuwissen O.J.A.T., Duran M., Smeitink J.A.M., Poll-The B.T., de Klerk J.B.C., Wittebol-Post D., Rolland M.-O. Evaluation of the presence of premature atherosclerosis in adults with heterozygosity for cystathionine β -synthase deficiency. // *Stroke*, 1996; 27: 1134—1136.
35. den Heijer M., Brouwer I.A., Bos G.M.J., et al. Vitamin Supplementation reduces blood homocysteine levels. A Controlled Trial in Patients With Venous Thrombosis and Healthy Volunteers. // *Arterioscler. Thromb. Vase. Biol.*, 1998; 18: 356—361.
36. Fijnheer R., Roest M., Haas F.J.L.M., de Groot P.G., Derksen R.H.W.M. Homocysteine, methylenetertahydrofolate reductase polymorphism, antiphospholipid antibodies and thromboembolic events in Systemic Lupus Erythematosus: a retrospective cohort study. // *J. Rheum.*, 1998; 25: 1737—1742.
37. Fiorina P., Lanfredini M., Montanari A., Peca M.G., Veronelli A., McIlo A., et al. Plasma homocystcinc and folatc are related to arterial blood pressure in type 2 diabetes mellitus [In Process Citation]. // *Am. J. Hypertens.*, 1998; 11 (9): 1100—1107.
38. Folsom A.R., Nicto FJ. McGovern P.G., et al. Prospective study of coronary heart disease incidence in relation to fasting total homocysteine, related genetic polymorphisms, and B vitamins: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. // *Circulation*, 1998; 98: 204—210.
39. Fonseca V.A., Mudaliar S., Schmidt B., Fink L.M., Kern P.A., Henry R.R. Plasma homocysteine concentrations are regulated by acute hyperinsulinemia in nondiabetic but not type 2 diabetic subjects. // *Metabolism*, 1998; 47: 686—689.
40. Fowler B. Disorders of homocysteine metabolism. // *J. Inner. Metab. Dis.* 1997; 20: 270—285.
41. Garg U.C., Zheng Z.J., Polsom A.R., Moyer Y.S., Tsai M.Y., McGovern P., Eck-teldt J.H. Short-term and long-term variability of plasma homocysteine measurement. // *Clin. Chem.*, 1997; 43: 141—145.
42. Giltay E.J., Hoogeveen E.K., Elbers J.M.H., Gooren L.J.G., Asscheman H., Stehouwer C.D.A. Effects of sex steroids on plasma total homocysteine levels: a study in transsexual males and females. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998; 83: 550—553.

43. Girelli D., Friso S., Trabetti E. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C₆₆₇T mutation, plasma homocysteine, and folate in subjects from Northern Italy with or without angiographically documented severe coronary atherosclerotic disease: evidence for an important genetic-environmental interaction. // *Blood*, 1998; 191: 4158—4163.
44. Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M., et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. // *JAMA*, 1997; 277: 1775—1781.
45. Graham I.M., Daly L.E., Refsum H.M., et al. The European Concerted Action Project, Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. // *JAMA*, 1997; 277: 1775—1781.
46. Guttormsen A.B., Ueland P.M., Svarstad E., Refsum H. Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. // *Kidney Int.*, 1997; 52: 495—502.
47. Halvorsen B., Brude I., Drevon C.A., Nysom J., Ose L., Christiansen E.N., Nenseter M.S. Effect of homocysteine on copper ion-catalyzed, azo compound-initiated, and mononuclear cell-mediated oxidative modification of low density lipoprotein. // *J. Lipid. Res.*, 1996; 37: 1591—1600.
48. Hofmann M.A., Kohl B., Zumbach M.S., et al. Hyperhomocyst(e)inemia and endothelial dysfunction in IDDM. // *Diabetes Care*, 1998; 21: 841—848.
49. Homocysteine Lowering Trialists Collaboration. Lowering blood homocysteine with folic acid based supplements: meta-analysis of randomized trials. // *BMJ*, 1998; 316: 894—898.
50. House J.D., Brosnan M.E., Brosnan J.T. Characterization of homocysteine metabolism in the rat kidney. // *Biochemical Journal*, 1997; 328(Pt 1): 287—292.
51. Hultberg B., Agardh C.D., Agardh E., Lovestamandrian M. Poor metabolic control, early age at onset, and marginal folate deficiency are associated with increasing levels of plasma homocysteine in insulin-dependent diabetes mellitus. a five-year follow-up study. // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 1997; 57: 595—600.
52. Jedrebo B., Ericsson U.B., Nygard O., et al. Plasma total homocysteine in hypertensive and hypothyroid patients. // *Metabolism*, 1998; 47: 89—93.
53. Joosten E., Lesaffre E., Riezler R., Ghekiere V., Dereymaeker L., Pelemans W., et al. Is metabolic evidence for vitamin B-12 and folate deficiency more frequent in elderly patients with Alzheimer's disease? // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 1997; 52(2): M76—79.
54. Jungers P., Massy Z.A., Khoa T.N., et al. Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients: a prospective study. // *Nephrology, Dialysis, Transplantation*, 1997; 12(12): 2597—2602.
55. Koster T., Rosendaal F.R. de Ronde H., Briet E., Vandenbroucke J.P., Bertina R.M. Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C: Leiden Thrombophilia Study. // *Lancet*, 1998; 342: 1503—1506.
56. Lussier-Cacan S., Xhignesse M., Piolot A., Selhub J., Davignon J., Genest J. Plasma total homocysteine in healthy subjects — sex-specific relation with biological traits. // *Am. J. Clin. Nutr.*, 1996; 64: 587—593.
57. Malinow M.R., Rajkovic A., Duell P.B., Hess D.L., Upson B.M. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocyst(e)ine suggests a potential role for maternal homocyst(e)ine in fetal metabolism. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1998; 178: 228—233.

58. Mandel H., Brenner B., Berant M., Rosenberg N., Lanir N., Jakobs C., Fowler B., Seligsohn U. Coexistence of hereditary homocystinuria and factor V Leiden — effect on thrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 336: 763—768.
59. Mayer E.L., Jacobsen D.W., Robinson K. Homocysteine and coronary atherosclerosis. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996; 27: 517—527.
60. Mijatovic V., Kenemans P., Netelenbos C., et al. Postmenopausal oral 17beta-estradiol continuously combined with dydrogestronc reduces fasting serum homocysteine levels. // *Fertil. Steril.*, 1998; 69: 876—882.
61. Morgan S.L., Baggott J.E., Lee J.Y., Alarcon G.S. Folic acid supplementation prevents deficient blood folate levels and hyperhomocysteinemia during longterm, low dose methotrexate therapy for rheumatoid arthritis: implications for cardiovascular disease prevention. // *J. Rheumatol.*, 1998; 25: 441—446.
62. Mudd S.H., Finkelstein J.D., Irreverre F., Laster L. Homocystinuria: An enzymatic defect. // *Science*, 1964; 143: 1443—1445.
63. Mudd S.H., Levy H.L., Skovby F. Disorders of transsulfuration. In: Scriver G.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. (eds): // *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 7th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1995: 1279—1327.
64. Nakata Y., Katsuya T., Takami S., Sato N., Fu Y., Ishikawa K., et al. Methylene-tetrahydrofolate reductase gene polymorphism relation to blood pressure and cerebrovascular disease [In Process Citation]. // *Am. J. Hypertens.*, 1998; 1(8 Pt 1): 1019—1023, 1025.
65. Nicolaou A., Waterfield C.J., Kenyon S.H., Gibbons W.A. The inactivation of methionine synthase in isolated rat hepatocytes by sodium nitroprusside. // *Eur. J. Biochem.*, 1997; 15: 876—882.
66. Norlund L., Grubb A., Fex G., et al. The increase of plasma homocysteine concentrations with age is partly due to the deterioration of renal function as determined by plasma cystatin C. // *Clin. Chem. Lab. Med.*, 1998; 36: 175—178.
67. Nugent A., Hadden D.R., Carson N.A.J. Long-term survival of homocystinuria: the first case. // *Lancet*, 1998; 352: 624—625.
68. Nygard O., Refsum H., Ueland P.M., et al. Coffee consumption and total plasma homocysteine. The Hordaland homocysteine study. // *Am. J. Clin. Nutr.*, 1997; 65: 136—143.
69. Nygard O., Nordrehaug J.E., Refsum H., Ueland P.M., Farstad M., Vollset S.E. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337(4): 230—236.
70. Nygard O., Refsum H., Ueland P.M., Vollset S.E. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: the Hordaland Homocysteine Study [see comments]. // *Am. J. Clin. Nutr.*, 1998; 67(2): 263—270.
71. Parnetti L., Bottiglieri T., Lowenthal D. Role of homocysteine in age-related vascular and non-vascular diseases. // *Aging (Milano)*, 1997; 9(4): 241—257.
72. Petri M., Roubenoff R., Dallal G.E., Nadeau M.R., Selhub J., Rosenberg I.H. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. // *Lancet*, 1996; 348(9035): 1120—1124.
73. Petri M., Roubenoff R., Dallal G.E., Nadeau M.R., Selhub J., Rosenberg I.H. Plasma homocysteine as a risk factor for atherothrombotic events in systemic lupus erythematosus. // *Lancet*, 1996; 348: 1120—1124.
74. Pettersson T., Friman C., Abrahamsson L., Nilsson B., Norterg B. Serum homocysteine and methylmalonic acid in patients with rheumatoid arthritis and cobalaminopenia. // *J. Rheumatol.*, 1998; 25: 859—863.

75. Phillips M.D. Interrelated risk factors for venous thromboembolism. // *Circulation*, 1997; 95: 1749—1751.
76. Quinn C.T., Griener J.C., Bottiglieri T., Hyland K., Farrow A., Kamen B.A. Elevation of homocysteine and excitatory amino acid neurotransmitters in the CSF of children who receive methotrexate for the treatment of cancer. // *J. Clin. Onco.* 1997; 15: 2800—2806.
77. Reddy M.N. Reference ranges for total homocysteine in children. // *Clin. Chim. Acta*, 1997; 262: 153—155.
78. Refsum H., Ueland P.M., Nygard O., Vollset S.E. Homocysteine and cardiovascular disease. // *Annu. Rev. Med.*, 1998; 49: 31—62.
79. Ridker P.M., Hennekens C.H., Selhub J., Miletich J.P., Malinow M.R., Stampfer M.J. Interrelation of hyperhomocyst(e)inemia, factor V Leiden, and risk of future venous thromboembolism. // *Circulation*, 1997; 95: 1777—1782.
80. Roberts J.M. Endothelial dysfunction in preeclampsia. // *Semin. Reprod. Endocrinol.*, 1998; 16(1): 5—15.
81. Robinson K. Homocysteine and vascular disease. 2000. p 447.
82. Robinson K., Arheart K., Refsum H., Brattstrom L., Boers G., Ueland P., et al. Low circulating folate and vitamin B₆ concentrations: risk factors for stroke, peripheral vascular disease, and coronary artery disease. European COMAC Group [see comments] . // *Circulation*, 1998; 97(5): 437—443.
83. Roubenoff R., Dellaripa P., Nadeau M.R., et al. Abnormal homocysteine metabolism in rheumatoid arthritis. // *Arthritis. Rheum.*, 1997; 40: 718—722.
84. Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia; Deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 523—526.
85. Silberberg J., Crooks R., Fryer J., et al. Fasting and post-methionine homocysteine levels in a healthy Australian population. // *Aust. N. Z. J. Med.*, 1997; 27: 35—39.
86. Sunden S.L.F., Renduchintaia M.S., Park E.I., Miklasz S.D., Garrow T.A. Betaine-homocysteine methyltransferase expression in porcine and human tissues and chromosomal localization of the human gene. // *Arch. Biochem. Biophys.*, 1997; 345: 171—174.
87. Taoka S., Ohja S., Shan X.Y., Kruger W.D., Banerjee R. Evidence for heme-mediated redox regulation of human cystathionine β -synthase activity. // *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 25179—25184.
88. Tawakol A., Omland T., Gerhard M., Wu J.T., Creager M.A. Hyperhomocysteinemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilatation in humans. // *Circulation*, 1997; 95: 119—1121.
89. Tonstad S., Refsum H., Ueland P.M. Association between plasma total homocysteine and parental history of cardiovascular disease in children with familial hypercholesterolemia. // *Circulation*, 1997; 96: 1803—1808.
90. Tonstad S., Refsum H., Ose L., Ueland P.M. The C677T mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene predisposes to hyperhomocysteinemia in children with familial hypercholesterolemia treated with cholestyramine. // *J. Pediatr.*, 1998; 132: 365—368.
91. Tonstad S., Refsum H., Sivertsen M., Christophersen B., Ose L., Ueland P.M. Relation of total homocysteine and lipid levels in children to premature cardiovascular death in male relatives. // *Pediatr. Res.*, 1996; 40: 47—52.
92. Ueland P.M., Fiskerstrand T., Lien E.A., Refsum H. Homocysteine and drug therapy. In: Graham I., Refsum H., Rosenberg I.H., Ueland P.M., eds.

Homocysteine Metabolism. From Basic Science to Clinical Medicine. Boston, Dordrecht, London: Kluwer Academic Publisher, 1997: 145—152.

93. Vaccaro O., Ingrosso D., Rivellese A., Greco G., Riccardi G. Moderate hyperhomocysteinemia and retinopathy in insulin-dependent diabetes. // *Lancet*, 1997; 349: 1102—1103.
94. Van der Molen E.F., Hiipakka M.I., Van Lith-Zanders H., et al. Homocysteine metabolism in endothelial cells of a patient homozygous for cystathionine β -synthase (CS) deficiency. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 827—833.
95. van der Put N.M.J., van der Molen E.F., Kluijtmans L.A.J., et al, Sequence analysis of the coding region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocysteinemia in neural-tube defects and vascular disease. // *Qjm.-Mon. J. Assoc. Physician.*, 1997; 90: 511—517.
96. Vilaseca M.A., Moyano D., Ferrer I., Artuch R.. Total homocysteine in pediatric patients. // *Clin. Chetn.*, 1997; 43: 690—692.
97. Vollset S.E., Nygard O., Kvale G., Ueland P.M., Refsum H. The Hordaland homocystine study: Life-style and total plasma homocysteine in Western Norway. In: Graham I., Refsum H., Rosenberg I.H., Ueland P.M., eds. *Homocysteine Metabolism, From Basic Science to Clinical Medicine*. Boston, Dordrecht, London: Kluwer Academic Publisher, 1997:177—182.
98. Wang H., Yoshizumi M., Lai K., et al. Inhibition of growth and p21^{ras} methylation in vascular endothelial cells by homocysteine but not cysteine. // *J. Biol. Chem.*, 1997; 272:25380—25385.
99. Ward M., McNulty H., McPartlin J., Strain J.J., Weir D.C., Scott J.M. Plasma homocysteine, a risk factor for cardiovascular disease, is lowered by physiological doses of folic acid. // *Q. J. Med.*, 1997; 90: 519—524.
100. Welch G.N., Loscalzo J, Hyperhomocysteinemia and atherothrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1998: 1043—1050.
101. Welch G.N., Loscalzo J., Homocysteine and atherothrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338: 1042—1050.
102. Wilcken D.E.L., Wilcken B. The natural history of vascular Disease in homocystinuria and the effects of treatment. // *J. Inher. Metab. Dis.*, 1997; 20: 295—300.
103. Wilcken D.E.L., Wilcken B. The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment. // *J. Inher. Metab. Dis.*, 1997; 20: 295—300.
104. Wollesen F., Brattstrom L., Refsum H., Ueland P.M., Berglund L., Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. // *Kidney Int.*, 1999; 55: 1028—1035.

Глава V.

Свободные радикалы — производные кислорода в патогенезе артериальных тромбозов

Свободные радикалы являются крайне «реактивными» химическими веществами, принимающими участие в патогенезе большинства патологических процессов и заболеваний человека. «Повреждающие» свойства свободных радикалов обусловлены наличием неспаренного электрона. Практически каждый компонент клетки способен к взаимодействию со свободными радикалами, претерпевая при этом ряд патологических изменений. Помимо того, что свободные радикалы сами по себе высоко реактивны, они являются триггерами цепной реакции перекисного окисления липидов и пероксидативной атаки любых молекул, содержащих ненасыщенные химические связи. *In vivo* небольшие количества свободных радикалов постоянно образуются, при этом основными их источниками являются митохондрии (дыхательная митохондриальная цепь). Другим источником свободных кислородных радикалов являются лейкоциты, так как нейтрофилы генерируют как $\cdot O_2^-$, так и H_2O_2 в процессе фагоцитоза.

Наконец, образование супероксида так же может быть связано с одним из этапов синтеза простагландинов, в частности при активации простагландин-гидропероксидазы.

В клинической практике, тем не менее, крайне важное значение имело установление факта, что резкая активация образования свободных радикалов — производных реактивного кислорода имеет место после восстановления нарушенного кровотока в участке временной ишемии ткани. Это явление получило название реперфузионного повреждения. В настоящее время известно, что именно кислород-содержащие свободные радикалы ответственны за специфическую форму обусловленного реперфузией повреждения тканей, вторичного по отношению к перекисному окислению липидов (ПОЛ), и других необратимых повреждений клеточных структур. Кроме того, помимо прямого повреждения клеток, реактивные метаболиты кислорода могут также проявлять и другие эффекты, которые могут опосредоваться через активацию или ингибирование различных ферментов или функций клеток.

Таким образом, свободные радикалы — производные реактивного кислорода — играют важную роль в патогенезе внутрисосудистого тромбообразования и влияют на этот процесс по меньшей мере через несколько механизмов. Во-первых, в постишемических тканях тромбоциты являются потенциальной мишенью для метаболитов реактивного кислорода, высвобождающихся внутри сосудов. При этом функция тромбоцитов значительно нарушается в результате повреждающего эффекта радикалов кислорода, происходит резкая активация тромбоцитов с повышением адгезивных и агрегационных свойств и выбросом активных прокоагулянтных субстанций.

Во-вторых, супероксид анионы вовлекаются в метаболизм и окислительную инактивацию естественного вазодилатора — закиси азота (эндотелиальный релаксирующий фактор, EDRF). Эта лабильная субстанция, продуцируемая эндотелием, играет важную роль не только в регуляции сосудистого тонуса, но также в регуляции активации тромбоцитов и тромбообразования.

Наконец, свободные радикалы кислорода могут прямо вовлекаться в тромбообразование через активацию внешнего пути свертывания в результате повреждения эндотелиальных клеток и моноцитов, что, в свою очередь сопровождается экспрессией и синтезом тканевого фактора — основного кофактора активации внешнего пути свертывания и инактиватора естественного ингибитора внешнего (тканевого) пути свертывания — TFPI. Все эти механизмы формируют тромбофильское состояние. Ниже подробнее будут изложены известные механизмы развития тромбофилии в условиях активации образования свободных радикалов.

Роль свободных радикалов в патогенезе коронарных тромбозов

Результаты абсолютного большинства исследований, имеющиеся на сегодняшний день, свидетельствуют о важной роли тромбоцитов и коагуляционных факторов в прогрессировании заболеваний коронарных артерий, ведущих к острым коронарным синдромам, транзиторным церебральным ишемическим атакам и ранней реокклюзии коронарных артерий после коронарной ангиопластики и обходного шунтирования. К важным факторам относится и механическое повреждение эндотелия при оперативных и инвазивных вмешательствах, в частности, при коронарной ангиопластике. Наиболее часто развитию острых коронарных синдромов, включая нестабильную стенокардию, острый инфаркт миокарда и внезапную смерть, сопутствует образование тромба в области деструкции атеросклеротической бляшки.

О важной роли внутрикоронарной активации тромбоцитов и коагуляционного каскада в патогенезе острых коронарных синдромов свидетельствует также тот факт, что у пациентов с нестабильной стенокардией обнаруживается циркуляция высоких концентраций в крови субстанций — маркеров активации тромбоцитов и/или коагуляции.

Лучшему пониманию механизмов, регулирующих взаимодействия тромбоциты/факторы свертывания/сосудистая стенка при острых коронарных синдромах способствовали результаты экспериментальных моделей коронарного стеноза и эндотелиального повреждения. Одна из таких оригинальных моделей была описана еще в 1976 году в журнале «Circulation» Folts et al. Сегмент коронарной артерии с предварительно «поврежденным» эндотелием помещался в среду с известным вазоконстриктором. Таким образом, искусственно воссоздавались условия, имитирующие клиническую ситуацию нестабильной стенокардии. После попадания вазоконстриктора в просвет сосуда в стенозированной артерии отмечалась прогрессирующая редукция коронарного кровотока с последующим спонтанным или индуцированным восстановлением кровотока до базального уровня. Такой тип кровотока, получивший название циклических вариаций кровотока (ЦВК), связан с повторяющейся (рецидивирующей) агрегацией тромбоцитов в области стеноза с последующей «деагрегацией» тромба. В инициацию и/или поддержание ЦВК вовлечено множество химических медиаторов, включая тромбоксан A₂ (TxA₂), серотонин, тромбин, АДФ и фактор активации тромбоцитов (PAF — platelet activating factor), которые вызывают как активацию тромбоцитов в кровотоке с образованием тромбоцитарных агрегатов, так и динамическую коронарную вазоконстрикцию.

Недавние исследования свидетельствуют, что свободные радикалы кислорода также могут быть вовлечены в процесс интракоронарного тромбообразования, учитывая их «повреждающие» эффекты в отношении клеточных структур, в частности эндотелиоцитов, тромбоцитов и моноцитов.

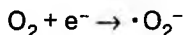
Свободные радикалы кислорода и механизмы их образования in vivo

Как уже указывалось, свободные радикалы представляют собой крайне реактивные химические субстанции и характеризуются наличием неспаренного электрона. Эта особенность наделяет свободные радикалы способностью выступать

в роли триггеров цепных реакций, ведущих в свою очередь к образованию перекисей и перекисной «атаке» молекул, содержащих ненасыщенные химические связи.

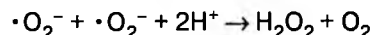
Практически все клеточные структуры способны реагировать со свободными радикалами, при этом химические модификации этих молекул могут оказывать значительное влияние на структуру и функции клетки.

Один из наиболее агрессивных радикалов кислорода, супероксид анион, образуется при акцепции молекулой кислорода одного электрона извне:

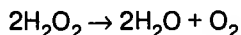


(« \cdot » обозначает неспаренный электрон)

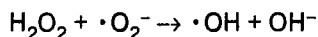
В результате дальнейших реакций, в которые вступает супероксид-анион образуется другое реактивное производное кислорода — перекись водорода (H_2O_2):



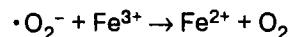
Эта реакция может развиваться спонтанно. Однако в условиях физиологических значений pH скорость этой реакции значительно возрастает вследствие наличия активности специфического энзима — супероксид дисмутазы (SOD). Распад H_2O_2 с образованием воды и кислорода затем опосредуется эндогенными ферментами — каталазой и глутатион-пероксидазой:



Один из наиболее реактивных продуктов, гидроксил-радикал ($\cdot OH$) образуется при взаимодействии супероксида-аниона с перекисью водорода в реакции Haber-Weiss:



или в реакции Fenton, в которой необходимо восстановление железа:



Гидроксильные радикалы чрезвычайно реактивны, более того, в отличие от супероксида аниона и перекиси водорода в организме отсутствуют естественные энзиматические системы нейтрализующие гидроксильные радикалы. Поэтому именно образование гидроксильных радикалов потенциально может быть причиной выраженного повреждения тканей.

Следует еще раз подчеркнуть, что в физиологических условиях небольшие количества супероксидных радикалов образуются постоянно, в основном — в процессе дыхательной цепи в митохондриях. Обнаружено, что около 5% молекулярного кислорода, утилизируемого в митохондриях эквивалентно восстанавливается в супероксидные радикалы вместо воды.

Другим известным источником свободных радикалов являются лейкоциты. Нейтрофилы в процессе фагоцитоза генерируют как H_2O_2 , так и $\cdot O_2^-$. Образование этих реактивных продуктов является важным механизмом бактерицидной активности.

В активированных лейкоцитах стимуляция гексозо-монофосфатного пути способствует генерации восстановленной НАДФ-Н, которая вновь окисляется до НАДФ⁺ под действием НАДФ-Н — оксидазы, которая, в основном, локализована в клеточной мембране; в процессе этой реакции неспаренный электрон переносится на молекулу кислорода с образованием супероксидного радикала.

Как уже указывалось, образование супероксида может также происходить на одном из этапов синтеза простагландинов, в частности, на этапе активации простагландин-гидропероксидазы.

Влияние свободных радикалов кислорода на функцию тромбоцитов

Как исследования *in vitro*, так и *in vivo* свидетельствуют о неоднозначном влиянии свободных радикалов кислорода на агрегацию тромбоцитов.

В экспериментальной модели у животных с коронарным стенозом и эндотелиальным повреждением циклические вариации кровотока развиваются как следствие рецидивирующей агрегации тромбоцитов / тромбообразования в области стеноза (см. выше). В экспериментальных условиях назначение как супероксиддисмутазы, так и каталазы полностью элиминировало циклические вариации кровотока (ЦВК) у большинства животных (около 70%). Интересно, что у собак в случае неэффективности супероксид дисмутазы добавление каталазы элиминировало ЦВК. Более того, назначение в таких случаях супероксид дисмутазы в ряде случаев в еще большей степени ухудшало нарушения кровотока, что свидетельствовало о более важной роли H_2O_2 в поддержании интракоронарного тромбообразования.

В ряде исследований была обнаружена очень интересная закономерность: если модель коронарного стеноза не сочеталась одновременно с поврежденным эндотелием артериальной стенки, индукции циклических вариаций кровотока не наблюдалось. Тем не менее, инфузия ксантина и ксантин — оксидазы — энзиматической системы, генерирующей как супероксид анион, так и H_2O_2 , вызвала немедленную индукцию циклических вариаций кровотока. Возможно такой тромбогенный эффект свободных радикалов кислорода связан с нарушением или повреждением эндотелиального монослоя в большей мере, чем с прямым стимулирующим эффектом на тромбоциты, о чем свидетельствуют и гистологические исследования коронарных сосудов после экспозиции активных радикалов кислорода. Возможно, одним из механизмов повышения агрегационной активности тромбоцитов под действием свободных радикалов кислорода является потенцирование проагрегаторного эффекта PAF (фактора активации тромбоцитов).

Действительно, в некоторых исследованиях назначение супероксид дисмутазы ассоциировалось со значительной редукцией PAF — опосредованной агрегации. Поскольку активные метаболиты кислорода могут инактивировать ацетилгидролазу плазмы (фермента, который катаболизирует PAF), было предположено, что снижение катаболизма PAF под действием свободных радикалов кислорода может повышать агрегацию тромбоцитов через локальное повышение концентрации PAF.

В экспериментальной модели каротидного артериального стеноза с эндотелиальным повреждением у кроликов при добавлении низких доз H_2O_2 наблюдалась элиминация ЦВК у всех животных. По-видимому этот эффект объясняется активацией гуанилатциклазы тромбоцитов, так как внутриклеточная концентрация цГМФ при инфузии H_2O_2 повышалась почти в 7 раз. Таким образом, активные метаболиты кислорода обладают комплексными эффектами на внутрисосудистое тромбообразование, при этом конечный эффект зависит от целостности (как морфологической, так и функциональной) эндотелия, дозы и вида свободных радикалов.

Эндотелиальный релаксирующий фактор (EDRF) и свободные радикалы кислорода

Как уже не раз упоминалось, сосудистый эндотелий играет ведущую роль в ингибции внутрисосудистого образования в «здоровых» сосудах. Этот эффект достигается в результате динамического взаимодействия между механизмами, способствующими тромбообразованию и противостоящими ему.

В условиях физиологической нормы эндотелиальные клетки ингибируют тромбообразование, синтезируя субстанции, такие как тромбомодулин, ингибитор тканевого (внешнего) пути свертывания (TFPI), простагландин, тканевой активатор плазминогена (t-PA) и EDRF, которые ингибируют коагуляционный каскад, функцию тромбоцитов, или активируют эндогенный фибринолиз. Одним из больших открытий последней декады как в кардиоваскулярной медицине, так и в других областях медицины, было открытие способности эндотелиальных клеток к синтезу и высвобождению специфической субстанции EDRF. Установлено, что этой субстанцией

является оксид азота (NO) или NO — содержащий компонент, синтезируемый из L-аргинина под действием специфического фермента — NO-синтетазы. EDRF впервые был описан как модулятор сосудистого тонуса, так как его высвобождение связано с релаксацией (расслаблением) сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК). Позже было показано, что EDRF вызывает расслабление ГМК через стимуляцию растворимой гуанилатциклазы, что ведет к повышению внутриклеточного содержания цГМФ.

Поскольку активация гуанилатциклазы способствует ингибции функции тромбоцитов *in vitro*, был описан и антитромбоцитарный эффект EDRF. Было установлено, что эндогенный EDRF является крайне важной субстанцией, противостоящей внутрисосудистому тромбообразованию в области коронарного стеноза и эндотелиального повреждения. В частности было обнаружено, что при назначении L-NMNA (аналога аргинина, который ингибирует эндогенную продукцию EDRF) животным, у которых возникновение ЦБК предварительно было купировано назначением аспирина, ассоциировалось со спонтанным возобновлением ЦБК. Тем самым была продемонстрирована роль EDRF в модулировании функции тромбоцитов.

Супероксид анионы значительно истощают запасы EDRF. Время полужизни EDRF значительно укорачивается при добавлении супероксид анионов и наоборот, супероксид дисмутаза удлинит время полужизни EDRF в водных растворах. Metha *et al.* обнаружили, что продукция активных производных кислорода в процессе реперфузии ишемизированного миокарда вызывает дисфункцию сосудов, а супероксид дисмутаза «сохраняет» вазодилаторную способность сосудов.

Исследования крайне интересного случая Freedman *et al.*, проводимые у двух братьев с детства, страдающих инсультами, продемонстрировали дефицит в плазме глютацион-пероксидазы, что способствовало окислительной инактивации NO и тромбоцит — обусловленному тромбозу.

Таким образом, многочисленные исследования, имеющиеся на сегодняшний день, свидетельствуют, что активные производные кислорода могут усиливать внутрисосудистое тромбообразование, одновременно снижая антитромбоцитарный и вазодилатирующий эффекты EDRF.

Активация внешнего пути свертывания свободными радикалами кислорода

Как уже указывалось, в условиях нормы эндотелиальные клетки ингибируют внутрисосудистое тромбообразование, синтезируя ряд субстанций (тромбомодулин, простаглицлин, протеин С и пр.). Кроме того, поскольку эндотелий находится в постоянном контакте с циркулирующей кровью, синтез и экспрессия тканевого фактора (TF) в норме супрессированы, что обеспечивается тонкими механизмами контроля свертывающей системы крови.

(О структуре и эффектах TF подробно изложено в I главе).

Однако особо следует указать на роль TF в патогенезе коронарных тромбозов и атеросклероза. Как уже указывалось, коронарный тромбоз в основном развивается в области стеноза и часто сопровождается деструкцией (разрывом) атеросклеротической бляшки. Поскольку атеросклеротические бляшки чрезвычайно богаты клетками, синтезирующими TF (такими как моноциты, «пенистые» клетки и клетки, подобные мезенхимальным), повреждение или разрыв бляшки ведет к «выбросу» значительных количеств TF в циркулирующую кровь.

Это, в свою очередь, активировать внешний путь свертывания, поскольку TF — эссенциальный фактор активации внешнего пути свертывания и тромбообразования.

Об этом свидетельствуют и экспериментальные данные: блокирование TF — активности у кроликов с каротидным стенозом и поврежденным эндотелием путем назначения моноклональных антител против TF способствует ингибции внутрисосудистого свертывания тромбообразования.

Индукции ТФ и повреждению эндотелия способствуют различные по своей природе стимулы, в том числе цитокины (TNF- α , IL-1), липополисахарид, эфиры форбола, а так же ряд факторов — дериватов опухолей. Свободные радикалы кислорода являются одними из важных субстанций, способствующих экспрессии ТФ. Этот феномен имеет место и при реперфузионных повреждениях постишемических тканей.

Помимо экспрессии ТФ, свободные радикалы кислорода могут способствовать тромбообразованию посредством ингибции естественных противотромботических механизмов, в частности, снижения уровня и активности TFPI — ингибитора внешнего пути свертывания.

Исследования последних лет посвящены изучению роли тромбофилического состояния в реокклюзии в условиях реперфузии у пациентов с инфарктами миокарда. Как правило, реокклюзия развивается после лечения тромболитиками и, как следствие, восстановления кровотока. Одним из механизмов, ответственных за раннюю реокклюзию, является опосредованный свободными радикалами синтез ТФ.

Свободные радикалы кислорода являются одними из наиболее значимых факторов внутрисосудистого тромбообразования, а также ряда других патологических состояний в акушерстве, в частности, гестозов (см. главу XXII). Это обосновывает применение противотромботических препаратов при заболеваниях и состояниях, характеризующихся повышенным образованием свободных радикалов.

Список литературы

1. Бышевский А.Ш., Волков А.И. Гемостаз и перекисное окисление липидов при разных тиреоидных состояниях. // Тромбоз, гемостаз и реология, 2000. №3(3).
2. А.Ш. Бышевский, Г.А. Левин, А.И. Волков, И.Е. Попова, Р.Г. Алборов, О.Ф. Мысник. Гемостаз при гипертиреозе в зависимости от интенсивности липопероксидации в тромбоцитах. // Тромбоз, гемостаз и реология, 2001. №2(6).
3. Ambrosio G., Flaherty J.T., Duilio C., et al. Oxygen radicals generated at reflow induce peroxidation of membrane lipids in reperfused hearts. // J. Clin. Invest., 1991; 87: 2056—2066.
4. Ambrosio G., Golino P., Pascucci J., et al. Modulation of platelet function by reactive oxygen metabolites. // Am. J. Physiol., 1994; 267: 8308—8318.
5. Ambrosio G., Oriente A., Napoli C., et al. Oxygen radicals inhibit human plasma acetylhydrolase, the enzyme that catabolizes platelet-activating factor. // J. Clin. Invest., 1994; 93: 2408—2416.
6. Ashton J.H., Benedict C.R., Fitzgerald C., et al. Serotonin is a mediator of cyclic flow variations in stenosed canine coronary arteries. // Circulation, 1986; 73: 572—578.
7. Ashton J.H., Schmitz J.M., Campbell W.B., et al. Inhibition of cyclic flow variations in stenosed canine coronary arteries by thromboxane A₂/prostaglandin H₂ receptor antagonists. // Circ. Res., 1986; 59: 568—578.
8. Bajaj M.S., Kuppuswamy M.N., Saito H., Spitzer S.G., Bajaj S.P. Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. // Proc. Natl. Acad. Sci., USA 1990; 87: 8869—8872.
9. Burton K.P. Superoxide dismutase enhances recovery following myocardial ischemia. // Am. J. Physiol., 1985; 248: 8637—8643.
10. Canoso R.T., Rodvien R., Scoon K., Levine P.H. Hydrogen peroxide and platelet function. // Blood 1974; 43: 645—656.
11. Clark R.A., Klebanoff S.J. Neutrophil-platelet interaction mediated by myeloperoxidase and hydrogen peroxide. // J. Immunol., 1980; 124: 399—405.

12. Clauss M. A polypeptide factor produced by fibrosarcoma cells that induces endothelial tissue factor and enhances the procoagulant response to tumor necrosis factor/cachectin. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 7078—7083.
13. Crossman D.C., Carr D.P., Tuddenham E.G.D., Pearson J.D., McVey J.H. The regulation of tissue factor mRNA in human endothelial cells in response to endotoxin or phorbol ester. // *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 9782—9787.
14. Davies M.J., Woolf N. Atherosclerosis: what is it and why does it occur? // *Br. Heart J.* 1993; 69(suppl): 53—511.
15. Del Principe D., Menichelli A., De Matteis W., Di Corpo M.L., Di Giulio S., Finazzi-Agro A. Hydrogen peroxide has a role in the aggregation of human platelets. // *FEBS Lett.*, 1985; 185: 142—146.
16. Del Principe D., Menichelli A., De Matteis W., Di Giulio S., Giordani M., Savini I., Finazzi-Agro A. Hydrogen peroxide is an intermediate in the platelet activation cascade triggered by collagen, but not by thrombin. // *Thromb. Res.*, 1991; 62: 365—375.
17. Eidt J.F., Allison P., Noble S., et al. Thrombin is an important mediator of platelet aggregation in stenosed canine coronary arteries with endothelial injury. // *J. Clin. Invest.*, 1989; 84: 18—25.
18. Esmon C.T., Owen W.G. Identification of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein // *C. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981; 78: 2249—2255.
19. Fantone J.C., Ward P.A. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leucocyte-dependent inflammatory reactions. // *Am. J. Pathol.*, 1982; 107: 397—418.
20. Folts J.D., Crovell E.B. Jr., Rowe C.O. Platelet aggregation in partially obstructed vessels and its elimination by aspirin. // *Circulation*, 1976; 54: 365—370.
21. Folts J.D., Gallagher K., Rowe G.G. Blood flow reductions in stenosed canine coronary arteries: vasospasm or platelet aggregation? // *Circulation*, 1982; 65: 248—255.
22. Forstermann U., Mulsch A., Bohme E., Busse R. Stimulation of soluble guanylate cyclase by an acetylcholine-induced endothelium-derived factor from rabbit and canine arteries. // *Circ. Res.*, 1985; 58: 531—538.
23. Freedman J.E., Loscalzo J., Benoit S.E., Valeri C.R., Barnard M.R., Michelson A.D. Decreased platelet inhibition by nitric oxide in two brothers with a history of arterial thrombosis. // *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 979—987.
24. Fridovich I. The biology of oxygen radicals. // *Science*, 1978; 201: 6049—6055.
25. Golino P., Ambrosio G., Ragni M., et al. Oxygen radicals induce a procoagulant state in cultured coronary endothelial cells by inducing tissue factor synthesis and by inhibiting tissue-factor pathway inhibitor. // *Circulation*, 1995; 92: 1354.
26. Golino P., Ambrosio G., Ragni M., et al. Short-term and long-term role of platelet activating factor as a mediator of in vivo platelet aggregation in rabbit carotid and canine coronary arteries with experimental stenosis and endothelial injury. // *Circulation*, 1993; 88: 1205—1213.
27. Golino P., Ambrosio G., Ragni M., Russolillo E., Focaccio A., Chiariello M. Hydrogen peroxide inhibits cyclic flow reductions in rabbit stenotic carotid arteries with endothelial injury (abstr). // *Eur. Heart J.*, 1992; 12(suppl): 299.
28. Golino P., Ashton J.H., Buja L.M., et al. Local platelet activation causes vasoconstriction of large epicardial canine coronary arteries in vivo: thromboxane A2 and serotonin are possible mediators. // *Circulation*, 1989; 79: 154—166.
29. Golino P., Cappelli-Bigazzi M., Ambrosio G., et al. Endothelium-derived relaxing factor modulates platelet aggregation in an in vivo model of recurrent platelet activation. // *Circ. Res.*, 1992; 71: 1447—1453.

30. Golino P., Ragni M., Cirillo P., et al. Effects of tissue factor induced by oxygen free radicals on coronary flow during reperfusion. // *Nature Med.*, 1996; 2: 35—40.
31. Gryglewski R.J., Palmer R.M.J., Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived relaxing factor. // *Nature*, 1986; 320: 454—456.
32. Halliwell B. Oxidants and human disease: some new concepts. *FASEB J.* 1987; 1 : 358—364.
33. Handin R.I., Karabin R., Boxer G.J. Enhancement of platelet function by superoxide anion. // *J. Clin. Invest.*, 1977; 59: 959—965.
34. Higashi O., Kikuchi Y., Konno K. A case of thromboasthenia with a study of platelet aggregation by hydrogen peroxide. // *Tohoku. J. Exp. Med.*, 1972; 106: 399—409.
35. Hirsh P.D., Hillis L.D., Campbell W.B., Firth B.G., Willerson J.T. Release of prostaglandins and thromboxane into the coronary circulation of patients with ischemic heart disease. // *N. Engl. J. Med.*, 1981; 304: 685—693.
36. Hogan J.C., Lewis M.J., Henderson A.H. In vivo EDRF activity influences platelet function. // *Br. J. Pharmacol.*, 1988; 94: 1020—1022.
37. Holmsen H., Robkin L. Hydrogen peroxide lowers ATP levels in platelets without altering adenylate energy charge and platelet function. // *J. Biol. Chem.*, 1977; 252: 1752—1757.
38. Ignarro L.J., Byrns R.E., Wood K.S. Endothelium-dependent modulation of cGMP levels and intrinsic smooth muscle tone in isolated bovine intrapulmonary artery and vein. // *Circ. Res.*, 1987; 60: 82—92.
39. Jaffe E.A. Endothelial cell structure and function. In: Hoffman R, Benj EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen WJ, eds. *Hematology: Basic Principles and Practice*. New York: Churchill Livingstone, 1991: 1198—1215.
40. Kao J. Endothelial monocyte-activating polypeptide II. A novel tumor-derived polypeptide that activates host-response mechanisms. // *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 20239—20247.
41. Kontos H.A., Wei E.P., Christman C.W., Lévasséur J.E., Powlissock J.T., Ellis E.F. Free oxygen radicals in cerebral vascular responses. // *Physiologist*, 1983; 26: 165—169.
42. Levine P.H., Weinger R.S., Simon J., Scoon K.L., Krinsky N.I. Leucocyte-platelet interaction. Release of hydrogen peroxide by granulocytes as a modulator of platelet reactions. // *J. Clin. Invest.*, 1976; 57: 955—963.
43. Luscher T.F., Vanhoutte P.M. *The Endothelium: Modulator of Cardiovascular Function*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1990.
44. McCord J.M. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. // *N. Engl. J. Med.*, 1985; 312: 159—163.
45. Mehta J.L., Nichols W.W., Donnelly W.H., et al. Protection by superoxide dismutase from myocardial dysfunction and attenuation of vasodilator reserve after coronary occlusion and reperfusion in dog. // *Circ. Res.*, 1989; 65: 1283—1295.
46. Mellion B.T., Ignarro L.J., Ohlstein E.H., Pontecorvo K.G., Hyman A.L., Kadowitz P.J. Evidence for the inhibitory role of guanosine 3',5'-monophosphate in ADP-induced human platelet aggregation in the presence of nitric oxide and related nitrovasodilators. // *Blood*, 1981; 57: 946—955.
47. Moncada S., Gryglewski R., Bunting, S., Vane J.R. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. // *Nature*, 1976; 263: 663-665.
48. Mugge A., Elwell J.H., Peterson T.E., Harrison D.G. Release of intact endothelium-derived relaxing factor depends on endothelial superoxide dismutase activity. // *Am. J. Physiol.*, 1991; 260: C219—C225.

49. Myers P.R., Minor R.L., Guerra R. Jr, Bates J.N., Harrison D.G. Vasorelaxant properties of the endothelium-derived relaxing factor more closely resemble S-nitrosocysteine than nitric oxide. // *Nature*, 1990; 345: 161—163.
50. Palmer R.M.J., Ashton D.S., Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. // *Nature*, 1988; 333: 664—666.
51. Palmer R.M.J., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. // *Nature*, 1987; 327: 524—527.
52. Patscheke H. Correlation of activation and aggregation of platelets: discrimination between anti-activating and anti-aggregating agents. // *Haemostasis*, 1979; 8: 65—81.
53. Pawashe A.B., Golino P., Ambrosio G., et al. A monoclonal antibody against rabbit tissue factor inhibits thrombus formation in stenotic injured rabbit carotid arteries. // *Circ. Res.*, 1994; 74: 56—63.
54. Radomski M.W., Palmer R.M.J., Moncada S. Characterization of the L-arginine: nitric oxide pathway in human platelets. // *Br. J. Pharmacol.*, 1991; 96: 232—235.
55. Rapaport S.I., Rao L.V.M. Initiation and regulation of tissue factor-dependent blood coagulation. // *Arterioscler. Thromb.*, 1992; 12: 1111—1121.
56. Rapoport R.M., Draznin M.B., Murad F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. // *Nature* 1983; 306: 174—176.
57. Rodvien R., Lindon J.N., Levine P.H. Physiology and ultrastructure of the blood platelet following exposure to hydrogen peroxide. // *Br. J. Pharmacol.*, 1989; 97: 1145—1150.
58. Rubanyi G.M., Vanhoutte P.M. Superoxide anions and hyperoxia inactivate endothelium-derived relaxing factor. // *Am. J. Physiol.*, 1986; 250: 8822—8827.
59. Salvemini D., de Nucci G., Sneddon M., Vane J.R. Superoxide anions enhance platelet adhesion and aggregation. // *Br. J. Pharmacol.*, 1989; 97: 1145—1150.
60. Salvemini D., de Nucci G., Vane J.R. Superoxide dismutase cooperates with prostacyclin to inhibit platelet aggregation: a comparative study in washed platelets and platelet rich plasma. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 65: 421—424.
61. Sies H., Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 1985; 311: 617—631.
62. Stuart M.J., Holmsen H. Hydrogen peroxide, an inhibitor of platelet function: effect on adenine nucleotide metabolism, and the release reaction. // *Am. J. Hematol.*, 1977; 2: 53—63.
63. Theroux P., Ouimet H., McCans J., et al. Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. // *N. Engl. J. Med.*, 1988; 319: 1105—1111.
64. van den Berg E.K., Schmitz J.M., Benedict C.R., Malloy C.R., Willerson J.T., Dehemer G.J. Transcardiac serotonin concentration is increased in patients with limiting angina and complex coronary lesion morphology. // *Circulation*, 1989; 79: 116—124.
65. Wilcox J.N., Smith K.M., Schwartz S., Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989; 86: 2839—2843.
66. Willerson J.T., Golino P., Eidt J., Campbell W.B., Buja L.M. Specific platelet mediators and unstable coronary artery lesions: experimental evidence and clinical implications. // *Circulation*, 1989; 80: 198—205.
67. Yao S.K., Ober J., Benedict C.R., et al. ADP plays an important role in mediating platelet aggregation and cyclic flow variations in vivo in stenosed and endothelium-injured canine coronary arteries. // *Circ. Res.*, 1992; 70: 39—48.

68. Yao S.K., Ober J., Krishnaswami A., et al. Endogenous endothelium-derived relaxing factor protects against platelet aggregation and cyclic flow variations in stenosed and endothelium-injured arteries. // *Circulation*, 1992; 86: 1302—1310.
69. Yao S.K., Ober J.C., Gonenne A., et al. Active oxygen species play a role in mediating platelet aggregation and cyclic flow variations in severely stenosed and endothelium-injured coronary arteries. // *Circ. Res.*, 1993; 73: 962—967.
70. Zweier J.L., Broderick R., Kuppusamy P., Thompson-German S., Luty G.A. Determination of the mechanism of free radical generation in human aortic endothelial cells exposed to anoxia and reoxygenation. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 24156—24162.
71. Zweier J.L., Flaherty J.T., Weisfeldt M.L. Direct measurements of free radical generation following reperfusion of ischemic myocardium. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1987; 84: 1404—1407.
72. Zweier J.L., Kuppusamy J.T., Williams W.E., et al. Measurement and characterization of post-ischemic free radical generation in the isolated perfused heart. // *J. Biol. Chem.*, 1989; 264: 18890—18895.

Глава VI.

Диагностика тромбофилических состояний

80—90-е годы XX века ознаменовались открытием целого ряда новых дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу, как приобретенных, так и генетически обусловленных. Естественно, это поставило перед клинической медициной проблемы, связанные с клинико-лабораторной диагностикой, дифференцированной профилактикой и терапией тромбофилических состояний. В таблице 33 представлены основные известные в настоящее время приобретенные и генетически обусловленные тромбофилические расстройства.

Таблица 33.

Приобретенные и генетически обусловленные дефекты гемостаза как возможные причины тромбофилического состояния.

Приобретенные	Генетически обусловленные
Анtifосфолипидные антитела: — волчаночный антикоагулянт, — антикардиолипиновые антитела, — антитела к подгруппе фосфолипидов (антифосфатидилсериновые, антифосфатидилэтаноламиновые, антифосфатидилхолиновые, антифосфатидилинозитоловые и пр.) — антитела к кофакторам (анти-β2-гликопротеин-1, анти-протромбин, анти-аннексин V, анти-протеин C, анти-протеин S) Миелопролиферативные синдромы: Синдром Труссо Онкологические заболевания Гипергомоцистеинемия Снижение уровней: AT III, протеинов C, S, плазминогена, гепарин-кофактора II Повышение уровня PAI-1 Повышение уровня фактора VIII ГИТ II	Резистентность к активированному протеину C: — мутация FV Leiden — мутация FV Cambridge — мутация FV Hong-Kong — мутация FV HR2 Повышение уровня PAI-1 (полиморфизм гена 4G/4G, 4G/5G) Полиморфизм рецепторов тромбоцитов Синдром «липких» тромбоцитов Гипергомоцистеинемия Мутация протромбина G20210A Дисфибриногенемия Дефицит FXII (Хагемана) Wein-Penzing-дефект Дефицит AT III Дефицит протеина C Дефицит протеина S Дефицит плазминогена Дефицит гепарин-кофактора II (HC) Пароксизмальная ночная гемоглобинурия Дефицит t-PA Дефицит TFPi

Необходимо подчеркнуть, что полноценная диагностика тромбофилии и причин ее возникновения немыслима без критической оценки клинической ситуации в целом, знаний патогенеза различных форм тромбофилии и адекватного выбора лабораторных методов диагностики. Не следует забывать, что целый ряд тромбофилических состояний, как в акушерстве, так и в общеклинической практике являются преимущественно следствием комбинации нескольких этиологических факторов: приобретенных, наследственно обусловленных и ятрогенных (рис.34).

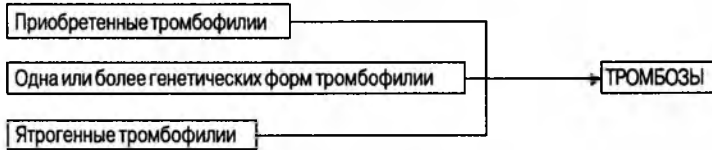


Рис. 34. Причины возникновения тромбозов в клинической практике.

Клиническими ориентирами для выявления генетических форм тромбофилии являются:

- тромбозы в молодом возрасте (до 50 лет), рецидивирующий их характер (инфаркты, инсульты, тромбозы сосудов конечностей);
- необычная локализация тромбозов (мезентериальные, системы нижней полой вены, церебральные);
- тромбозы после травмы;
- тромбозы на ранних сроках беременности;
- тромбозы на фоне приема оральных контрацептивов;
- привычное невынашивание;
- гестозы;
- преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
- задержка внутриутробного развития плода;
- мертворождения в анамнезе;
- наличие семейного тромботического анамнеза;
- отягощенный семейный акушерский анамнез.

В свете последних эпидемиологических исследований, посвященных распространенности генетических мутаций, предрасполагающих к тромбозу, важное значение приобретает также оценка этнической принадлежности пациента. Так, известно, что мутация FV Leiden чаще встречается у представителей европейской расы и почти не обнаруживается у аборигенов Африки, Австралии, американских индейцев, в азиатской популяции (Китай, Япония, страны Юго-Восточной Азии).

Прогресс в области развития и внедрения новых лабораторных методик в последнее десятилетие позволили уточнить некоторые вопросы патогенеза тромбофилии, а в ряде случаев — открыть новые ее формы. Совершенствование методологии и лучшее понимание патофизиологии тромбофилии и тромбозов, привело к значительному «сдвигу» от использования глобальных коагуляционных тестов к использованию синтетических субстратов, измерению отдельных проэнзимов, энзимов и энзимных комплексов, а также широкому внедрению методов с использованием моноклональных антител и генетического анамнеза (ПЦР-диагностика).

Тем не менее, многие методики пока далеки от совершенства и требуют дальнейшего совершенствования. Это касается как коагулологических тестов (например, по сей день отсутствует «золотой стандарт» в диагностике АФА), так и современных методов с использованием моноклональных антител (проблемы, связанные с гетерогенностью протеинов и пр.).

1. Лабораторная диагностика циркуляции антифосфолипидных антител (См. Гл.III).

2. Молекулярные маркеры в диагностике тромбофилических состояний и ДВС.

Среди тестов, используемых в диагностике тромбофилий, следует особо указать методы обнаружения повышенного тромбинообразования и фибринообразования, позволяющие оценить преобладание начальных и конечных этапов активации системы гемостаза. К основным молекулярным маркерам тромбофилии в

настоящее время относят неактивный энзимный комплекс тромбин-анти тромбин III (TAT), фрагменты протромбина F1+2, D-димер, фибринопептид А, реже — неактивный энзимный комплекс плазмин-антиплазмин, по которому можно судить об активности системы фибринолиза (см. табл. 34).

Таблица 34.

Некоторые лабораторные тесты диагностики тромбофилического состояния и ДВС-синдрома.

Тест	Характеристика теста	Диагностическое значение
1. Комплекс тромбин-анти-тромбин III (TAT)	АТ пропорционально количеству тромбина, образующегося <i>in vivo</i> с началом внутрисосудистого свертывания крови	Прямая диагностика ДВС-синдрома, диагностика тромбофилических состояний
2. Фрагмент F1+2 протромбина	Образуется при протеолитическом расщеплении протромбина активированным фактором Ха	Косвенный маркер тромбина, позволяющий судить о нарастании ДВС-синдрома
3. β-тромбоглобулин и фактор 4 (антигепариновый фактор тромбоцитов)	Специфические маркеры дегрануляции тромбоцитов	Повышенное содержание их свидетельствует о значительной активации тромбоцитарного звена системы гемостаза и является маркером тромбофилии
4. Антитромбин АТ III	Универсальный ингибитор тромбина, факторов Ха, IXa, XIa, XIIa, VIIa. Основной кофактор гепарина	Уменьшение содержания до 70% и ниже может быть связано с интенсивным потреблением или повышенной метаболизацией, что указывает на высокий риск тромбоза, а также может быть следствием снижения синтеза
5. Протеин С	Активируется тромбином и фактором Ха при участии двух кофакторов (протеина S и тромбомодулина)	Дефицит протеина С обуславливает рецидивирующие венозные тромбозы и ТЭ некроз кожи при применении больших доз не-прямых антикоагулянтов, злокачественную пурпуру новорожденных
6. Фактор Виллебранда	Гликопротеин, вырабатывающийся в основном эндотелиальными клетками	Чрезмерно высокий уровень фактора Виллебранда в плазме приводит к патологической активации тромбоцитов и развитию тромбофилии. Это маркер повреждения эндотелия, циркуляции иммунных комплексов и наличия атерогенных липидов

Тест	Характеристика теста	Диагностическое значение
7. Продукты деградации фибриногена и фибрина (ПДФФ)	Образуются в результате гипертромбинемии и репаративного фибринолиза	Маркер текущего ДВС-синдрома: высокомолекулярные фрагменты X и Y характерны для острой формы ДВС-синдрома, низкомолекулярные D и E — для хронической формы ДВС-синдрома
8. Тканевой активатор плазминогена (ТПА)	Серин-протеаза, высвобождаемая из клеток, является основным активатором внешнего пути фибринолиза	Маркер повышенной склонности тромбоэмболических осложнений и рецидивирующих тромбозов
9. Ингибитор активатора плазминогена	Синтезируется в эндотелиальных клетках, препятствует активированию плазминогена в плазмин	
10. Агрегация тромбоцитов при стимуляции	Способность тромбоцитов воспроизводить фундаментальную реакцию с использованием основных биологических стимуляторов	
АДФ $1 \cdot 10^{-3}$ М		Позволяет оценить интенсивность агрегации, ее увеличение указывает на повышенную способность тромбоцитов к образованию внутрисосудистых агрегатов
АДФ $1 \cdot 10^{-5}$ М		Позволяет судить о реакции высвобождения, секреторной функции тромбоцитов и способности к дезагрегации
АДФ $1 \cdot 10^{-7}$ М		Позволяет оценить дезагрегационную активность тромбоцитов
Адреналином		Позволяет оценить секреторную функцию тромбоцитов, реакцию высвобождения

Неактивные фрагменты F1+2 протромбина образуются в результате превращения протромбина в тромбин. Образующийся тромбин в дальнейшем может либо далее расщеплять фибриноген с образованием фибринопептида A (FPA) либо связываться со своим основным антагонистом — антитромбином III, образуя стабильные неактивные комплексы тромбин-антитромбин (TAT).

И TAT, и F1+2 довольно просто определяются ELISA методом и являются маркерами избыточного образования фактора Ха и тромбина. При этом если F1+2 свидетельствует об образовании фактора Ха и протромбина, то TAT и FPA являются маркерами образования тромбина (рис. 35).

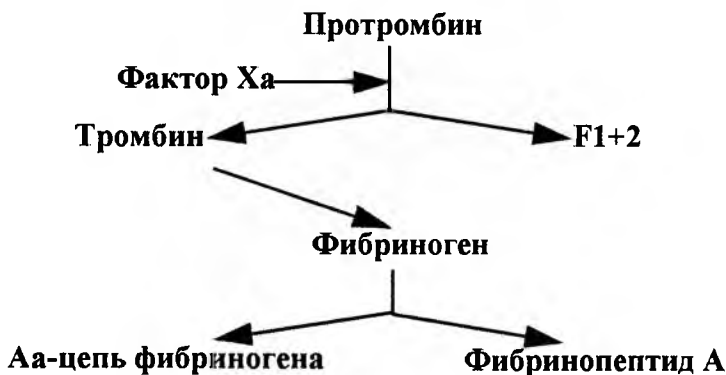


Рис. 35. Образование фрагментов протромбина F1+2 и фибринопептида А.

Обнаружение высокого содержания ТАТ в крови кроме раннего признака тромбинемии можно рассматривать и как признак потребления активного антитромбина III (АТ III).

Образующийся в избыточных количествах тромбин и другие активные факторы необратимо связываются с АТ III, снижая уровень функционально активного тромбина. Однако количественное определение уровня АТ III не отражает его функциональной активности, что ограничивает использование этого метода для диагностики ДВС. Что же касается использования определения уровня АТ III у беременных, то здесь следует иметь в виду, что даже в условиях физиологического течения беременности, согласно нашим данным, отсутствует корреляция между активностью и концентрацией АТ III.

Уровень фибринопептида А обычно повышен у больных с тромбофилией и свидетельствует об активации системы гемостаза, подобно тому, как специфические маркеры бета-тромбоглобулин (βТГ) и фактор 4 тромбоцитов (PF4) — об активации тромбоцитов.

Присутствие FPA — признак избыточной, не нейтрализованной естественными антикоагулянтами, активности тромбина, направленной на расщепление фибриногена. Кроме того, FPA может выступать и в роли маркера эффективности проводимой противотромботической терапии. Уровень FPA может быть повышен также при других микро- и макротромбозах, ТЭЛА, подобно ТАТ и F1+2, FPA также исследуется ELISA методом.

Таким образом, суммируя информативность различных молекулярных маркеров активации системы гемостаза, следует учитывать следующее: повышение уровней F1+2 и FPA прямо свидетельствует о повышении прокоагулянтной активности; снижение уровня АТIII косвенно свидетельствует о прокоагулянтной активности и потреблении ингибиторов; повышение уровня ТАТ прямо свидетельствует о повышении прокоагулянтной активности и потреблении ингибиторов.

Обсуждая диагностическую ценность перечисленных выше лабораторных тестов, следует отметить, что широкое применение определения FPA ограничено в связи с чрезвычайной его чувствительности к артефактам «in vitro» при «неправильном» заборе образца крови. Кроме того, FPA имеет очень короткий период полужизни (от 3 до 5 минут), что требует проведения исследований тотчас после забора крови. Более длительный период полужизни F1+2 (90 минут) делает этот тест более предпочтительным, чем FPA. Кроме того, и F1+2, и ТАТ менее чувствительны к «in vitro» артефактам, чем FPA.

Исследования фибринолитической системы может дать существенную информацию при диагностике тромбофилического состояния и ДВС. Уровень плазминогена при ДВС снижен, а циркулирующего плазмина — повышен, что отражает активность вторичного фибринолитического ответа. Интенсивность этого от-

вета имеет важное клиническое значение для прогнозирования потенциального микрососудистого тромбоза и необратимого повреждения функций жизненно важных органов в развитии полиорганной недостаточности. Именно поэтому, если фибринолиз угнетен, прогноз плохой, и смертность в результате полиорганной недостаточности в таких случаях высока.

Об активации системы фибринолиза на сегодняшний день можно судить по уровню пламиногена и пламина с использованием методов с синтетическими хромогенными субстратами.

Более информативными тестами для выяснения состояния фибринолитической системы являются определение комплексов плазмин- α_2 -антиплазмин (РАР) и α_2 -макроглобулин-плазмин иммуноферментным методом (ELISA). Присутствие этих комплексов является прямым индикатором образования пламина *in vivo*. Уровни этих комплексов значительно повышены при клинических проявлениях ДВС и снижаются в периоды клинической ремиссии. В условиях ДВС повышение уровня комплексов РАР может свидетельствовать, во-первых, об активации фибринолиза (повышение уровня пламина), и, во-вторых, о потреблении ингибиторов фибринолиза (α_2 -антиплазмин).

Таким образом, повышение уровня пламина и снижение пламиногена прямо свидетельствует о повышении фибринолитической активности, снижение уровня α_2 -антиплазмина косвенно свидетельствует об активации фибринолиза и потреблении его ингибиторов, а повышение уровня комплексов РАР — прямое свидетельство как активации фибринолиза, так и потребления его ингибитора (α_2 -антиплазмина).

Важное значение имеет выявление ускоренного оборота тромбоцитов и укорочения времени их жизни в условиях ДВС. Фактор 4 тромбоцитов (PF4) и β -тромбоглобулин (β -TG) являются молекулярными маркерами общей реактивности тромбоцитов и реакции высвобождения; они обычно повышены у больных с ДВС. Эти же тесты являются и хорошими маркерами эффективности проводимой терапии. PF4 и β -TG могут быть повышены при целом ряде других состояний (ТЭЛА, инфаркт миокарда, искусственные клапаны сердца, аутоиммунные заболевания, тромбоз глубоких вен и пр.). Следует, однако, учитывать также и то, что повышение уровней PF4 и β -TG может быть косвенным свидетельством прокоагулянтной активности (но не только тромбоцитарной).

Как уже указывалось, наиболее информативными прямыми маркерами повышенного тромбинообразования, фибринообразования и тромбофилии в настоящее время являются комплексы ТАТ, F1+2 и D-димер. Поэтому определение ТАТ необходимо в следующих ситуациях:

- диагностика образования тромбина;
- диагностика ДВС-синдрома;
- диагностика претромботического состояния;
- определение степени активации системы гемостаза и риска реокклюзии

во время тромболитической терапии.

ТАТ следует определять при:

- остром и хроническом поражении печени;
- остром панкреатите;
- злокачественных новообразованиях;
- септицемии, инфекции;
- гестозе, преэклампсии;
- тромбоэмболических осложнениях;
- тромбозе глубоких вен.

Концентрация ТАТ в этих случаях очень высокая.

ТАТ может снижаться (при его начальных высоких цифрах) в случае применения концентратов АТIII и при выздоровлении пациенток.

ТАТ может быть важным критерием контроля эффективности проводимой противотромботической терапии.



Рис. 36. Образование продуктов деградации фибрина/фибриногена.

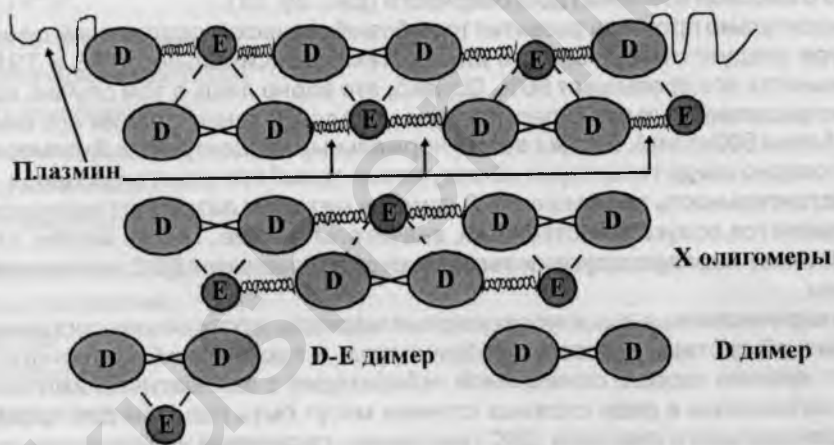


Рис. 37. Образование D-димера.

Повышенные значения F1+2 имеют место, когда протромбин интенсивно превращается в тромбин. Таким образом, F1+2 является маркером образования тромбина (количественным маркером), позволяющим судить о степени активации системы гемостаза.

Следовательно, повышенные концентрации F1+2 могут быть обнаружены при всех заболеваниях, где имеет место активация образования тромбина. К ним можно отнести:

- тромбозы;
- легочная эмболия;
- инфаркт миокарда;
- осложнения беременности;
- преэклампсия;
- эклампсия;
- все состояния, протекающие с синдромом ДВС.

У больных с врожденным дефицитом АТIII, протеина С, высокие концентрации F1+2 могут быть следствием дефицита естественных ингибиторов свертывания.

Применение непрямых антикоагулянтов при лечении подобных состояний приводит к снижению уровня F1+2. Следовательно, возможно использование определения F1+2 при приеме оральных антикоагулянтов. Определение F1+2 целесообразно при лечении низкомолекулярным гепарином, так как антикоагулянтный эффект связан с ингибированием протромбинового комплекса.

Таким образом, определение фрагментов протромбина F1+2 возможно для:

1. Диагностики протромботического состояния.
2. Диагностики синдрома ДВС.
3. При терапии оральными антикоагулянтами.
4. Косвенного суждения о гипертромбинемии

Определение Д-димера — одного из продуктов деградации фибрина под действием плазмина в последнее время стало использоваться наиболее широко из-за относительной простоты метода и высокой чувствительности особенно при иммуноферментной технике определения (латекс-тест выполняется в полуколичественном варианте).

Ввиду неспецифичности ПДФ-определения Д-Димер также требует клинической интерпретации (может быть повышен при ДВС, тромбозах, лечебном тромблизисе, серповидно-клеточной анемии и др.). Отсутствие Д-димер при клиническом подозрении на тромбоз легочной артерии позволяет опровергнуть этот диагноз с высокой степенью достоверности (рис. 36, 37).

Относительно прогноза развития тромбоза осложнений с помощью Д-димера следует отметить, что в диагностике проксимального ТГВ и ТЭЛА чувствительность его превышает 90%. Однако, это верно лишь в том случае, когда Д-димер определяется иммуноферментным методом и концентрации его очень высокие (более 500нг/мл). В то же время нормальные концентрации Д-димера столь же достоверно свидетельствуют об отсутствии тромботического процесса.

Чувствительность определения Д-димера методом латекс-агглютинации, который является полуколичественным, значительно ниже. Тем не менее, этот метод позволяет наряду с другими тестами судить о наличии ДВС, активации фибринолиза.

Все перечисленные выше молекулярные маркеры, отражающие состояние прокоагулянтной системы, системы фибринолиза, а также тромбоцитарного звена, требуют наличия хорошо оснащенной лаборатории с автоматическими системами. Такие маркеры в ряде сложных случаев могут быть полезны для проведения дифференциального диагноза ДВС (например, первичный фибринолиз, тромбоцитическая тромбоцитопеническая пурпура и пр.).

3. Диагностика ДВС-синдрома (коагулопатия потребления)

Хотя диагностика ДВС на сегодняшний день не может основываться на результатах общеоценочных тестов, тем не менее, и использование изолированно тех или иных молекулярных маркеров не дает возможности однозначно поставить диагноз ДВС. Необходимо, при лабораторной диагностике ДВС использовать данные об активации прокоагулянтной системы, состоянии фибринолитической системы, потреблении естественных ингибиторов свертывания и, наконец, в некоторых случаях, об органной недостаточности помимо клинических. Основываясь на этих принципах R.Vick et al. в 1998 году были предложены следующие критерии лабораторной диагностики ДВС (табл. 35).

Достаточными критериями лабораторной диагностики ДВС является наличие, по меньшей мере, одного аномального значения показателей тестов в группах I, II, III и, по меньшей мере, двух аномальных значений — в группе IV (табл. 35).

Критерии лабораторной диагностики ДВС по R. Bick et al. 1998.

Тесты на выявление прокоагулянтной активации (группа I)

Повышенные уровни

- а) F1+2
- б) фибринопептида А
- в) фибринопептида В
- г) ТАТ
- д) Д-димера

Тесты на выявление активации фибринолиза (группа II)

Повышенные уровни:

- а) Д-димера
- б) ПДФ (X-Y фрагменты)
- в) плазмина
- г) комплексов плазмин-антиплазмин (РАР)

Тесты на выявление потребления ингибиторов (группа III)

Снижение уровней:

- а) АТ III
- б) а2-антиплазмин
- в) гепарин-кофактора II
- г) протеинов С и S

Повышение уровней:

- д) комплексов ТАТ
- е) комплексов РАР

Тесты на выявление повреждения органов и полиорганной недостаточности (группа IV)

Повышение уровней:

- а) ЛДГ
- б) креатинина

Снижение уровней:

- в) рН
- г) рАО2

Наряду с перечисленными тестами обнаружения промежуточных и конечных этапов активации тромбиногенеза и фибринообразования в алгоритме обследования непосредственное значение имеют методы исследования агрегационной активности тромбоцитов, активации плазменных факторов свертывания крови и звена ингибиторов свертывания и фибринолиза. Прогностическое значение указанных тестов различно для диагностики разных форм ДВС-синдрома. Нам представляется, что оценка коагуляционного звена гемостаза с помощью общеоценочных форм тромбоэластографии, суммарной активности факторов свертывания для диагностики хронических форм течения ДВС-синдрома имеет вероятностное значение; непосредственное значение эти тесты имеют для оценки коагулопатии при подострых и острых формах ДВС-синдрома. Тем не менее, состояние общекоагуляционного потенциала свертывания — необходимая характеристика сохранности компонентов свертывания крови, которую надо учитывать при назначении и контроле лечения противотромботическими препаратами у больных с хроническими

формами ДВС-синдрома. Одностороннее ошибочное представление о том, что укорочение хронометрических параметров некоторых тестов плазменного компонента гемостаза, таких как АВР, АЧТВ и ТЭГ свертывания цельной крови может быть признаком первой фазы ДВС-синдрома, отвергаются современными данными о характере циркуляторной адаптации системы гемостаза у беременных.

Прямые признаки активации плазменного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза, а также количественные характеристики коагулопатии потребления оказались наиболее важными признаками подострых форм ДВС-синдрома. По времени появления и чередования отдельных фаз потребления компонентов свертывания крови их можно последовательно распределить в таком порядке: первыми вероятностными проявлениями коагулопатических тенденций могут быть признаки тромбоцитопатии, тромбоцитопении. Затем могут обнаруживаться признаки нарушения суммарной активности факторов свертывания крови, также имеющие определенную очередность: АВР, АЧТВ, снижение протромбинового индекса (ПИ) и значительно позже может иметь место уменьшение концентрации фибриногена. Воспроизводимости показателей тромбоинового и рептилазного времени для оценки степени коагулопатических тенденций при подострых формах ДВС-синдрома отмечено не было. Вероятно, это связано с тем, что на величину тромбоинового и рептилазного времени оказывают влияние несколько факторов, таких как ПДФ, концентрации фибриногена. Поэтому тесты РВ и ТВ можно рассматривать как ориентировочные и требующие уточнения причин гипокоагуляции (гипофибриногенемия, высокие уровни ПДФ или гепарина в крови).

Прогнозирование возможных срывов адаптивных механизмов системы гемостаза и осложнений, связанных с развитием и прогрессированием синдрома ДВС в акушерстве представляет наибольший интерес для клинико-лабораторной диагностики. Доклинические нарушения адаптивных механизмов системы гемостаза во время беременности и скрытые врожденные дефекты тромбофилической направленности могут явиться премоурбидным фоном развития патологической активации тромбоиногенеза, что повышает значение прогнозирования и диагностики ДВС-синдрома в акушерстве. Классические острые формы ДВС-синдрома чаще всего развиваются в результате массивной активации системы гемостаза и декомпенсации защитных механизмов противосвертывающей системы при таких осложнениях, как эмболия околоплодными водами, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, в результате септического шока или шоках другой этиологии (см. табл. 36).

Таблица 36.

Принципы дифференциальной диагностики разных форм ДВС-синдрома в акушерстве.

Вероятные клинические проявления и осложнения	Клиническая форма ДВС-синдрома	Гемостазиологические признаки
<ul style="list-style-type: none"> — Массивное кровотечение — ПОНРП — Эмболия околоплодными водами — Септический шок — Постгеморрагический шок — Другие виды шоков 	Острая форма ДВС III фаза	<ul style="list-style-type: none"> — реальная гипокоагуляция (удлинение Ivy, Lee-White, ВР, АВР, АЧТВ, ТВ/РВ, г+к, ТЭГ, протромбинового времени, активности факторов свертывания крови и фибриногена) — потенциальная гиперактивность гемостаза (пробы переноса на ТЭГ) — тромбоцитопения, тромбоцитопатия потребления

Вероятные клинические проявления и осложнения	Клиническая форма ДВС-синдрома	Гемостазиологические признаки
		<ul style="list-style-type: none"> — снижение активности и концентрации АТ III — РКМФ ложно(+) — ПДФ (X Y) > (D E) > D-Dimer — TAT max, АВТ/ВА ложно(+)
<ul style="list-style-type: none"> — гестоз тяжелой степени — сепсис — тяжелые формы эндометрита — неразвивающаяся беременность и задержки в матке погибшего плода — гемorragии/кровотечения при аборте, в родах и интраоперационное кровотечение 	Подострая форма ДВС I фаза	<ul style="list-style-type: none"> — гиперактивность системы гемостаза (ТЭГ, КАТтэг) — начальные признаки коагулопатии потребления (удлинение АВР, АЧТВ) — уменьшение активности АТ III и концентрации (умеренное) АТ III — увеличение TAT — тромбоцитопатия/тромбоцитопения потребления — РКМФ (+) и ложно(-) — TAT > ПДФ(X Y) > (D E) — D-dimer min — ВА/АВТ ложно (+) и (-)
<ul style="list-style-type: none"> — нарушение адаптации системы гемостаза тромбофилического характера — гестоз — плацентарная недостаточность — хроническая гипоксия плода — АФС (ВА) — скрытая тромбофилия — экстрагенитальные заболевания — послеродовой/послеоперационный период — гнойно-септические осложнения 	Хроническая форма ДВС I фаза	<ul style="list-style-type: none"> — реальная гиперкоагуляция — укорочение или нормальные значения Lee-White, ВР, АВР, АЧТВ, ТВ/РВ, r+k (ТЭГ), протромбинового времени — повышение активности факторов свертывания крови — ↑TAT, Д-димера, F₁₊₂, РКМФ — ↓АТIII

Хронические формы ДВС-синдрома, не имея специфической симптоматики при достаточно продолжительном прогрессировании нарушений микроциркуляции в организме беременной, могут явиться причиной селективного поражения отдельных органов и систем, что проявляется соответствующими нарушениями функции внутренних органов, центральной нервной системы, фетоплацентарного комплекса, а также признаками микро- и макротромбоза. Вероятность предположительного клинического диагноза развития ДВС-синдрома на всех этапах наблюдения за больными необходимо объективизировать с помощью специальных исследований и критического анализа нарушений циркуляторной адаптации системы гемостаза.

Полученные данные свидетельствуют, что острые и подострые форма ДВС-синдрома могут переходить в хронические после купирования коагулопатии потребления, при которых риск повторного прогрессирования ДВС-синдрома сохраняется.

Коагуляционные методы исследования при ДВС-синдроме имеют различную степень специфичности выявления коагулопатических тенденций. Традиционно коагуляционные тесты в исследовательских целях применяются для выявления причин геморрагических диатезов. В классической гемостазиологии обнаружение дефицита большинства факторов свертывания крови, фибриногена и гепаринемии проводится именно с помощью коагуляционных методов. Для диагностики глубоких нарушений свертывания крови при острых и подострых формах (III и II фазы) ДВС-синдрома коагуляционные методы также приемлемы. Эти свойства методов исследования основаны на их способности к обнаружению таких зачастую последовательных фаз развития, как снижение суммарной активности факторов свертывания крови (удлинение ВР, АВР, АЧТВ, удлинение тромбoplastинового времени, снижение протромбинового индекса (ПИ)) и гипофибриногемии (определение концентрации фибриногена, тромбиновое и рептилазное время и их аналоги). Достоверность изменений отдельных тестов гемостаза зависит от состояния выраженности нарушений в плазменном звене системы гемостаза. Вероятность такого прогноза обусловлена в первую очередь тем, что указанные методы являются более специфичными для целей диагностики геморрагических диатезов, чем для выявления тромбофилических состояний. Поэтому утверждение о том, что укорочение хронометрических параметров свертывания может иметь место при ДВС-синдроме, протекающем в хронической форме (I фазе ДВС), не может считаться полностью справедливым. Корректнее высокий коагуляционный потенциал крови рассматривать как состояние потенциально опасное развитием тромбоэмболии или ДВС-синдрома.

Выявление коагулопатического состояния требует дифференцировать удлинение хронометрических параметров, вызванное дефицитом факторов свертывания, истраченных в процессе активации внутрисосудистого тромбообразования, от возможного эффекта гепарина и других антикоагулянтов. Для этих целей используется оценка соотношения тромбинового и рептилазного времени. Оба теста способны выявлять разной степени дефицит фибриногена и влияния ПДФ на время свертывания. Различие состоит в том, что рептилазное время не удлинится при выраженных уровнях гепаринемии. Поэтому удлинение ТВ/РВ в качестве скрининга следует рассматривать как вероятный признак коагулопатии потребления (по возможности исключить другие причины), а удлинение ТВ и нормальное РВ как признак гипергепаринемии. Следует отдельно указать, что введение гепарина на фоне коагулопатии потребления, вызванной острым или подострым течением ДВС, выявляется с большим трудом или может быть не установлено даже с помощью дополнительных методов (например, пробы переноса по Raby). При этом тесты нейтрализации гепарина протамин-сульфатом малоэффективны.

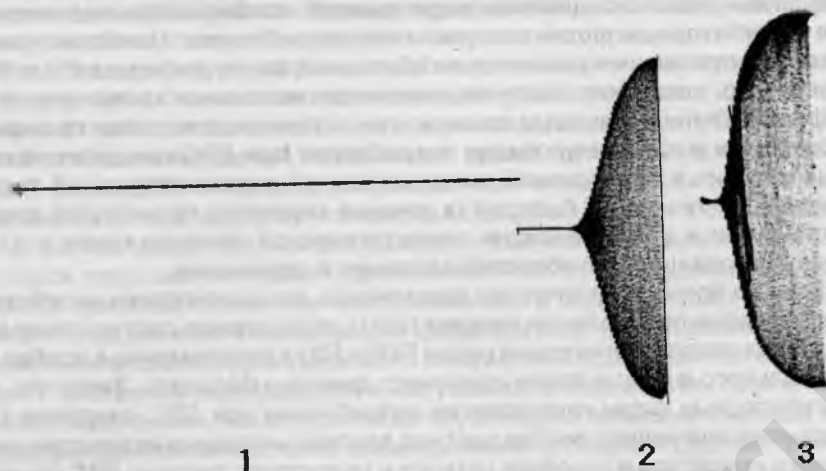
Известно, что при подострых и особенно острых формах течения (II и III фазы) ДВС, имеет место различной степени выраженности потребление факторов свертывания крови вплоть до потребления фибриногена (клинико-лабораторные признаки этого процесса уже рассматривались ранее). Значение выявления прогрессирующего дефицита отдельных факторов свертывания крови для клинических задач имеет второстепенное значение по сравнению с глобальными коагуляционными тестами гемостаза. Возможным объяснением такого подхода к приемлемости исследования активности отдельных факторов свертывания крови можно считать то, что при ДВС-синдроме, как правило, развивается дефицит многих факторов свертывания. Трудоемкость мониторинга за параметрами активности отдельных факторов свертывания сводят на нет получаемую в результате исследования информацию. А использование компонентов крови и плазмы в качестве заместительной терапии, причем неоднократное, в условиях проведения реанимационных и трансфузионных мероприятий ведет к уменьшению значения оценки дефицита факторов свертывания крови как ретроспективной констатации факта очевидной коагулопатии потребления.

Иное значение определение активности факторов свертывания крови имеет при проведении реабилитационных мероприятий, особенно при подозрении на развитие ингибиторных форм коагулопатии потребления. Наиболее частыми классическими примерами развития ингибиторных форм дефицита VIII и IX факторов могут быть состояния после перенесенных массивных кровотечений и гемотрансфузий. Отличительными клинико-гемостазиологическими проявлениями ингибиторных форм коагулопатии потребления при ДВС-синдроме являются резистентность их к проводимой антипротеазной и заместительной терапии, рецидивирующее течение с быстрой (в течение короткого промежутка времени) фаз компенсации и декомпенсации гемостатической функции крови и относительно редуцированное тромбинообразование в организме.

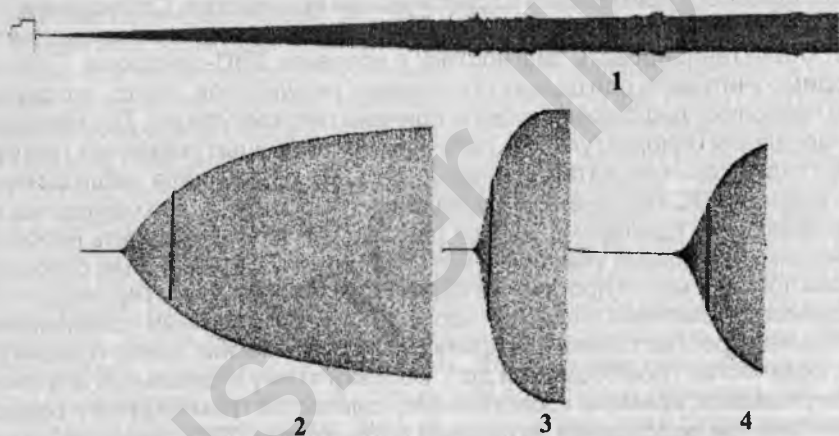
В настоящее время практическое применение для диагностики ингибиторных форм коагулопатии потребления находят тесты определения соотношения активности факторов свертывания крови (чаще FVIII и FIX) одновременно в пробах плазмы крови больного и смеси плазм здорового донора и больного. Зачастую, выявление ингибиторных форм коагулопатии потребления при ДВС-синдроме по самостоятельному значению преобладает над другими методами исследования коагуляционного гемостаза в условиях острого и подострого течения ДВС синдрома.

Следует отдельно рассмотреть значение наиболее простых тестов системы гемостаза, как время свертывания крови по Lee White, время кровотечения и т.д., относительная доступность, простота и дешевизна которых делает их привлекательными для широкого применения в практическом акушерстве. Соблюдение определенных ограничений по применению и трактовке результатов указанных тестов позволяет объективизировать диагностику в условиях ДВС-синдрома. Главное, что необходимо учитывать при оценке получаемых результатов, это то, что данные методы не позволяют дифференцировать причины гипокоагуляции. Достоверные признаки нарушения гемокоагуляции, получаемые с помощью указанных тестов, зачастую выглядят как «констатация очевидного». На самом деле наблюдаемые при острых формах ДВС клинические проявления геморрагического синдрома по времени развиваются одновременно или раньше, чем можно получить необходимую информацию с помощью указанных методов. Более справедливым отношением к вопросам приемлемости простых методов исследования вероятно следует считать необходимость трактовки значимых нарушений с обязательным привлечением дополнительных простых оценочных критериев (гепаринемии, концентрации фибриногена, количества тромбоцитов и др.). Вопреки этому нормальные значения времени свертывания, времени кровотечения, количества тромбоцитов и содержания фибриногена при подозрении на наличие острых форм ДВС-синдрома, позволяют искать причины кровотечения в другом.

Тем не менее, рутинные методы можно использовать при недостаточной оснащенности диагностических служб экспресс лабораторий акушерских стационаров или операционных, что не редкость в практических учреждениях. Одной из практически значимых проблем могут быть многие вопросы, связанные с дифференциальной диагностикой причин массивных кровотечений у больных с врожденными формами геморрагических диатезов. Лежащие в основе склонности этих больных к кровотечениям дефекты системы гемостаза врожденного характера не исключают развития и прогрессирования ДВС-синдрома при основных формах акушерских осложнений, таких как гестоз тяжелой формы, ПОНРП, эмболия околоплодными водами и т.д. Дефект гемостаза геморрагической направленности может дезориентировать врачей в оценке причин декомпенсации гемостатических свойств крови. При ДВС на смену дифференцированному, как правило, одному нарушению, приходят множественные нарушения, развивающиеся вследствие коагулопатии потребления. Стандартная, ранее эффективная, заместительная терапия препаратами плазмы становится бесполезной и в итоге приводит к еще большей декомпенсации гемостатических свойств крови из-за продолжающегося прогрессирования коагулопатии потребления и кровопотере.



А) 1 — реальная гипокоагуляция у больной с острой формой ДВС синдрома; 2. — ТЭГ донора; 3. — ТЭГ смеси плазмы донора и больной $r+k$ (донора) $> r+k$ (смеси).



Б) 1 — реальная гипокоагуляция исследуемой плазмы; 2 — донор; 3 — потенциальная гиперкоагуляция $r+k$ смеси/2+k донора < 2 ; 4 — гепаринемия $2+k$ смеси/ $r+k$ донора > 1.5 .

Рис. 38. Проба переноса по Raby.

Все сказанное ранее и определяет высокую значимость своевременной диагностики ДВС-синдрома у беременных, рожениц и родильниц, страдающих геморрагическими заболеваниями. Следует оговориться, что, как правило, главные характеристики основного врожденного геморрагического заболевания хорошо известны. К моменту родоразрешения даже простые обследования (общеоценочные тесты) позволяют с достаточной степенью достоверности судить об адекватности процессов гестационной адаптации системы гемостаза, и если она недостаточная — ставить вопрос о заместительной терапии. Таковыми чаще всего могут быть те мероприятия, которые обычно следует проводить накануне родов у этого контингента больных. Как правило, обследования на предмет раннего обнаружения начальных этапов ДВС-синдрома не проводятся, за исключением беременных и рожениц с гестозом. Необходимость дифференцировать врожденный дефект системы гемостаза и приобретенные множественные нарушения в отдельных звеньях

гемостаза при ДВС-синдроме возникают чаще всего уже при начавшемся кровотечении. При этом коагулопатические тенденции не позволяют применять такие тесты обнаружения мономеров фибрина и ПДФ как этаноловый, протамина-сульфатный и феноantroлиновый из-за низкого содержания фибриногена (т.е. из-за вероятности ложноотрицательных результатов тестов). Более информативными могут явиться тесты определения ПДФ (тест склеивания стафилококков) и мономеров фибрина, основанных на иммунологических реакциях. Кроме этого проведение пробы переноса по Raby позволяет с высокой степенью точности определить причину гипокоагуляции (рис. 38).

Более эффективными мероприятиями прогнозирования ДВС-синдрома накануне родов следует считать определение наиболее ранних маркеров тромбинемии фрагментов протромбина F1+2 и неактивного комплекса тромбин-антитромбин III (ТАТ), а также Д-димер, ПДФ. Ограничения, связанные с применением противотромботических препаратов у больных с геморрагическими заболеваниями врожденного генеза, и реальный риск ятрогенных осложнений еще в большей степени увеличивает значимость мониторинга за системой гемостаза накануне родов или операции кесарева сечения. Из препаратов, способных оказывать антипротеазное действие в отношении активированных при прогрессировании ДВС факторов свертывания крови и тромбина, в арсенале для этих больных остаются ингибиторы протеаз (контрикал, гордокс, трасилол, антагазан и др.), а также гемостатические препараты (трансамча и дицинон). Поэтому мониторинг за параметрами гемостаза и маркерами ДВС может объективизировать выбор наиболее эффективного периода их профилактического и лечебного применения.

Ведение послеродового и послеоперационного периода у больных с врожденными формами геморрагических диатезов, перенесших массивное акушерское кровотечение, представляет определенные трудности. Это связано с тем, что даже после успешного купирования тромбинемии и коагулопатии потребления при острых и подострых формах ДВС-синдрома в послеродовом периоде может проявиться основной врожденный дефект системы гемостаза. Вероятность рецидива кровотечения и повторных хирургических вмешательств при этом велика из-за того, что вопрос о профилактическом применении гемостатической терапии и средств заместительной коррекции врожденного дефекта гемостаза в этот период своевременно не был поставлен. В этих случаях у больных с геморрагическими диатезами врожденного характера наряду с мониторингом за общеоценочными параметрами свертывания крови важное место приобретает мониторинг за лабораторными изменениями с помощью специальных тестов гемостаза (факторы свертывания крови, фактор Виллебранда, функциональная активность тромбоцитов и т.д.). Для поддержания эффективной гемостатической функции крови в послеродовом и послеоперационном периодах необходимо периодически восполнять недостающие компоненты системы гемостаза, утилизация которых у родильниц, перенесших ДВС, может быть повышенной. Это и определяет важность выполнения специальных исследований в период завершения репаративных процессов в области плацентарной площадки и послеоперационных швов.

При этом не следует пренебрегать исследованием маркеров ДВС-синдрома, так как при развитии послеродовых гнойно-септических заболеваний возможно повторное прогрессирование ДВС-синдрома, требующее применения кроме препаратов свежезамороженной плазмы и гемостатиков дополнительно и больших доз ингибиторов протеаз. Значение перечисленных методов контроля за маркерами тромбообразования, фибринообразования и оценки степени выраженности коагулопатических нарушений еще усиливается в связи с тем, что до момента развития кровотечения многие из них не имеют специфической симптоматики.

Особое место в диагностике нарушений свертывания крови, связанных с ДВС-синдромом, занимают вопросы дифференциальной диагностики врожденных, наследственно обусловленных дефектов гемостаза, имитирующих срыв

компенсации гемостатической функции крови в родах, во время операции кесарева сечения и в послеродовом периоде, а также особых состояний расходования компонентов свертывания крови в результате разрывов мягких тканей родовых путей и ранения сосудов, в результате чего декомпенсация гемостаза развивается из-за кровопотери и не связана с внутрисосудистым свертыванием (табл. 37). По объективным причинам диагностика этих состояний существенно затруднена. Проводимая гемотрансфузия, инфузионная терапия и применение гемостатических препаратов могут значительно изменить показатели свертывания крови и так же затруднить диагностику причин нарушения гемостаза. Например, при синдроме Виллебранда и развитии ДВС-синдрома в результате тяжелой формы гестоза, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты или анафилактического шока клинически эффективная заместительная терапия и применение ингибиторов протеаз может только временно нормализовать дефект гемостаза и стабилизировать его лабораторные показатели. Недооценка риска ДВС-синдрома у беременных с наследственными дефектами системы гемостаза может приводить к чередованию проявлений коагулопатии потребления и геморрагических проявлений основной врожденного дефекта гемостаза в качестве двух главных причин рецидива кровотечения.

Таблица 37.

Алгоритм дифференциальной диагностики коагулопатий, не связанных с ДВС-синдромом в акушерстве.

Вероятные клинические проявления и осложнения	Коагулопатия/тромбофилия	Гемостазиологические признаки
<ul style="list-style-type: none"> — нарушение адаптивных изменений геморрагического характера — гипотоническое кровотечение — кровотечение при травмах шейки матки и родовых путей — повреждение сосудов — патология соединительной ткани 	Коагулопатия потребления	<ul style="list-style-type: none"> — нормокоагуляция — гипокоагуляция — ТАТ, ПДФ, Д-димер min — РКМФ (-)
<ul style="list-style-type: none"> — мено-метроррагии — кровоточивость или кровотечение — плохое заживление ран, келоидные рубцы — геморрагии у родственников — возможно отсутствие геморрагического анамнеза 	Наследственная коагулопатия	<ul style="list-style-type: none"> — изо-нормокоагуляция — гипокоагуляция — отсутствие маркеров тромбинемии (ТАТ) и фибринообразования (ПДФ) — нарушение/отсутствие адаптивных изменений гемостаза во время беременности — дефицит факторов свертывания крови и FVW — тромбоцитопатия
<ul style="list-style-type: none"> — тромбозы как осложнение беременности, родов, операций — самопроизвольные тромбозы — инфаркт/инсульт 	Тромбофилия	<ul style="list-style-type: none"> — дефицит активности и концентрации АТ III, PrC<PrS, aPrCR — ВА/АВТ(+) — нарушение фибринолиза — патология сосудов и эн-

Вероятные клинические проявления и осложнения	Коагулопатия/ тромбофилия	Гемостазиологические признаки
<ul style="list-style-type: none"> — тромботические поражения внутренних органов — сердечно-сосудистые заболевания — гиперлиппротеинемия Ла — отсутствие симптомов 		<ul style="list-style-type: none"> дотелия сосудов (манжеточные пробы) — ТАТ > ПДФ (D E) = D-dimer — дисфибриногенемия

Большинство проблем диагностики при подострых формах ДВС-синдрома возникает из-за того, что при ДВС за короткий период времени происходит последовательная смена фаз патологической активации гемостаза и срыв компенсаторных адаптивных изменений с развитием начальных признаков коагулопатии потребления — переход I компенсированной фазы во II — декомпенсированную фазу активации гемостаза. В практическом акушерстве вариабельность получаемой информации может быть связана с развитием кровотечения, усугубляющим проявления коагулопатических тенденций из-за потери компонентов свертывания, применением лекарственных средств для купирования тромбинемии и заместительной коррекции коагулопатии и крововосполнения кровопотери. В этих условиях адекватность использованных методов исследования определялась возможностью оценивать прямые признаки тромбинемии и фибринообразования, степень реальной и скрытой активации системы гемостаза, масштабы коагулопатии и тромбоцитопатии потребления, сочетаться с проявлениями геморрагического синдрома и требует дифференциальной диагностики с наследственными формами коагулопатии и ятрогенными нарушениями (см. таблицу 37).

В разработанном нами алгоритме обследования на первом этапе за основу характеристики разных форм течения ДВС-синдрома принимали исключительно лабораторные признаки реальной I фазы и скрытой гиперактивности отдельных звеньев системы гемостаза, прямые признаки тромбинемии и фибринообразования — ТАТ и ПДФ, причем важное значение имели оценка ранних высокомолекулярных X' Y фрагментов ПДФ для характеристики остроты процесса активации системы гемостаза, так как для хронических форм ДВС-синдрома характерно преобладание низкомолекулярных фрагментов ПДФ D' E, а также D-димер. Степень декомпенсации гемостатической функции крови необходимо оценивать для характеристики масштабов коагулопатии потребления — II—III фазы ДВС. При этом использовались общепринятые тесты оценки суммарной активности факторов свертывания крови АВР, АЧТВ, ПИ, тесты оценки функциональной активности тромбоцитов на агрегометре. В случае выраженных коагулопатических нарушений использовались тесты двойной тромбоэластографии плазмы, содержащей тромбоциты и бестромбоцитарной плазмы, позволяющие оценить коагулянтную активность тромбоцитов при тромбоцитопении потребления, когда обычные методы исследования агрегации тромбоцитов невозможно применять из-за ограничений метода.

Пробы переноса на тромбоэластографе кроме дифференциальной оценки масштабов скрытой (потенциальной) гиперактивности системы гемостаза при острых формах ДВС-синдрома позволяют с высокой степенью достоверности обнаружить гепаринемию как причину гипокоагуляции и возможных геморрагических проявлений.

Более редкими причинами геморрагических диатезов, требующих дифференциальной диагностики с синдромом ДВС, могут быть врожденные заболевания, связанные с повышенной ломкостью сосудов — синдром Марфана, Элерс-Данло и другие, при которых кровотечение вызвано травмой сосудов тканей родовых путей. В результате разрывов шейки матки, своевременно не лигирован-

ного сосуда тканей родовых путей развивается кровотечение, что может повлечь необоснованную гипердиагностику острых форм ДВС-синдрома. При длительном кровотечении может развиваться коагулопатия расщедования компонентов свертывания, очень напоминающая острую форму ДВС-синдрома. Поэтому наиболее важной характеристикой коагулопатического кровотечения и коагулопатии в частности, следует считать наличие признаков активации тромбиногенеза и фибринообразования, их отсутствие свидетельствует о коагулопатии другого генеза.

В специальной литературе, посвященной различным аспектам патогенеза ДВС-синдрома, имеется большой выбор рекомендаций по диагностике активации системы гемостаза, имеющих неодинаковую специфичность в определении формы ДВС-синдрома, среди которых указываются такие признаки как РКМФ, мономеры фибрина, высокомолекулярные фрагменты ХУ ПДФ.

Врожденные дефекты гемостаза и тромбоцитов обычно имеют соответствующий геморрагический анамнез, критическим анализом которого не следует пренебрегать в сложных ситуациях, имеющих геморрагические проявления, подобные коагулопатии потребления.

Развитие коагулопатии расщедования в результате кровопотери может существенно отличаться от коагулопатии потребления тем, что при продолжающемся кровотечении и неэффективности хирургического гемостаза в крови практически не обнаруживается ПДФ или могут быть обнаружены низкомолекулярные D и E фрагменты ПДФ в умеренном количестве, нехарактерном для острых и подострых форм ДВС-синдрома. Следующими важными признаками расщедования компонентов свертывания крови в динамике обследования могут быть признаки временного стабилизирующего эффекта от восполнения кровопотери и заместительной терапии препаратами свежезамороженной плазмы. Продолжающееся кровотечение, не являясь коагулопатическим, может повторно декомпенсировать свертывание крови пока не установлена и не ликвидирована причина кровопотери. В этих условиях очень часто повторный осмотр шейки матки и лигирование поврежденного сосуда или ушивание разрывов мягких тканей оказывает положительный эффект, предотвращая кровотечение и повторное развитие коагулопатии расщедования. После восстановления хирургического гемостаза признаки тромбинемии и фибринообразования крови отсутствуют, отмечается стойкая нормализация показателей коагуляционного гемостаза, исключая вероятность прогрессирования ДВС-синдрома.

В случаях сочетания острых или подострых форм ДВС-синдрома с наследственными дефектами гемостаза до проведения заместительной терапии и купирования тромбинемии с помощью поливалентных ингибиторов протеаз в крови отмечается множественный дефицит факторов свертывания крови, признаки тромбоцитопатии и тромбоцитопении, высокое содержание ранних высокомолекулярных ПДФ. После купирования коагулопатии потребления может иметь место более быстрое выведение экзогенного фактора, имевшегося ранее в дефиците, что обусловлено нестабильностью гемостатической функции крови после геморрагического шока. Поэтому период эффективного восполнения дефекта гемостаза следует соотносить со временем периода полувыведения дефицитного фактора из крови для предупреждения рецидива кровотечения.

Недостаточное купирование врожденного и приобретенного дефекта гемостаза, по мнению многих исследователей данной проблемы, может стать причиной геморрагических осложнений, если своевременно не оценить характер и степень коагулопатии. Известно, что беременность по мере прогрессирования приводит к компенсации имевшегося ранее врожденного дефекта гемостаза за счет адаптивных изменений, направленных на увеличение потенциала свертывания крови. В послеродовом периоде эти изменения могут подвергаться обратному развитию, что нередко приводит к неадекватной реакции даже на небольшую по объему кровопотерю, или геморрагии могут развиваться в связи с неполноценностью репаративных процессов в области раны и плацентарной площадки.

Перечисленные факторы могут быть причиной, затрудняющей дифференциальную диагностику ДВС в послеродовом периоде, что необходимо учитывать для полноценной диагностики в практике акушерского стационара.

Одним из нередких осложнений недостаточной диагностики нарушений свертывания при ДВС-синдроме и связанной с этим неэффективной тактикой гемотрансфузии и заместительной терапии дефекта системы гемостаза могут явиться посттрансфузионные осложнения с нарушением микроциркуляции жизненно важных органов, острой недостаточности функции этих органов, а также ингибиторные формы вторичных геморрагических осложнений, в основе которых лежит появление в крови аутоантител к факторам свертывания крови.

Непосредственной причиной рецидива кровотечений при появлении в крови аутоантител к факторам свертывания крови и ингибиторной формы коагулопатии не является ДВС-синдром, что необходимо учитывать при купировании коагулопатии у больных с аутоиммунными заболеваниями, коллагенозами и посттрансфузионным шоком резистентным к заместительной терапии. Принцип определения ингибиторов факторов свертывания и аутоантител основан на сравнительной оценке активности соответствующего фактора свертывания в смеси исследуемой плазмы и нормальной донорской плазме после предварительной инкубации в равнозначных условиях.

Выявление ингибиторных форм имеет важное значение для исключения ДВС-синдрома как причины рецидива геморрагий и дополнения терапии глюкокортикоидами.

Таким образом, вопросы диагностики нарушений свертывания крови в акушерстве, связанные с развитием тромбогеморрагических осложнений, в основе которых лежит патологическая активация внутрисосудистого свертывания крови по типу ДВС-синдрома многообразны.

4. Исследование тромбоцитарного звена системы гемостаза

Задачи исследования тромбоцитарного звена системы гемостаза определяют конкретную клиническую ситуацию и преследуют следующие цели: 1) выявление гиперактивности тромбоцитов в диагностике тромбофилического состояния и синдрома ДВС, протекающего в хронической форме (I фаза) с активацией тромбоцитарного звена системы гемостаза; 2) дифференциальную диагностику при геморрагическом диатезе, причиной которого может быть наследственная или приобретенная тромбоцитопатия (тромбоцитопения) вследствие развития подострых и острых форм ДВС-синдрома (II—III фазы); 3) контроль антиагрегантной терапии, как компонента противотромботической терапии при ДВС-синдроме (I фаза).

Помимо диагностической значимости, исследование тромбоцитарного звена системы гемостаза может стать необходимым для контроля за эффективностью терапии антиагрегантами (ингибиторами функции тромбоцитов), которая в настоящее время занимает видное место в лечении болезней, протекающих с синдромом ДВС. Важное значение для прогнозирования риска развития ДВС-синдрома в акушерстве имеет контроль за всей системой гемостаза, включая тромбоцитарное звено, а также у больных при критических состояниях и шоках.

Повышение агрегационно-адгезивной функции тромбоцитов является фактором, предрасполагающим к развитию тромбозов, образованию агрегантов тромбоцитов, способных блокировать кровоток в капиллярах и вызывать нарушения транскапиллярного обмена. Угнетение функции тромбоцитов, их гемостатической, агрегационно-адгезивной активности рассматриваются как фактор, предрасполагающий к развитию кровоточивости, что особенно важно учитывать при развитии подострых и острых форм ДВС-синдрома.

Активация функции тромбоцитов происходит при нарушении стенки кровеносного сосуда и контакте с компонентами тканей субэндотелия, куда входят коллаген,

микрофибриллы, соединительная ткань. При этом тромбоциты меняют свою дискоидную форму на сферическую и приклеиваются к субэндотелию. Этот процесс адгезии происходит при наличии специфического белка плазмы — фактора Виллебранда, связанного с антигеном фактора VIII и гликопротеином I на мембране тромбоцитов.

Индукторами агонистами внутрисосудистой агрегации тромбоцитов являются АДФ, адреналин, тромбин и «фактор, активирующий тромбоциты», коллагеновые структуры соединительной ткани, которые взаимодействуют со специфическими рецепторами мембран тромбоцитов. Во внутрисосудистой агрегации принимают участие гликопротеины II и III, находящиеся на поверхности тромбоцитов, а также плазменный кофактор агрегации — фибриноген. Процесс агрегации тромбоцитов ведет к мобилизации кальция из внутриклеточных депо. Одновременно с этим происходит синтез циклических эндоперекисей простагландинов и тромбоксана A_2 из фосфолипидов тромбоцитарной мембраны путем взаимодействия фосфолипазы A_2 , а затем арахидоновой кислоты и циклооксигеназы.

Задачи лабораторной диагностики состоят в первую очередь в моделировании процессов активации тромбоцитов *in vitro* с помощью разных индукторов фундаментальной реакции тромбоцитов. Важное значение имеет также определение специфических тромбоцитарных компонентов, высвобождающихся в процессе активации — β -тромбоглобулин (β -TG) и антигепариновый фактор 4 тромбоцитов (PF 4), а также обнаружение циркулирующих агрегатов тромбоцитов в крови (Wu и Hook) (рис. 39).



Рис. 39. Активация тромбоцитов и высвобождение антигепаринового фактора 4 тромбоцитов и β -тромбоглобулина.

Методы исследования функции тромбоцитов воспроизводят основные этапы фундаментальной реакции тромбоцитов, которые могут происходить в организме *in vivo*. Для оценки гемостатической функции тромбоцитов *in vitro* применяют: 1) определение времени кровотечения; 2) радиоизотопное исследование времени жизни тромбоцитов (только при экспериментальных исследованиях); 3) определение циркулирующих агрегатов тромбоцитов; 4) количество тромбоцитов; 5) объем тромбоцитов; 6) адгезивность тромбоцитов; 7) ретракцию кровяного сгустка; 8) агрегацию

тромбоцитов при стимуляции АДФ, коллагеном, адреналином, тромбином, арахидоновой кислотой, серотонином, ристоцитином; 9) тромбоцитарный фосфолипид — фактор 3 тромбоцитов (PF 3); 10) фактор 4 (антигепариновый) тромбоцитов (PF4); 11) β -тромбоглобулин (β -TG); 12) коагулянтную активность тромбоцитов на ТЭГ и т.д.

Традиционно исследование тромбоцитарного звена системы гемостаза начинается с определения количества тромбоцитов в пробе венозной крови (в норме количество тромбоцитов колеблется в пределах $250—300 \times 10^9/\text{л}$). При динамическом контроле за пациентами с угрозой развития ДВС (острых и подострых форм) наиболее информативным может явиться внезапное уменьшение числа тромбоцитов (при использовании воспроизводимой техники подсчета). Это может свидетельствовать об их потреблении или разрушении в сосудистом русле. При стойкой тромбоцитопатии необходимо проводить дифференциальную диагностику наследственно обусловленных и приобретенных тромбоцитопатий и тромбоцитопений (аутоиммунные, аллоиммунные, трансиммунные, гетероиммунные формы) для диагностики коагулопатии потребления и врожденных геморрагических диатезов.

Наиболее простым и общедоступным методом исследования сосудисто-тромбоцитарного звена гемостаза является определение времени кровотечения — теста, демонстрирующего взаимодействие тромбоцитов с сосудистой стенкой. Этот показатель удлиняется при приобретенных и наследственно обусловленных тромбоцитопатиях, а также при лечении ацетилсалициловой кислотой и другими нестероидными противовоспалительными препаратами. Время кровотечения значительно удлинено при острых формах синдрома ДВС, когда сочетаются тромбоцитопатия и коагулопатия потребления.

Наиболее стандартизованным методом определения времени кровотечения является метод Ivy, который заключается в нанесении стандартных надрезов на кожу тыльной поверхности предплечья на глубину 1 мм в условиях стандартного давления (40 мм рт. ст.), создаваемого путем наложения манжетки манометра на область плеча. Метод определения времени кровотечения по Дюке с надрезами на мочке уха отличается худшей воспроизводимостью и меньшей точностью. В норме время кровотечения по колеблется в пределах 1—6 минут, по Дюке — от 1 до 3 минут.

Определение времени жизни тромбоцитов является одним из наиболее точных для диагностики ускоренного кругооборота, потребления и разрушения тромбоцитов (иммунными или не иммунными механизмами). Несмотря на высокую информативность этого метода, применение его в клинической практике весьма ограничено ввиду трудностей радиоизотопного исследования, при котором тромбоциты метятся C^{51} или I^{111} . В физиологических условиях продолжительность жизни тромбоцитов составляет 6—8 дней.

Существует и простой химический метод определения продолжительности жизни тромбоцитов, основанный на способности ацетилсалициловой кислоты ингибировать простагландинсинтетазу (циклооксигеназу) тромбоцитов и предупреждать таким образом образование из арахидоновой кислоты циклических эндоперекисей простагландинов и МДА. В связи с тем, что подавление простагландинсинтетазы ацетилсалициловой кислотой является необратимым процессом в течение времени жизни популяции тромбоцитов, находящихся в кровотоке, нормализация синтеза МДА при воспроизводстве необратимой агрегации тромбоцитов будет совпадать с периодом жизни тромбоцитов.

Информативным методом оценки функции тромбоцитов являются тесты, основанные на определении продуктов, секретлируемых тромбоцитами. К ним относятся компоненты α -гранул, содержание которых, как правило, повышается при внутрисосудистой активации тромбоцитов, их потреблении и разрушении, что наиболее часто бывает при различных формах синдрома ДВС (острых, подострых, хронических).

Определение отдельных компонентов — гранул тромбоцитов в кровотоке для диагностики ДВС основано на том, что при любом пусковом механизме в процесс свертывания вовлекаются тромбоциты, «фундаментальная» реакция которых про-



Рис. 40. Основные параметры агрегатограммы.

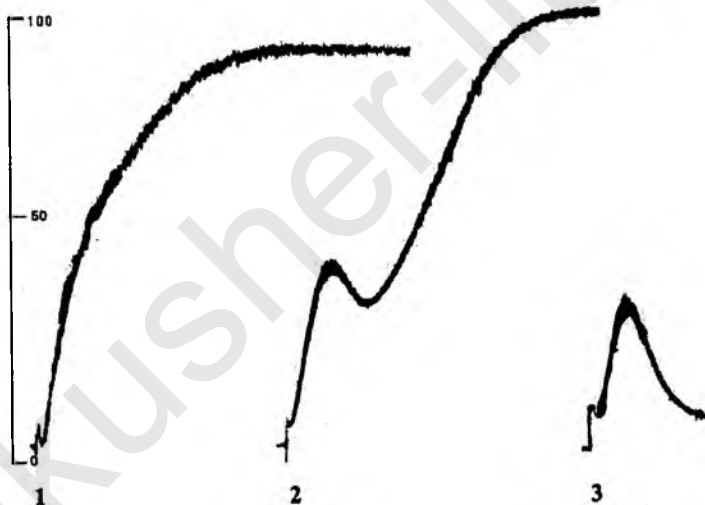
текает с высвобождением из тромбоцитов АДФ, серотонина и α -гранул (β -тромбоглобулина, фактора 4 тромбоцитов). Нормальное содержание β -тромбоглобулина в плазме составляет 20×10^{-12} — 35×10^{-12} г/л, у беременных с тяжелыми формами позднего токсикоза достигает 200×10^{-12} г/л, у больных с септическим шоком, преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты — 250×10^{-12} г/л и более.

В норме содержание 4 антигепаринового фактора составляет 4×10^{-12} — 6×10^{-12} г/л. Диагностическая значимость такая же, как и β -тромбоглобулина.

В клинической практике исследование агрегации тромбоцитов позволяет наиболее точно и быстро оценить реактивность тромбоцитов. Сущность исследования агрегации тромбоцитов на агрегометре заключается в фотоэлектрической регистрации изменений образца плазмы, богатой тромбоцитами, при добавлении индукторов агрегации. Полное представление о характере функциональной активности тромбоцитов дает исследование агрегации тромбоцитов с применением растворов различных биологических стимуляторов (АДФ в различных концентрациях, коллаген, адреналин, серотонин, тромбин, ристоцитин, арахидоновая кислота).

В начале исследования проводятся пробы с сильными индукторами (АДФ $1 \times 10^{-3} \text{М}$ и коллаген), которые дают возможность оценить максимальную способность тромбоцитов к агрегации. Далее следуют пробы с более слабыми индукторами, которые позволяют более детально оценить вторичную агрегацию тромбоцитов, динамику реакции высвобождения (АДФ $1 \times 10^{-5} \text{М}$, адреналин $1 \times 10^{-4} \text{М}$), а также оценить первичную агрегацию тромбоцитов и дезагрегацию тромбоцитарных агрегатов (АДФ $1 \times 10^{-7} \text{М}$, серотонин $1 \times 10^{-4} \text{М}$). Основными параметрами агрегатограммы являются интенсивность первичной ($T_{\text{ПА}}$), вторичной ($T_{\text{ВА}}$), максимальной ($T_{\text{МА}}$) агрегации и дезагрегации ($T_{\text{ДА}}$) (рис. 40). О динамике процесса агрегации на графике следует судить по углам наклона кривой агрегатограммы на этапе первичной агрегации ($\angle \alpha_1$), вторичной агрегации ($\angle \alpha_2$) и дезагрегации ($\angle \beta$). Характеристикой динамики реакции высвобождения эндогенных стимуляторов агрегации тромбоцитов является время латентного периода для коллаген-агрегации ($t_{\text{ЛП}}$) и время начала вторичной агрегации ($t_{\text{ВА}}$) в норме для двухфазных кривых агрегатограммы (АДФ 1×10^{-5} и адреналин) (см. рис. 41).

Основные параметры агрегатограммы можно интерпретировать только после предварительной оценки активности тромбоцитов по типам кривых агрегатограммы, которые обычно обозначаются как «необратимая», «обратимая», «двухфазная» агрегация (рис. 41) и отсутствие агрегации тромбоцитов. Важно также оценить укорочение или удлинение латентного периода коллаген-агрегации ($t_{\text{ЛП}}$) по сравнению с величиной этого показателя у здоровых людей.



- 1 — необратимая (монофазная) кривая;
 2 — двухфазная кривая;
 3 — обратимая (деагрегация) кривая.

Рис. 41. Типы кривых агрегатограммы.

Качественная оценка агрегатограмм позволяет не только диагностировать гипер- или гипореактивность тромбоцитов, но и предположить причины их возникновения. Для количественной регистрации различных типов агрегатограмм, что имеет значение как для практики, так и для научных исследований, следует вычислять следующие показатели: при необратимой агрегации — $T_{\text{ма}}$, ($t_{\text{ЛП}}$ для коллаген-агрегации); при двухфазной агрегации — $T_{\text{ма}}$, $T_{\text{па}}$, $T_{\text{да}}$, $t_{\text{ва}}$, $\angle \alpha_1$, $\angle \alpha_2$, из которых самыми информативными показателями являются $T_{\text{ва}}$, $\angle \alpha_2$ и $t_{\text{ва}}$; при обратимой агрегации — $T_{\text{ма}}$ и $T_{\text{да}}$. В таблице 38 представлены нормальные значения показателей агрегатограммы у здоровых женщин репродуктивного возраста.

Диапазон колебаний основных параметров агрегатограммы.

Параметр агрегатограммы	Диапазон измерений параметра и единицы измерений
Тма	30—50%
Тва	30—40%
Тда	60—80%(от величины Тпа)
Тпа	10—20%
тлп	25—30с
тва	30—45с
$\angle\alpha_1$	60—75°
$\angle\alpha_2$	60—75°
$\angle\beta$	30—45°

При оценке результатов исследования большое значение имеет учет нетипичных кривых агрегатограммы. Так, например, дезагрегация или отсутствие агрегации при стимуляции большими и средними дозами АДФ ($1 \times 10^{-3} \text{M}$ и $1 \times 10^{-5} \text{M}$) и коллагеном свидетельствует о выраженной гипофункции тромбоцитов. И, наоборот, в некоторых случаях слабые и средние дозы АДФ ($1 \times 10^{-7} \text{M}$ и $1 \times 10^{-5} \text{M}$), адреналина ($1 \times 10^{-4} \text{M}$) могут вызвать высокую необратимую агрегацию, совпадение первичной и вторичной воли агрегации за счет ускорения реакции высвобождения, а также большой стойкости тромбоцитарных агрегатов, что свидетельствует о гиперактивности тромбоцитов, даже если Тма АДФ-агрегации не превышает норму.

Важным показателем гиперактивности (начальным ее признаком) является укорочение тлп, которое обычно сочетается с увеличением Тма.

Удлинение тлп свидетельствует о гипофункции тромбоцитов, особенно в сочетании с уменьшением Тма.

Более полное представление о характере агрегационной и функциональной активности тромбоцитов можно получить при оценке типов агрегатограммы, полученных при стимуляции разными видами и дозами указанных стимуляторов (рис. 42) норме кривые соответствуют типичным для каждого из стимуляторов. Диапазон колебаний основных параметров агрегатограммы представлен таблице 38.



1. АДФ $1 \times 10^{-3} \text{M}$; 2. АДФ $1 \times 10^{-5} \text{M}$; 3. АДФ $1 \times 10^{-7} \text{M}$; 4. коллаген; 5. Адреналин $1 \times 10^{-4} \text{M}$; 6. Ристомидин

Рис. 42. Нормальная агрегатограмма.

Прямыми признаками гиперфункции тромбоцитов, по данным агрегатограммы, являются повышение T_{ma} , увеличение до $80-85^\circ$, укорочение t_{lp} , совпадение по времени первой и второй волн агрегации, а также отсутствие дезагрегации при воздействии слабых стимуляторов. Это свидетельствует о реальной гиперактивности тромбоцитов, ускорении реакции высвобождения, увеличении секреторной функции тромбоцитов и повышенном выбросе биологически активных веществ (циклических эндоперекисей), простагландинов, вазоактивных веществ. Гиперактивность тромбоцитов характерна для заболеваний, протекающих с хроническим ДВС синдромом и нарушением микроциркуляции (рис. 43). В этих случаях приобретенный характер тромбоцитопатии потребления можно доказать проведением пробы переноса на агрегометре.

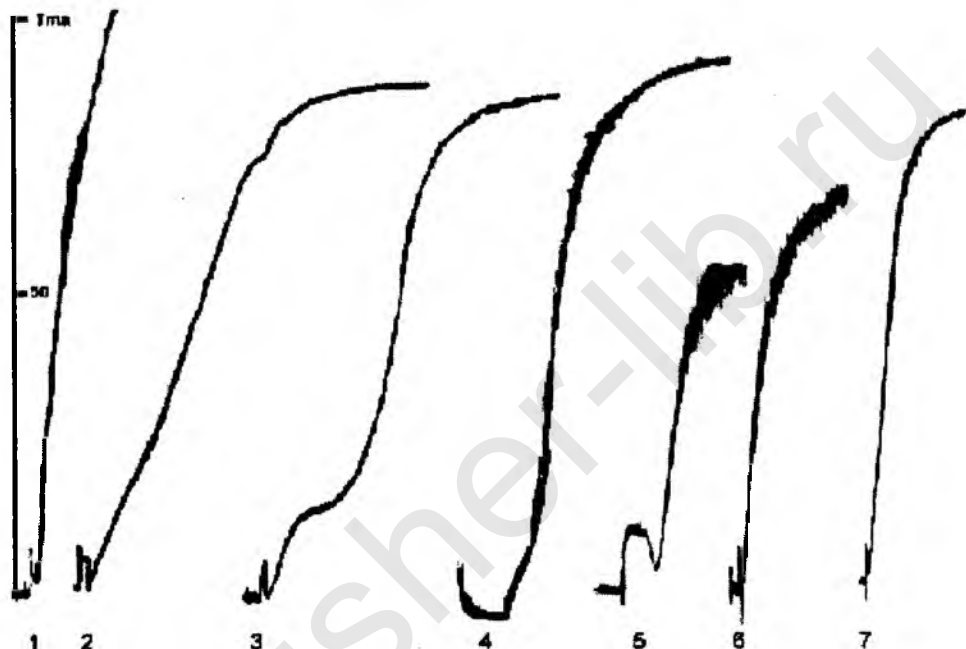


Рис. 43. Выраженная гиперагрегация тромбоцитов при хронической форме ДВС синдрома.

Начальными проявлениями тромбоцитопатии потребления при ДВС-синдроме может быть появление необратимой агрегации на все сильные стимуляторы (АДФ $1 \times 10^{-3}M$ и коллаген), при отсутствии агрегации на слабые (АДФ $1 \times 10^{-5}M$ и $1 \times 10^{-7}M$, адреналин, коллаген) (рис. 44). У больных с острыми формами синдрома ДВС (шоки разной этиологии, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, эмболия околоплодными водами, дистресс-синдром новорожденного) потребление наиболее активных тромбоцитов в микросгустки приводит к потенциальной гиперактивности тромбоцитов резчайшей тромбоцитопении и выраженной гипоагрегации тромбоцитов при стимуляции основными биологическими стимуляторами — АДФ, коллагеном, тромбином, арахидоновой кислотой (рис. 45).

Для потенциальной гиперагрегации и тромбоцитопатии потребления характерно значительное увеличение T_{md} в смеси равных объемов одnogруппной плазмы донора и больной. Проба считается положительной при соотношении:

$$\frac{T_{ma} \text{ смеси плазмы донора и больного}}{T_{ma} \text{ плазмы донора}} \times 2$$



Рис. 44. Агрегатограмма при начальной стадии развития тромбоцитопатии потребления.

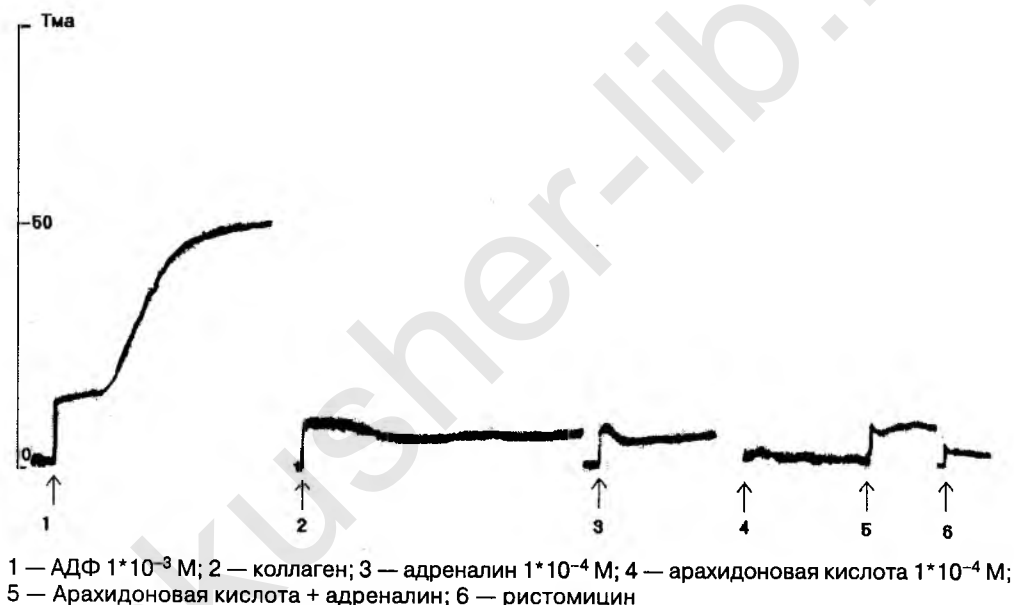


Рис. 45. Агрегатограмма выраженной тромбоцитопатии потребления (II фаза, подострое течение ДВС синдрома).

Это означает, что гипоагрегация тромбоцитов маскирует гиперагрегацию, т.е. наличие в повышенном количестве индукторов агрегации (в том числе АДФ, адреналина, серотонина, фактора 4 тромбоцитов, а также тромбина). Действие этих стимуляторов агрегации в плазме крови больной не может проявиться, потому что тромбоциты под влиянием предшествующего воздействия активаторов оказываются измененными, однако действие индукторов агрегации проявляются сразу же, как только в исследуемую плазму добавляются нормальные тромбоциты.

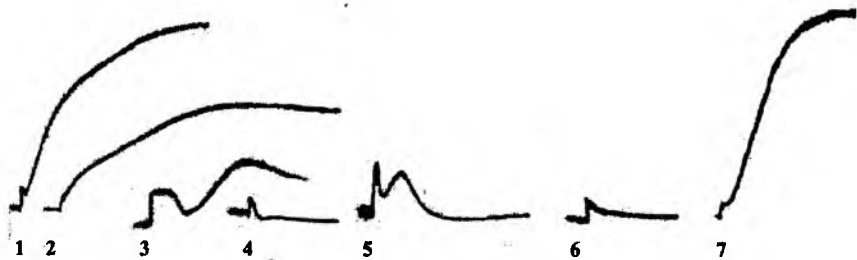
Наличие потенциальной гиперагрегации тромбоцитов требует, чтобы заместительная терапия препаратами крови (в частности, тромбоцитами) сочеталась с обязательным введением антиагрегантов.

Признаком выраженной гиперфункции тромбоцитов может быть спонтанная агрегация тромбоцитов, часто возникающая у больных сахарным диабетом, септическим шоком, с тромбозами магистральных сосудов. Для достоверного подтверждения спонтанной агрегации тромбоцитов необходимо полностью исключить возможные артефакты при исследовании. Переохлаждение пробы перед инкубированием, гемолиз, механические воздействия на тромбоциты, наличие спонтанной агрегации тромбоцитов характеризует повышенную их готовность к склеиванию, которая может провоцироваться действием минимальных (подпороговых) раздражителей, таких как инкубация в термостате агрегометра и механическое воздействие мешалки агрегометра. Информативным для диагностики хронического микросвертывания является метод определения циркулирующих агрегатов тромбоцитов (метод Wu и Hook, 1975), который основан на подсчете количества тромбоцитов в крови, стабилизированной цитратом натрия и смесью цитрата натрия и формалина. Если в крови имеются нестабильные агрегаты тромбоцитов, то количество тромбоцитов в пробе крови, обработанной только натрием, будет больше, чем в пробе, обработанной смесью цитрата и формалина.

Длительное применение гепарина у больных с рецидивирующим тромбозом, хронической венозной недостаточностью, сердечно-сосудистыми заболеваниями и осложненным течением гестационного процесса, т.е. при хронических формах ДВС-синдрома обычно сочетается с назначением препаратов, снижающих агрегационную активность тромбоцитов и улучшающих микроциркуляцию. Причем у беременных применение антиагрегантов ограничено возможностью их тератогенного и эмбриотоксического действия (ацетилсалициловая кислота, нестероидные противовоспалительные препараты).

При необходимости обязательного использования антиагрегантов во время беременности (в случае наличия волчаночного антикоагулянта или селективной гиперактивности тромбоцитов) на ранних сроках предпочтительно назначать курантил (дипиридамол) не менее 100—150 мг в сутки, а после 20 недель возможно использование аспирина 0,25–0,5 г через 24—48 часов,

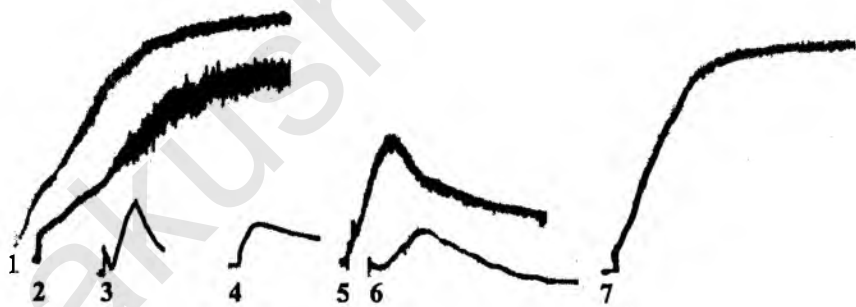
Препараты, оказывающие влияние на функцию тромбоцитов, делятся на ингибиторы циклооксигеназы в акушерстве используются реже (ацетилсалициловая кислота, ацелизин, индометацин, фенилбутазон, селфинпиразон, микристин), активаторы фосфодиэстеразы и ингибиторы аденилатциклазы, механизм антиагрегантного действия которых основан на увеличении содержания ц-АМФ в тромбоцитах (дипиридамол (курантил), теofilлин, папаверин и др.) и препараты, стабилизирующие тромбоцитарную мембрану (реополиглукин, реомакродес и др.). Выбор контрольных тестов функции тромбоцитов во многом зависит от вида антиагрегантов. Так, при назначении ингибиторов циклооксигеназы необходимо оценивать, в первую очередь, их влияние на интенсивность коллаген-агрегации и агрегации тромбоцитов при стимуляции большими и средними дозами АДФ ($1 \times 10^{-3} \text{M}$, $1 \times 10^{-5} \text{M}$) и арахидоновой кислотой ($1 \times 10^{-4} \text{M}$), поскольку эти препараты снижают необратимую агрегацию за счет блокирования реакции высвобождения эндогенных стимуляторов агрегации из тромбоцитов и синтез тромбосана A_2 . Так, при назначении ацетилсалициловой кислоты в дозе 300—1500 мг в сутки, агрегация тромбоцитов исходно повышенная до 60—100%, значительно уменьшается вплоть до полного отсутствия. Ацетилсалициловая кислота и другие нестероидные противовоспалительные препараты при постоянном приеме необратимо ингибируют циклооксигеназу тромбоцитов и тем самым способствуют существенному снижению антиагрегантных свойств сосудистой стенки, поскольку редуцируют высвобождение циклических эндоперекисей простагландинов из тромбоцитов и продукцию простагландина эндотелием сосудов. Назначение малых доз ацетилсалициловой кислоты (300—500 мг) с интервалом 48 часов приводит к преобладанию простагландинового эффекта сосудистой стенки. Типичная агрегатограмма при прерывистом лечении аспирином представлена на рисунке 46.



1 — АДФ $1 \cdot 10^{-3}$ М; 2 — АДФ $1 \cdot 10^{-5}$ М; 3 — АДФ $1 \cdot 10^{-7}$ М; 4 — коллаген; 5 — адреналин $1 \cdot 10^{-4}$ М; 6 — арахидоновая кислота $1 \cdot 10^{-4}$ М; 7 — ристомин

Рис. 46. Агрегатограмма при профилактическом лечении аспирином в прерывистом режиме приема по 0.5 г. через 48 часов при хронической форме (I фазе) ДВС синдрома.

Использование водорастворимых препаратов аспирина с малым периодом полувыведения (около 2 часов) позволяет добиться повышения простаглицлинового эффекта сосудистой стенки при однократном приеме 50 мг аспирина в сутки. Интенсивность агрегации тромбоцитов при этом изменяется незначительно либо имеет место стабилизация адгезивно-агрегационной функции тромбоцитов в случае исходной гиперактивности тромбоцитов (рис. 47). Последнее, очевидно, связано с замедлением некоторых реакций тромбоцитов (удлинение латентного периода, подавление адгезии и первичной агрегации), приводящих к циркуляции дефектных тромбоцитов. Указанное действие аспирина реализуется только в случае тромбоцитопатии потребления, в основе которой лежит генерализованный микротромбоз и последующая дезагрегация тромбоцитов по типу ДВС-синдрома. Важно отметить, что препараты с малым периодом полувыведения не провоцируют кровоточивость при тромбоцитопатиях. Тем не менее, применение их при наследственных дефектах тромбоцитов нежелательно и патогенетически не оправдано.



1 — АДФ $1 \cdot 10^{-3}$ М; 2 — АДФ $1 \cdot 10^{-5}$ М; 3 — АДФ $1 \cdot 10^{-7}$ М; 4 — коллаген; 5 — адреналин $1 \cdot 10^{-4}$ М; 6 — арахидоновая кислота $1 \cdot 10^{-4}$ М; 7 — ристомин

Рис. 47. Агрегатограмма при профилактическом лечении малыми дозами аспирина по 50 мг/сут при хронической форме (I фазе) ДВС синдрома.

Назначение антиагрегантов, НМГ, а также других препаратов с антиагрегантными свойствами требует оценки их влияния на интенсивность вторичной агрегации, на процесс дезагрегации, обратимой агрегации и стойкость тромбоцитарных агрегантов. Это достигается с помощью использования в качестве стимуляторов агрегации тромбоцитов адреналина $-1 \cdot 10^{-4}$ М, АДФ — $1 \cdot 10^{-7}$ М ($1 \cdot 10^{-5}$ М), серотонина — $1 \cdot 10^{-4}$ М. Специфическое влияние препаратов данной группы на агрегацию тромбоцитов заключается в усилении дезагрегации тромбоцитов и сни-

жении интенсивности вторичной агрегации за счет преобладания процессов дезагрегации тромбоцитов (рис. 48). При оценке агрегатограммы у беременных и родильниц, получающих указанные препараты, отмечается быстрая дезагрегация, интенсивность которой колеблется до 80—100% от величины показателя первичной агрегации. Вторичная необратимая агрегация может практически отсутствовать или ее величина не превышает 10—15% (у здоровых людей она составляет не менее 30%). Разработанный нами алгоритм оценки агрегатограммы с помощью предварительной оценки «типичных» и «нетипичных» кривых, с последующим вычислением параметров агрегации способствовала объективизации и улучшению точности получаемой информации. Типичными для агрегации, вызванной сильными стимуляторами (АДФ 1×10^{-3} М, коллагеном и арахидоновой кислотой 1×10^{-4} М), являются кривые необратимой агрегации с величиной показателя интенсивности не менее 30%; для стимуляторов средней силы (АДФ 1×10^{-5} М, адреналин 1×10^{-4} М) — двухфазные кривые агрегатограммы, для слабых стимуляторов (АДФ 1×10^{-7} М, серотонин 1×10^{-4} М) — типичными являются кривые обратимой агрегации (дезагрегация). Подобный подход к выявлению характера агрегационной активности тромбоцитов является развитием разработанного в последние годы метода подбора дозы стимулятора для получения типичной кривой агрегатограммы. Применяемый нами метод больше адаптирован для клиники, так как отличается простотой, стандартностью и не требует увеличения числа пробных тестов, а следовательно, увеличения объема используемой плазмы. Предварительная оценка типов кривых при гиперактивности тромбоцитов выявляет наличие необратимой или двухфазной агрегации в ответ на действие слабых стимулов, при контроле антиагрегантной терапии (в том числе и при сочетании их с антикоагулянтами) выявляется отсутствие агрегации при воздействии слабыми и средними дозами стимуляторов или нетипичные (двухфазные и обратимые) кривые при воздействии сильными стимуляторами. Метод пригоден для практических и экспериментальных исследований, удобен для статистической и индивидуальной оценки результатов.



Рис. 48. Варианты агрегатограммы при назначении НМГ 250 VIC/кг (удлинение латентного периода коллаген-агрегации и снижение вторичной агрегации).

Очень важную информацию с помощью предварительной оценки типов кривых можно получить у больных с выраженной тромбоцитопатией при сепсисе и септическом шоке, а также контроле противотромботической терапии у этих больных, включающей использование антикоагулянтов и препаратов с антикоагулянтными свойствами. Суммарный вклад тромбоцитов в образование тромбоцитарно-фибринового сгустка можно определить с помощью простого и общедоступного метода тромбоэластографии плазмы, богатой тромбоцитами и бестромбоцитной плазмой. Коэффициент тромбоэластографической активности тромбоцитов представляет собой разницу между величиной максимальной амплитуда тромбоэластограммы плазмы, богатой тромбоцитами и бестромбоцитной плазмы, деленную на величину последней. В норме равен 1×1 (или $1,01 \pm 0,1$), при гипофункции тромбоцитов лечения антиагрегантами он снижается, а при гиперфункции повышается.

Диагностическое значение имеет и определение объема тромбоцитов: увеличение их объема (мегатромбоциты), сопровождающиеся повышенной агре-

гационной способностью, отмечается при их ускоренном кругообороте, например, при различных формах синдрома ДВС. Для этой цели могут использоваться цитометрические методы исследования или счетчики, позволяющие оценивать распределение тромбоцитов по их размерам.

Для исследований, посвященных выяснению роли тромбоцитов в патологическом процессе (в частности, при заболеваниях, протекающих с синдромом ДВС) и определению морфофункциональных параллелей тромбоцитарных реакций важное значение имеет электронно-микроскопический метод. При этом для неизменных тромбоцитов характерны дискоидная форма, наличие гиалоплазмы, окруженной трехслойной мембраной, гранул различной электронной плотности, элементов открытой каналикулярной системы, гранул гликогена, вакуолей. Для активированного тромбоцита характерно наличие множества псевдоподий, больших количеств — гранул и плотных гранул (серотониновые гранулы). При тромбоцитопатии потребления (шоки, критические состояния) определяются «опустошенные» тромбоциты с единичными гранулами, просветленной гиалоплазмой и разрушенной мембраной.

Важным показателем функциональных свойств тромбоцитов, особенно у больных с геморрагическими диатезами, вызванными тромбоцитарными нарушениями, а также дефектом фактора Виллебранда, является адгезивность тромбоцитов. Исследование этого показателя основано на подсчете количества тромбоцитов до и после пропускания определенного объема крови через колонку со стеклянными шариками стандартного размера, либо коллагеновые фильтры.

Гипофункция тромбоцитов характерна для приобретенных ДВС и наследственно обусловленных тромбоцитопатий. Гипофункция тромбоцитов, обусловленная тромбоцитопатией потребления, диагностируется с помощью пробы переноса, определения β -тромбоглобулина, фактора 4 (антигепаринового) тромбоцитов с обязательным определением маркеров тромбинемии — ПДФ; ТАТ. Истинная гипофункция тромбоцитов присуща наследственным тромбоцитопатиям. При этом для тромбастении Гланцмана (аутосомно-рецессивный тип наследования) характерно отсутствие агрегации тромбоцитов при использовании всех стимуляторов, кроме ристоцитина, удлинение времени кровотечения при нормальном содержании тромбоцитов; для синдрома Бернара-Сулье (аутосомно-рецессивный тип наследования) — отсутствие агрегации тромбоцитов при стимуляции ристоцитином, уменьшение адгезивности, удлинение времени кровотечения при наличии гигантских (до 10 мкм) дистрофических тромбоцитов. При наследственном дефекте простагландинсинтетазы (недифференцированные формы) характерным является отсутствие второй волны при стимуляции агрегации АДФ ($1 \times 10^{-5} \text{M}$), отсутствие коллаген-агрегации и агрегации при стимуляции арахидоновой кислотой.

Наследственная недостаточность пула накопления (аутосомно-рецессивный тип наследования) — отсутствие агрегации тромбоцитов при стимуляции ристоцитином, уменьшение адгезивности, удлинение времени кровотечения при наличии гигантских (до 10 мкм) дистрофических тромбоцитов. При наследственном дефекте простагландинсинтетазы (недифференцированные формы) характерным является отсутствие второй волны при стимуляции агрегации АДФ ($1 \times 10^{-5} \text{M}$), отсутствие коллаген-агрегации и агрегации при стимуляции арахидоновой кислотой.

Наследственная недостаточность пула накопления (аутосомно-доминантный тип наследования) характеризуется при дефекте плотных гранул отсутствием второй волны агрегации $1 \times 10^{-5} \text{M}$ АДФ при стимуляции и адренилином, отсутствием агрегации при стимуляции коллагеном и арахидоновой кислотой, отсутствием высвобождения серотонина — 14С; при дефекте α -гранул в тромбоцитах не определяется β -тромбоглобулин и отсутствует высвобождение серотонина — 14С.

Исследованию тромбоцитарного звена системы гемостаза придается важное значение в диагностике болезни Виллебранда; при которой отсутствие в плазме фактора Виллебранда вызывает повреждение микроциркуляторного гемостаза.

При этом обычно уменьшена или отсутствует адгезивность тромбоцитов и агрегация тромбоцитов при стимуляции ристоцитином; последнее обычно коррелирует с содержанием антигена ф.VIII и дефектами коагулянтной активности ф.VIII или фосфолипида тромбоцитов ф.III. Тромбоцитарный фосфолипид особенно важно определять для диагностики тромбоцитопатии по типу синдрома Виллебранда-Юргенса.

Необходимость исследования тромбоцитарного звена системы гемостаза может возникнуть в связи с применением ингибиторов функции тромбоцитов (антиагрегантов).

Целью контроля антиагрегантной терапии при хроническом ДВС является обеспечение адекватной дозы антиагреганта, которая способна ингибировать различные этапы «фундаментальной» реакции тромбоцитов. Выбор метода контроля зависит от вида антиагреганта.

Методы контроля за фармакодинамическими эффектами антиагрегантов зависят от механизма влияния их на тромбоциты. По механизму действия антиагреганты делятся на ингибиторы простагландинсинтетазы, активаторы аденилатциклазы и ингибиторы фосфодиэстеразы, а также препараты, стабилизирующие тромбоцитарную мембрану. Ингибиторы циклооксигеназы (ацетилсалициловая кислота, микристин и другие нестероидные противовоспалительные препараты: индометацин, фенилбутазон (бутадион) обладают способностью предотвращать реакцию высвобождения и необратимую агрегацию тромбоцитов за счет подавления продукции циклических эндоперекисей простагландинов и тромбоксана A_2 . Эффект ацетилсалициловой кислоты продолжается на протяжении периода жизни тромбоцитов данной популяции (6—8 дней) за счет необратимого ацетилирования простагландинсинтетазы тромбоцитов. В связи с этим специфическим методом контроля при лечении ингибиторами простагландинсинтетазы является оценка агрегации тромбоцитов при стимуляции коллагеном, адреналином, арахидоновой кислотой. Отсутствие агрегации тромбоцитов при использовании данных стимуляторов свидетельствует об адекватном эффекте препаратов. Эффективное лечение данной группой препаратов подразумевает и снижение адгезивности (до 10—15%), и уменьшение интенсивности агрегации тромбоцитов (до 20%) при стимуляции большими дозами АДФ ($1 \times 10^{-3} M$). Противотромботический эффект ацетилсалициловой кислоты достигается при применении ее в дозе 300—1500 мг/сут. Ингибиторы простагландинсинтетазы подавляют синтез как тромбоксана A_2 в тромбоцитах, так и простагландина в эндотелии сосудов. Этого побочного эффекта можно избежать путем назначения малых доз ацетилсалициловой кислоты (300—500 мг) с интервалом 24—48 часов, при этом обеспечивается достаточный антитромботический эффект (блокада тромбоксана A_2 на период жизни тромбоцита) и сохраняется простагландиновая активность.

Методами контроля при терапии антиагрегантами, в основе действия которых лежит активация аденилатциклазы и ингибция фосфодиэстеразы (курантил, папаверин, теофиллин, интенсаин), являются радиоиммунологическое определение циклической АМФ в тромбоцитах, АДФ- и адреналин-агрегация и адгезивность тромбоцитов. Уровень циклической АМФ в тромбоцитах под влиянием адекватной терапии указанными выше препаратами повышается; специфическое влияние этой группы препаратов на агрегацию тромбоцитов заключается в усилении интенсивности дезагрегации тромбоцитов, которое выявляется при использовании в качестве стимуляторов малых и средних доз АДФ ($1 \times 10^{-7} M$ и $1 \times 10^{-5} M$). Особенностью адреналин-агрегации в этих условиях является отсутствие второй волны агрегации за счет преобладания процессов дезагрегации в исследуемой пробе. Признаком эффективности проводимой терапии является также умеренное снижение показателей адгезивности тромбоцитов (до 25—30%). Применение низкомолекулярных декстранов (реополиглюкин), стабилизирующих тромбоцитарную мембрану, вызывает умеренное снижение показателей интенсивности АДФ-, коллаген-, адреналин-агрегации, а также адгезивности

тромбоцитов. Ряд препаратов, применяемых в клинической практике, обладает неспецифическим влиянием на функцию тромбоцитов. К ним относятся антибиотики (пенициллин Д, ампициллин, оксациллин, метициллин, карбенициллин), антигистаминные препараты (димедрол, супрастин), антидепрессанты (амитриптилин и др.), седативные препараты, которые ингибируют реакцию высвобождения тромбоцитов и нарушают их необратимую агрегацию.

Таким образом, целенаправленное исследование тромбоцитарного звена системы гемостаза в зависимости от клинической ситуации поможет значительно повысить точность диагностики и эффективность лечения многих заболеваний, при которых имеет место приобретенный или наследственно обусловленный дефект функции тромбоцитов.

Тромбоэластография крови, плазмы и проба переноса по Raby (1974)

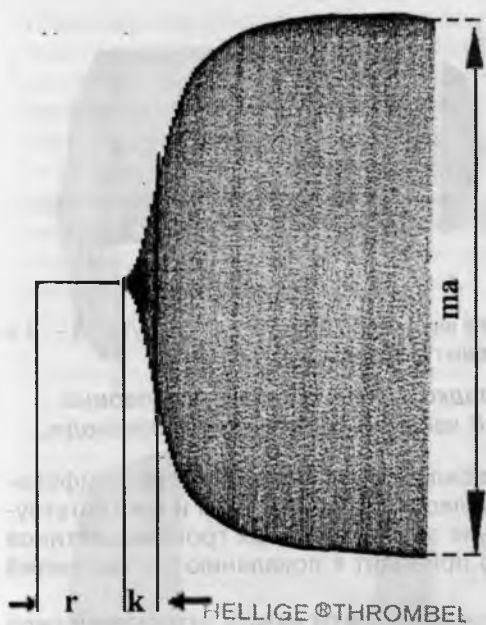
Классическое исследование свертывания крови на приборе тромбоэластографе заключается в графической регистрации процессов образования фибрина, образования фибринового сгустка и его ретракция при исследовании образца крови или плазмы с предварительной рекальцификацией раствором хлорида кальция (1, 29%).

В гемостазиологии уже давно существует тенденция исследовать изменения системы гемостаза с помощью приборов. Одно из первых мест среди них по праву занимает прибор тромбоэластограф, сконструированный и рекомендованный для клинических исследований немецким исследователем Х.Хартерт в конце 40-х годов нашего столетия. Метод исследования крови с помощью тромбоэластографии стал применяться во многих европейских странах. На протяжении 50-х годов данный метод широко внедрился в клиническую практику в нашей стране и стал одним из основных методов оценки общекоагуляционных параметров в лабораторной диагностике. Особо следует выделить способность метода регистрировать гипокоагуляцию и затем дифференцировать ее причины с помощью пробы переноса по Раби. В классическом исполнении в кювету, при 37°C совершающую колебания вокруг своей оси, вводится 0,25мл образец исследуемой крови или плазмы и металлический «поплавок» с последующей рекальцификацией 0,1мл 1,29% CaCl_2 (если используются стабилизированным трехзамещенным раствором цитрата натрия (3,8%)). В пробе начинают образовываться нити фибрина, которые передают движения стенок кюветы на поплавок. Отклонения поплавка регистрируются графически. В результате получается запись тромбоэластограммы, фиксирующая процессы свертывания, ретракции и фибринолиза сгустка в кювете (рис. 49).

При образовании сгустка фибрина цельной крови его структура состоит из тромбоцитов, нитей фибрина и форменных элементов, что составляет так называемую тромбоцитарно-фибриновую структуру сгустка. Под действием освобождения биологически активных веществ тромбоцитов и активации фибринолитического звена системы гемостаза происходит дальнейшая эволюция сгустков — изменения его прочности, ретракция и фибринолиз. Варианты изокоагуляции, гиперкоагуляции и гипокоагуляции представлены на рисунке 50.

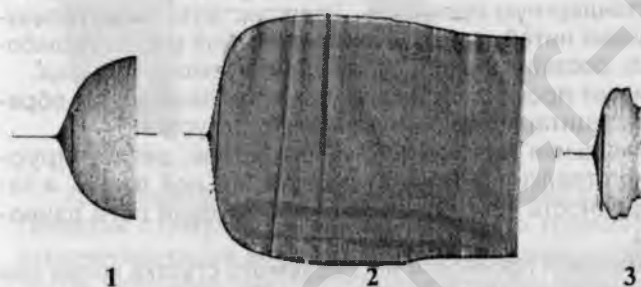
Принципиально возможно изучение четырех разных биологических жидкостей у одного и того же больного: это цельная кровь, цельная декальцинированная кровь, плазма, богатая тромбоцитами (PRP — plasma rich platelet) и плазма, бедная тромбоцитами (PPP — plasma poor platelet). Для получения богатой тромбоцитами плазмы стабилизированную цитратом натрия кровь центрифугируют при 200g 500—800об/мин 5—10 минут, или дают отстояться. Для получения бедной тромбоцитами (бестромбоцитарной) плазмы — центрифугируют при 3000 об/мин (2000g) в течение 10 минут. Варианты ТЭГ представлены с рисунка 50.

Гипокоагуляционное действие гепарина также возможно оценить с помощью ТЭГ (рис. 51 и 52).



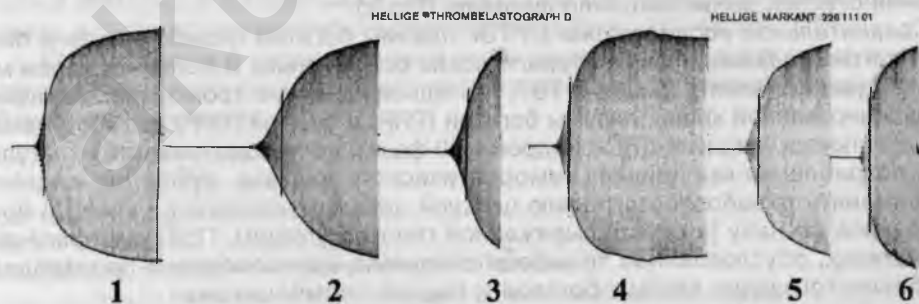
г — время реакции (от начала записи до амплитуды 1 мм); к — время образования сгустка (от амплитуды 1 мм до амплитуды 20 мм); ма — максимальная амплитуда.

Рис. 49. Параметры тромбозластограммы.



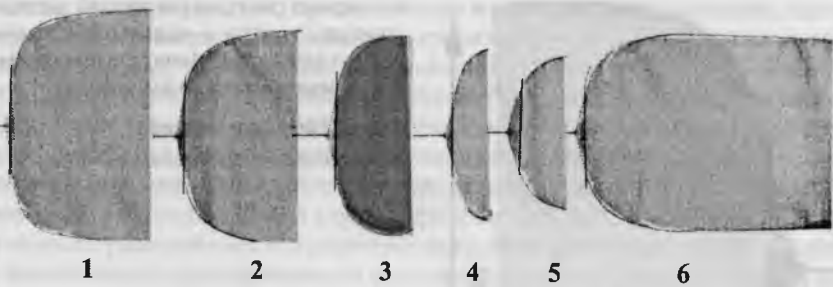
1 — Изакоагуляция; 2 — Гиперкоагуляция; 3 — Гипокоагуляция

Рис. 50. Варианты тромбозластографии.



1 — до введения гепарина; 2 — гепарин 7 500 ЕД в/в (через 30 мин); 3 — гепарин 7 500 ЕД в/в (через 2 часа); 4 — гепарин 7 500 ЕД в/в (через 4 часа); 5 — гепарин 5 000 ЕД в/в (через 30 мин); 6 — гепарин 5 000 ЕД в/в (через 2 часа).

Рис. 51. Вариант контроля фармакологической активности дозы (7500 ЕД) и мини-дозы гепарина (5 000 ЕД) в/в.



1 — до введения гепарина; 2 — спустя 2 часа после введения 5 000 п/к; 3 — 1-е сутки; 4 — 3-е сутки; 5—7-е сутки; 6 — через 12 часов после отмены гепарина.

Рис. 52. Тромбоэластограммы при подкожном применении гепарина в дозе 15 000 ЕД/сут. (5 000 ЕД через 8 часов) в послеродовом периоде.

Константа «г» — «время реакции» определяется от момента рекальцификации до начала расхождения ветвей тромбоэластограммы на 1 мм и соответствует времени, необходимому для образования активированных тромбопластинов и минимального количества тромбина, что приводит к появлению первых нитей фибрина в пробе крови и плазмы.

Константа «к» — «время коагуляции» определяется от начала отклонения пера регистрирующего устройства прибора до расхождения ветвей тромбоэластограммы на величину 20 мм. По достижении этой величины сгусток данной пробы приобретает определенную стандартную прочность. Эта константа характеризует появление в пробе фибриновых нитей и образование основной массы тромбоцитарно-фибринового сгустка, составляющих основу исследуемого образца.

Константа «г+к» характеризует процесс от начала времени реакции до образования основной массы тромбоцитарно-фибриновых нитей сгустка.

Константа «та» — «максимальная амплитуда» — показатель, регистрирующий максимальное отклонение стрелки прибора от горизонтальной линии, и характеризует максимальную прочность тромбоцитарно-фибриновой сети данного образца крови или плазмы.

«Em» — показатель максимальной прочности исследуемого сгустка крови или плазмы. Он отражает коэффициент сдвига механического момента тромбоцитарно-фибриновой сети сгустка, косвенно свидетельствуя о его максимальной вязкости и прочности, вычисляется по формуле: $(100та/100-та)$. Индекс тромбодинамического потенциала (ИТП), показатель для характеристики структуры строения сгустка, вычисляется по формуле (Em/k) .

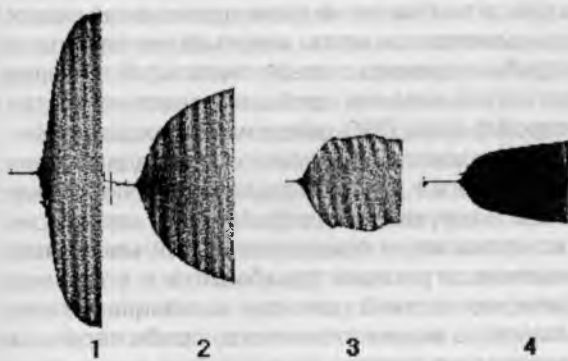
Сравнительное исследование на ТЭГ плазмы богатой тромбоцитами и бес-тромбоцитной плазмы. При геморрагических осложнениях и болезнях крови мы рекомендуем выполнять двойную ТЭГ, т.е. одновременную тромбоэластографию декальцинированной крови, плазмы богатой (PRP) и бедной (PPP) тромбоцитами.

При гипокоагуляции и ДВС-синдроме (III фаза), если подозревается коагулопатия потребления как причина геморрагического диатеза, лучше, по-видимому, применять тромбоэластографию цельной декальцинированной крови и пробу переноса по Raby (в случае выраженной гипокоагуляции). При геморрагических диатезах, обусловленных тромбоцитопатиями, целесообразно производить тромбоэластографию плазмы богатой и бедной тромбоцитами.

Метод оценки коагулянтной активности тромбоцитов или «двойной тромбоэластографии» является незаменимым тестом для ситуаций в акушерстве, когда исследование функции тромбоцитов традиционными методами (агрегация тромбоцитов, адгезия тромбоцитов, фактор 3 тромбоцитов (PF3) и т.д.) не представляется возможным из-за выраженной тромбоцитопении (рис. 53, 54). Часто при кровопотере и проведении диффузионно-трансфузионной терапии функция тромбоцитов повреждена настолько, что оценить интенсивность агрегации невозможно.

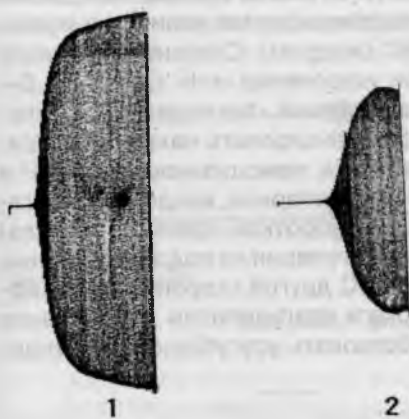
1 — ТЭГ плазмы, богатой тромбоцитами (PRP) донора; 2 — ТЭГ бестромбоцитарной плазмы (PPP) донора; 3 — ТЭГ плазмы, богатой тромбоцитами (PRP) больной; 4 — ТЭГ бестромбоцитарной плазмы (PPP) больной.

Рис. 53. Коагулянтная активность тромбоцитов (КАТ) при тромбоцитопении потребления при ДВС синдроме.



1 — ТЭГ плазмы, богатой тромбоцитами (PRP); 2 — ТЭГ бестромбоцитарной плазмы (PPP).

Рис. 54. Вариант умеренного повышения коагулянтной активности тромбоцитов (КАТ).



Тромбоциты при некоторых критических состояниях не реагируют на биологические стимуляторы или имеет место тромбоцитопения потребления, также ограничивающая возможности традиционных методов исследования тромбоцитов. Реальные гемостатические функции тромбоцитов при этом скрыты от оценки исследователя. Подобные условия, когда не используются традиционные методы, или они не дают ожидаемую информацию, имеются при врожденных или наследственных формах тромбоцитопатии. Оценить участие тромбоцитов в процессе коагуляции и первичного гемостаза при ДВС синдроме можно, сравнив их вклад в формирование фибринового тромба (рис. 53, 54, 55).

Количественные характеристики этого процесса определяются путем вычисления тромбоэластографического коэффициента коагулянтной активности тромбоцитов по формуле:

$$КАТ = \frac{ma - ma_1}{ma_1}$$

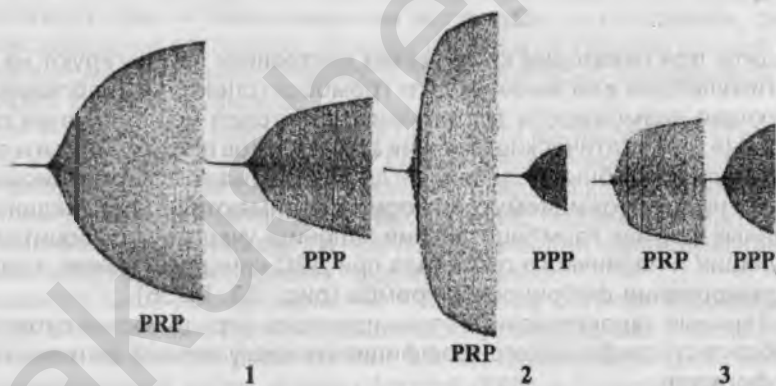
где: ma — максимальная амплитуда ТЭГ плазмы;

ma_1 — максимальная амплитуда ТЭГ бестромбоцитной плазмы.

У здоровых людей $K=1,01$, снижение этого показателя наблюдается при тромбоцитопатии любого генеза. При выраженной тромбоцитопении величина максимальной амплитуды обеих тромбоэластограмм может быть практически одинаковыми и составлять примерно половину от величины нормальных показателей.

Проба переноса по Raby (1974). Главным показанием для проведения пробы переноса на тромбоэластографе является наличие прямой линии ($\alpha\gamma+k=\infty$) или

выраженной хронометрической гипокоагуляции при исследовании образца крови или плазмы. Во всех других ситуациях, в том числе на фоне применения малых профилактических доз гепарина, когда имеются все этапы свертывания на записи тромбозластограммы, проведение пробы переноса нельзя считать обоснованным. Самым важным показанием для использования пробы переноса являются состояния, связанные с развитием острой формы ДВС-синдрома (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, эмболия околоплодными водами, септический шок, геморрагический шок и т.д.). В результате перечисленных осложнений развивается так называемая «коагулопатия потребления», характеризующаяся полной несвертываемостью крови из-за предшествующей массивной внутрисосудистой коагуляции фибриногена, агрегации тромбоцитов и вторичного фибринолиза. Тромбозластографическая картина при этом напоминает такую при чрезмерной гепаринемии. Исходя из вышеизложенного, проба переноса может быть использована как дифференциально-диагностический тест оценки причин гипокоагуляции. При укорочении параметров «r+k» смеси плазмы по сравнению с «r+k» донора с большой достоверностью подтверждается наличие в исследуемой пробе большого активного тромбина (ДВС-синдром). Степень укорочения характеризует вероятность этого состояния и при укорочении «r+k» смеси в 1,5—2 раза считается достоверным признаком так называемой «потенциальной гиперактивности системы гемостаза» (рис. 38А). Дифференцировать наличие гепарина при острой форме ДВС (при геморрагическом шоке, гемодиализе, при ОПН и т.д.) необходимо, даже если известна суммарная доза гепарина, введенная в организм больного. Это связано с тем, что спустя даже короткое время (2—3 часа) после создания экзогенной гепаринемии, оставшийся гепарин не поддается оценке традиционными методами исследования (рис. 38Б). С другой стороны, при неэффективности купирования геморрагического шока и коагулопатии потребления ДВС-синдром может прогрессировать и способствовать усугублению потенциальной гиперактивности гемостаза.



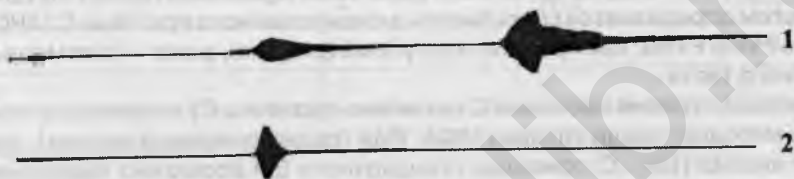
1 — норма; 2 — повышенная коагуляционная активность тромбоцитов (KAT=3.7 у.е.); 3 — снижение коагуляционной активности тромбоцитов (KAT=0.12 у.е.).

Рис. 55. Двойная тромбозластография плазмы, богатой тромбоцитами (PRP) (та) и бестромбоцитной (та₁) плазмы (PPP).

Проба со стрептазой. В случаях острого течения ДВС-синдрома (III фаза) и глубокого дефицита (потребления) компонентов системы гемостаза, таких как факторы свертывания крови, антитромбин, тромбоциты и компоненты системы фибринолиза возникает необходимость оценить фибринолитический потенциал крови. Использование традиционных методов исследования фибринолиза в большинстве случаев не представляется возможным. Образцы крови больных представляют собой практически смесь плазмы и сыворотки крови в различных соотношениях.

Нами в подобных случаях используются тромбоэластографическая проба на плазминоген со стрептазой (по 100—200 ЕД на 1 пробу). Выполнение этого теста достаточно быстрое, а при наличии параллельных нескольких каналов тромбоэластографа может быть осуществлено одновременно с другими тромбоэластографическими тестами.

Для выполнения пробы со стрептазой пригоден любой материал (кровь или плазма), в которую вводится непосредственно в кювете тромбоэластографа стрептаза и производится (если необходимо) рекальцификация 1,29% раствором хлорида кальция. В норме или при сохраненном фибринолитическом потенциале крови после небольшого расширения (на 3—10 мм) амплитуды записи тромбоэластограммы до полного исчезновения колебаний пера самописца (рис. 56). Проба со стрептазой может использоваться для качественного анализа фибринолитического потенциала, для контроля эффективности применения ингибиторов фибринолиза (контрикал, трансамин, гордокс и т.д.). О достаточности дозы препарата можно судить по отсутствию или замедлению индуцированного фибринолиза при исследовании в аналогичных условиях теста (рис. 57).



1. Донор; 2. Больной.

Рис. 56. Проба со стрептазой в норме.



До назначения ингибиторов протеаз



После введения ингибиторов протеаз (трансамча 500 мг/вв)

Рис. 57. Проба со стрептазой при назначении транексановой кислоты.

Для потребления компонентов фибринолитической системы после образования сгустка и наличия записи тромбоэластограммы на ленте, амплитуда не убывает длительное время или продолжает увеличиваться.

Для верификации пробы необходимо на следующем этапе поставить контрольное исследование активности используемого раствора стрептазы с донорской плазмой или кровью. При достаточной активности стрептазы отмечается быстрый фибринолиз в кювете тромбоэластографа, что соответствующим образом регистрируется самописцем (увеличение и затем уменьшение амплитуды вплоть до полного исчезновения записи — прямая линия). Этим же методом можно затем проконтролировать степень эффективности заместительной терапии дефицита плазминогена. Проба со стрептазой может быть также использо-

вана для контроля терапии фибринолитиками и тромболитиками, активирующими плазминоген или проактиваторы плазминогена. Мы считаем, что тромбоза-стография может с успехом применяться как для целей детального изучения системы гемостаза в условиях клиники, так и в практических лечебных учреждениях для диагностики тромбофилического состояния, угрозы геморрагического диатеза и правильного контроля антикоагулянтной терапии.

5. Исследование естественных антикоагулянтов

Важнейшую роль в процессе лабораторной диагностики при подозрении на генетически обусловленную тромбофилию играет определение антигенного уровня и функциональной активности естественных антикоагулянтов — протеина С, протеина S, AT III.

Протеин С

Функциональный тест для определения функциональной активности протеина С подразумевает активацию протеина С ядом змеи *Agkistrodon contortrix contrortrix* (Protac). Затем определяется способность активированного протеина С (APC) инaktivировать FVa и FVIIIa, как правило, коагулометрически, реже — с помощью амидолитического теста.

Определение уровня протеина С (антигена протеина С) возможно с помощью различных методов, среди которых ИФА, РИА (радиоиммунный анализ), электроиммунный анализ (EIA). С помощью стандартного EIA возможно выявление всех форм протеина С, включая активированный протеин С (APC), некарбоксилированные формы протеина С и APC в комплексе с ингибитором. Как и любой EIA метод, это исследование менее чувствительно к очень низким концентрациям протеина С. ELISA на 50% менее чувствительна к низким уровням протеина С, особенно у пациентов, получающих варфарин или другие ОАК. Данный феномен связан с неспособностью анти-протеин С-антител распознавать дез-карбоксипротеин С, образующийся при воздействии ОАК.

Чувствительность РИА также недостаточна, так как моноклональные анти-протеин С-антитела в основном реагируют с активационным пептидом, который отсутствует в АЗС, или с тяжелой цепью APC в участке, ответственном за связывание с ингибитором.

Оценка лабораторных результатов исследования протеина С должна проводиться с учетом клинической картины. Следует учитывать, что снижение уровня или активности протеина С может быть не только наследственно обусловленным, но и приобретенным: протеин С потребляется при тромбозе, ТЭЛА, ДВС. Уровень антигена и функциональная активность возрастают во время беременности, приеме эстрогенов, нефротическом синдроме, ИБС. Отмечено, что функциональная активность протеина С растет при приеме даназола. В то же время уровень протеина С снижается при приеме оральных контрацептивов, гестозе и значительно снижается при ДВС и заболеваниях печени. Часто у пациенток с СКВ, функциональная активность протеина С снижена, несмотря на нормальный уровень антигена (табл. 39).

Таблица 39.

Протеин С и протеин S при различных клинических состояниях.

	Протеин С		Протеин S	
	Антиген	Активность	Антиген	Активность
Заболевания печени	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓
ДВС	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓

	Протеин С		Протеин S	
	Антиген	Активность	Антиген	Активность
Оральная контрацепция	N-↓	N-↓	↓↓	↓↓
Варфарин	↓↓	↓	↓	N-D
Беременность	N-↑	N-↑	↓	↓
Нефротический синдром	↑	↑	N-↓	N-↓
СКВ	N	↓	↓	N-↑
Послеоперационный период	N-↓	↓	↓	↑
ТЭЛА	↓	↓	N-↓	N-↓
ТГВ	↓	↓	N-↓	N-↓
Гестоз	↓	↓	↓	↓

N — нормальный уровень

↑ — повышен

↓ — снижен

↓↓ — значительно снижен

Крайне важно при этом отметить, что прежде, чем приступить к исследованию активности протеина С, необходимо исключить наличие ВА в плазме. Поскольку удлинение АЧТВ, свойственное ВА, может стать причиной неожиданной высокой активности протеина С при использовании коагулометрического метода исследования. Конечно же, в такой ситуации данные об активности протеина С недостоверны.

Следует учитывать, что уровень протеина С очень низкий (27—40МЕ) у новорожденных и еще более снижен у плодов накануне родоразрешения. У 50% доношенных новорожденных уровень протеина С составляет менее 20МЕ/дл. В то же время уровень протеина С увеличивается почти на 4% каждые 10 лет после 30 лет.

В ряде случаев возникает необходимость в оценке активности протеина С на фоне приема оральных антикоагулянтов. Как правило, это пациенты с АФС, мутацией FV Leiden и другими патологическими состояниями, когда потенциально система протеина С изначально страдает.

Чтобы оценить уровень протеина С и/или его активность на фоне ОАК, пациенты должны получать стабильную оральную антикоагуляцию, по крайней мере, в течение 4 недель. В таких случаях лучше использовать коагулометрический метод, чем амидолитический, поскольку Protac «не распознает» декарбокисированные формы протеина С, образующиеся в результате эффекта ОАК.

Функциональная активность протеина С на фоне терапии ОАК значительно более снижена, чем антигенный уровень вследствие присутствия декарбокисированных форм протеина С, которые, хотя и определяются иммунологически, функционально не активны. У пациентов, у которых отсутствует наследственный дефицит протеина С или другие нарушения в системе протеина С (как наследственные, так и приобретенные) функциональный уровень протеина С коррелирует с таковым протромбина или фактора X при исследовании коагулометрическим методом.

Уровень антигена протеина С < 30МЕ/дл редко наблюдается у стабильных пациентов, получающих рутинную антикоагуляцию АК. Снижение же антигенного

и функционального уровня менее 20МЕ/дл обычно свидетельствует в пользу наследственного дефицита.

С нашей точки зрения для скрининговой оценки состояния системы протеина С весьма эффективен «парус»-тест, разработанный в нашей стране (З.С. Баркаган, А.Г. Мамот и др., 2000г.). Сущность теста заключается в глобальной оценке системы протеина С, точнее способности протеина С инактивировать факторы Va и VIIIa при экзогенном активировании протеина С ядом змеи-щитомордника (*Agkistrodon saxatilis*); в зарубежных аналогах теста в качестве активатора протеина С используется стандартный активатор из змеиного яда «Протак».

Отклонения в тесте могут указывать как на приобретенные, так и на генетически обусловленные дефекты APC-R как следствие мутации FV Leiden, АФС или других причин (дефицит протеина С и дефицит протеина S).

Преимущества теста в его высокой клинической информативности, воспроизводимости и доступности.

Мы в нашей практике включаем его в качестве скрининга у женщин с подозрением на тромбофилию (синдром потери плода, задержка внутриутробного развития плода, рецидивирующие тромбозы).

Протеин S

Поскольку протеин S является кофактором протеина С в энзиматическом расщеплении факторов Va и VIIIa. Лабораторный анализ протеина S осложняется присутствием двух форм протеина S в плазме. 40% протеина S представлено свободной его фракцией и функционирует как активный кофактор APC. 60% циркулирующего протеина S находится в связанном состоянии с комплемент-регулирующим протеином-С4в связывающим протеином (С4вВр) и неактивен как кофактор.

Антигенный уровень общего протеина S исследуется методами Laurell (EIA), ELISA и двух-проекционного иммуноэлектрофореза; последний наиболее информативен для определения уровня связанного протеина S. Метод Laurell подразумевает использование поликлональных анти-протеин S сывороток, которые распознают и свободные и связанные формы протеина S.

Поскольку уровень свободного протеина S является лучшим маркером повышенной предрасположенности к тромбозам, то в основном применяются методы измерения свободного протеина S. С этой целью наиболее часто применяется ELISA; при этом используются различные моноклональные антитела против различных эпитопов свободного протеина S. Уровень свободного протеина S в норме у женщин обычно меньше, чем у мужчин.

Функциональное исследование кофакторной активности протеина S связано с определением его способности катализировать процесс ингибиции протеином Са фактора Va. Однако этот метод не достоверен, если применяется на фоне терапии ОАК.

Уровень протеина S снижается при заболеваниях печени, беременности, гестозе, нефротическом синдроме, терапии эстрогенами и ОК. Уровень также низкий у недоношенных детей и новорожденных, а также при ДВС. При СКВ часто наблюдается снижение свободного протеина S и повышенный или нормальный уровень связанного протеина S. Такая же картина имеет место при ВИЧ-инфекции, циркуляции ВА, а также в послеоперационном периоде.

Тромбомодулин

Хотя уровень тромбомодулина является хорошим маркером эндотелиопатии, его определение пока осуществляется только в исследовательских целях с применением метода радиоиммунной диффузии, а с недавних пор — ELISA-методом. Уровень тромбомодулина повышается при АФС, ДВС, тромботической тромбоцитопенической пурпуре, коллагенозе, гемодиализе, сахарном диабете, гестозе (т.е. состояниях, при которых характерна эндотелиопатия). В ряде случаев возможны генетические дефекты тромбомодулина, обуславливающие повы-

шенную склонность к тромбозам; однако ген тромбомодулина даже в условиях нормы обладает полиморфизмом, что затрудняет использование теста определения уровня тромбомодулина в широкой практике.

Резистентность к активированному протеину С (APC-R)

Коагулометрический тест выявления APC-R основан на способности APC удлинять АЧТВ. При этом определяется АЧТВ-отношение между АЧТВ в присутствии и отсутствии экзогенно добавляемого APC. Если в плазме пациента факторы (в основном Va) резистентны к протеолитическому расщеплению активированным протеином С, то это проявляется недостаточным удлинением АЧТВ в присутствии экзогенного APC и соответственно уменьшением АЧТВ-отношения, которое в норме составляет 2,4—4,0. Использование в процессе исследования FV-дефицитной плазмы повышает чувствительность метода.

Состояние APC-R является функциональным проявлением мутации FV Leiden, однако характерно и для других состояний, так, например, АФС, III триместр беременности. Поэтому выявление APC-R требует последующей ПЦР-диагностики мутации FV Leiden.

Антитромбин III

Исследование антитромбина III — одно из неперенных условий у пациентов с наследственным характером тромбозов в процессе диагностического поиска. Кроме того, исследование уровня и активности АТ III может дать ценную информацию и о его потреблении в процессе гепаринотерапии или при ДВС.

Исследование АТ III включает определение уровня антигена и его функциональную способность связываться с гепарином и ингибировать тромбин. Определение антигена осуществляется методами Laurell, ELISA, RIA. Наиболее желательным методом является ELISA, поскольку на результаты не оказывает влияние присутствие гепарина и чувствителен к мкг/мл уровня АТ III.

Функциональные методы включают амидолитический и коагулометрический. Коагулометрический метод — модифицированное тромбиновое время позволяет определить способность АТ III удлинять тромбиновое время (ТВ) в присутствии гепарина. При этом в тестируемую плазму добавляется экзогенный тромбин и измеряется степень удлинения ТВ в присутствии гепарина. Важным условием для проведения исследования является отсутствие фибриногена в тестируемой плазме.

Уровень АТ III может быть значительно снижен (до 20%) при тяжелых заболеваниях печени и хронических гепатитах. При различных патологических состояниях и заболеваниях, сопровождающихся потерей белка, таких как нефротический синдром, энтеропатии, уровень АТ III также снижается. АТ III значительно снижается (вплоть до 15%) при болюсном введении больших доз гепарина, а также при ДВС, ТЭЛА и ТГВ вследствие потребления. У новорожденных уровень АТ III также снижен. Во время беременности отмечается снижение уровня АТ III в III триместре и в первые дни послеродового периода. Уровень АТ III несколько повышается у женщин в постменопаузе.

Гепарин-кофактор II (НС)

Подобно АТ III, способность НС II катализировать ингибицию тромбина в присутствии гепарина невысока. В присутствии гепарина эта способность возрастает в 1000 раз. Концентрации гепарина, необходимые для катализа активности НС II, значительно выше, чем таковые для АТ III. Кроме того, в отличие от АТ III, инактивация фактора Ха гепарин-кофактором II значительно меньше и не катализируется гепарином. Активность НС II помимо гепарина также почти в 1300 раз катализируется дерматан-сульфатом, тогда как дерматан-сульфат на активность АТ III не влияет. Поэтому при исследовании активности НС II, АТ III должен быть

удален из тестируемого образца, либо проводится селективный катализ с использованием дерматан-сульфата в качестве активатора HC II (метод основан на двухступенчатом исследовании с помощью хромогенных субстратов). Тестируемая плазма смешивается с избытком тромбина и дерматан-сульфата. Остаточный тромбин затем измеряется с помощью тромбин-специфичных хромогенных субстратов.

Наследственные дефициты HC II ассоциируются со снижением функционального и антигенного уровней. Кроме того, уровень HC II повышается при приеме ОК и снижается при пересадке почки и ВИЧ-инфекции. С возрастом его уровень незначительно увеличивается.

Ингибитор тканевого пути свертывания (ингибитор внешнего пути свертывания, TFPI)

TFPI является естественным антикоагулянтным фактором, который в присутствии фактора Ха, ингибирует фактор VIIa (см. главу I). Метод с использованием хромогенных субстратов, а также ELISA с успехом используются для определения активности TFPI в плазме и уровня антигена. Уровень TFPI в условиях заболеваний печени остается нормальным и повышается при гепаринотерапии и гиперхолестеринемии.

В послеоперационном периоде и при ТТП его уровень снижается. Хотя долгое время считалось, что дефицит TFPI не совместим с жизнью, недавно появились сообщения о 2-х пациентах с дефицитом TFPI.

α 2-макроглобулин

α 2-макроглобулин чувствителен к ингибирующей активности протеаз и формирует комплексы с тромбином, плазмином и калликреином, а также с другими протеазами — эластазой, коллагеназой и катепсином D.

α 2-макроглобулин определяется с помощью метода хромогенных субстратов.

Уровень α 2-макроглобулина значительно повышен у новорожденных и прогрессивно снижается с возрастом. Уровень его в норме выше у женщин, чем у мужчин. Патологическое повышение уровня α 2-макроглобулина имеет место при гидронефрозе и циррозе печени. В ответ на тромболитическую терапию уровень α 2-макроглобулина снижается. Значительное снижение функционального уровня α 2-макроглобулина отмечается при сепсисе и ДВС. При этом при септическом шоке в большей степени снижается функциональная активность, чем антигенный уровень.

Оценка фибринолитической системы

1. Время лизиса сгустка цельной крови — наиболее простой из всех фибринолитических скрининг тестов, но очень мало информативный. В норме лизис сгустка происходит в течение 48 часов, однако при гиперфибринолизе он ускорен; риск геморрагии высок при укорочении времени лизиса менее 6 часов.

2. Время лизиса разводимой цельной крови. Кровь разводится 1 : 10 в холодном буфере для уменьшения внешних ингибиторов фибринолиза. Время лизиса < 2 часов свидетельствует о гиперфибринолизе, а > 20 часов — о гипофибринолизе. Несмотря на то, что метод позволяет оценить фибринолиз в более короткий временной промежуток, чем предыдущий, он также достаточно груб.

3. Время лизиса эуглобулинового сгустка (ВЛЭС) более информативно по сравнению с двумя предыдущими тестами, однако также не дает информации о причине нарушения в фибринолитической системе.

При интерпретации теста следует учитывать, что нормальный фибринолиз происходит достаточно медленно и, в зависимости от тест-системы, плотный сгусток в норме еще присутствует через 90 минут. Укорочение времени лизиса менее 30 минут свидетельствует о гиперфибринолизе. Удлинение времени лизи-

са может свидетельствовать о снижении уровня активатора плазминогена (РА) и повышении образования комплексов РА-РАI или, реже, о дефекте плазминогена.

ВЛЭС может применяться при заболеваниях печени, а также во время беременности, когда повышаются уровни плазминогена и фибриногена, а также РАI. Во время беременности ВЛЭС в норме укорачивается; также ВЛЭС укорачивается при дефиците F XIII.

В ряде случаев (в частности при ДВС) необходимо контрольное исследование со стрептокиназой с целью исключения ложных результатов и подтверждения, что нормальный уровень ВЛЭС не вызвано отсутствием плазминогена, что может иметь место при подостром и остром ДВС.

Тест также зависит от концентрации фибриногена. Если концентрация фибриногена меньше нормального уровня, то зуглобулиновые фракции могут формировать только небольшой сгусток, и в результате время лизиса может быть ложно укороченным.

Если же концентрация фибриногена высока (>600 мг/дл), то время лизиса может удлиняться, так как фибриновый сгусток представляет собой увеличенный субстрат для плазмина. Таким образом, в случаях аномального уровня фибриногена необходимы альтернативные методы оценки фибринолиза.

Другие методы исследования. Наиболее информативны иммунологические исследования фибринолиза — электроиммунодиффузия (EIA), радиоиммунный метод (RIA), метод радиальной иммунодиффузии и иммуноферментный метод (TLISA), а также методы с использованием хромогенных субстратов, которые позволяют непосредственно оценить уровни плазминогена, активаторов плазминогена (t-PA, u-PA) и ингибиторов активаторов плазминогена (РАI-1 и РАI-2).

Для тромбофилических состояний характерно повышение уровня РАI-1, снижение уровня и активности t-PA и уменьшение уровня плазминогена или его активности.

Список литературы

1. Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза.— Томск, 1980. — 313 с.
2. Баркаган З.С., Макаров В.А., Лычев В.Г. и др. Новые методы диагностики диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдром): Метод. рекомендации. — М., 1989. — 23с.
3. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы диагностики нарушений гемостаза. — М.: Ньюдиамед-АО, 1999. — 224 с.
4. Воробьев А.И., Васильев С.А., Городецкий В.М. Лаб. диагностика. — 1997.— № 5. — с. 12—14.
5. Макаров В.А. Разработка новых методов диагностики и лечения нарушений гемостаза. // Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза. Под ред. А.И. Воробьева, З.С. Баркагана, Барнаул, 2000. — с. 35—38.
6. Baker W.F.Jr. Clinical aspects of disseminated intravascular coagulation: a clinician's point of view. // Semin. Thromb. Hemost. 1989; 15: 1—57.
7. Bauer K.A., Barzegar S., Rosenberg RD. Influence of anticoagulants used for blood collection
8. Bertina R.M., Koeleman B.P.C., Koster T., Rosendaal F.R., Dirven R.J., de Ronde H., van der Veblen P.A., Reitsma P.H. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. // Nature, 1994; 369: 64—67.
9. Bounameaux H., de Moerloose P., Perrier A., Reber G. Plasma measurement of D-dimer as diagnostic aid in suspected venous thromboembolism — an overview. // Thromb. Haemost., 1994; 71: 1—6.

10. Brandt J.T., Triplett D.A., Alving B., Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. // *Thromb. Haemostas*, 1996; 74: 1185—1190.
11. Bruhn H.D., Conard J., Mannucci M. et al. Multicentric evaluation of a new assay for prothrombin fragment 1+2 determination. // *Thromb. Haemostas*, 1992; 68: 413—417.
12. Comp P.C., Doray D., Patton D., Esmon C.T. An abnormal plasma distribution of protein S occurs in functional protein S deficiency. // *Blood*, 1986; 67: 504—508.
13. Comp P.C., Thurnau G.R., Welsh J., Esmon C.T. Functional and immunologic protein S levels are decreased during pregnancy. // *Blood*, 1986; 68: 881—885.
14. D'Angelo A., Vigano-D'Angelo S., Esmon C.T., Comp P.C. Acquired deficiency of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, in liver disease, and in disseminated intravascular coagulation. // *J. Clin. Invest.*, 1988; 81: 1445—1454.
15. de Ronde H., Bertina R.M. Laboratory diagnosis of APC resistance: a critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria. // *Thromb. Haemostas*, 1994; 72: 880—886.
16. Elias A., Aptel I., Hue B., Cambus J.P., Boccalon H., Boneu B. D-dimer test and diagnosis of deep vein thrombosis: a comparative study of 7 assays. // *Thromb. Haemost.*, 1996; 76: 518—522.
17. Elias A., Bonfils S., Daoud-Elias M. et al. Influence of long term oral anticoagulants upon prothrombin fragment 1+2, thrombin-antithrombin III complex and D-dimer levels in patients affected by proximal deep vein thrombosis. // *Thromb. Haemostas*, 1993; 69: 302—305.
18. Exner T., Murray B., Chong B.H., Chestennan C.N. Improved APC resistance method based on a Russell viper venom clotting test. // *Thromb. Haemostas*, 1995; 73: 119.
19. Faioni E.M., Boyer-Neumann C., Franchi F., Wolf M., Meyer D., Mannucci P.M. Another protein S functional assay is sensitive to resistance to activated protein C. // *Thromb. Haemostas*, 1994; 72: 648.
20. Freyburger G., Trfflaud H., Labrousse S., Gauthier P., Javorschi S., Bernard P., Grenier N. D-dimer strategy in thrombosis exclusion. A gold standard study in 100 patients suspected of deep venous thrombosis on pulmonary embolism: 8 DD methods compared. // *Thromb. Haemostas*, 1998; 79: 32—37.
21. Garcia de Frutos P., Alim R.I.M., Hardig Y., Zoller B., Dahlback B. Differential regulation of a and b chains of C4b-binding protein during acute-phase response resulting in stable plasma levels of free anticoagulant protein S. // *Blood*, 1994; 84: 815—822.
22. Greenberg C.S., Hursting M.J., Macik B.G., Ortel T.L., Kane W.H., Moore B.M. Evaluation of preanalytical variables associated with measurement of prothrombin fragment 1,2. // *Clin. Chem.*, 1994; 40: 1962—1969.
23. Harris E.N., Gharavi A.E., Boey M.L., Patel B.M., Mac Worth-Young C.G., Loizou S., Hughes G.R.V. Anticardiolipin antibodies: detection by radioimmunoassay and association with thrombosis in systemic lupus erythematosus. // *Lancet*, 1983; 2: 1211—1214.
24. Hellgren M., Svensson P.J., Dahlback B. Resistance to activated protein C as a basis for venous thromboembolism associated with pregnancy and oral contraceptives. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1995; 173: 210—213.
25. Hubbard A.R. Standardisation of protein S in plasma: calibration of the 1st International Standard. // *Thromb. Haemostas*, 1997; 78: 1237—1241.
26. Iversen L.H., Thorlacius-Ussing O. Short-time stability of markers of coagulation and fibrinolysis in frozen plasma. // *Thromb. Res.*, 1996; 81: 253—261.

27. Janssen MCH, Heebels AE, de Metz M, Verbruggen H, Wollersheim H, Janssen S, Schuurmans MMJ, Novakova IRO. Reliability of five rapid D-dimer assays compared to ELISA in the exclusion of deep venous thrombosis. // *Thromb. Haemostas*, 1997; 72: 262—266.
28. Jorquera J.I., Montoro J.M., Angeles Fernandez M., Aznar J.A., Aznar J. Modified test for activated protein C resistance. // *Lancet*, 1994; 344: 1162—1163.
29. Laffan M.A., Manning R. The influence of factor VIII on measurement of activated protein C resistance. // *Blood Coagul. Fibrinol.*, 1996; 7: 761—765.
30. Lane D.A., Mannucci P.M., Bauer K.A., Bertina R.M., Bochkov N.P., Boulyjenkov V., Chandy M., Dahlback B., Ginter E.K., Miletich J.P., Rosendaal F.R., Seligsohn U. Inherited thrombophilia: Part 1. // *Thromb. Haemostas*, 1996; 76: 651—662.
31. Lane D.A., Mannucci P.M., Bauer K.A., Bertina R.M., Bochkov N.P., Boulyjenkov V., Chandy M., Dahlback B., Ginter E.K., Miletich J.P., Rosendaal F.R., Seligsohn U. Inherited thrombophilia: Part 2. // *Thromb. Haemostas*, 1996; 76: 824—834.
32. Lawrie A.S., Lloyd M.E., Mohamed F., Irons S., Hughes G.R., Savidge G.F. Assay of protein S in systemic lupus erythematosus. // *Blood Coag. Fibrinol.*, 1995; 6: 322—324.
33. Le DT, Greengard JS, Mujumdar V, Rapaport SI. Use of a generally applicable tissue factor-dependent factor V assay to detect activated protein C-resistant factor Va in patients receiving warfarin and in patients with a lupus anticoagulant. *Blood* 1995; 85:1704—11.
34. Lee A.Y., Ginsberg J.S. The role of D-dimer in the diagnosis of venous thromboembolism. // *Curr. Opin. Pulmon. Med.*, 1997; 3: 275—279.
35. Legnani C., Pancani C., Palareti G., Guazzaloca G., Fortunato G., Grauso F., Golfieri R., Gianpalma E., Coccheri S. Comparison of new rapid methods for D-dimer measurement to exclude deep vein thrombosis in symptomatic outpatients. // *Blood. Coagul. Fibrinol.*, 1997; 8: 296—302.
36. Leroy-Matheron C., Gouault-Hettmann M. Influence of conditions of blood sampling on coagulation activation markers (prothrombin fragment 1+2, thrombin-antithrombin complexes and D-dimers) measurements. // *Thromb. Res.*, 1994; 74: 399—407.
37. Malm J., Laurell M., Dahlback B. Changes in the plasma levels of vitamin K-dependent proteins C and S and of C4b-binding protein during pregnancy and oral contraception. // *Br. J. Haematol.*, 1988; 68: 437—443.
38. Miiller-Berghaus G. Pathophysiologic and biochemical events in disseminated intravascular coagulation: dysregulation of procoagulant and anticoagulant pathways. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1989; 15: 58—87.
39. Miiller-Berghaus G., Madlener K., Blomback M., ten Gate J.W. (eds). *DIC: Pathogenesis, Diagnosis and Therapy of Disseminated Intravascular Fibrin Formation*. Amsterdam: Elsevier, 1993.
40. Muller-Berghaus G. Pathophysiology of generalized intravascular coagulation. // *Semin. Thromb. Hemost.* 1977; 3: 209—246.
41. Nieuwenhuizen W. A reference material for harmonization of D-dimer assays; SSC Communication. // *Thromb. Haemostas*, 1997; 77: 1031—1033.
42. Olivieri O., Friso S., Manzato F., Guella A., Bernardi F., Lunghi B., Girelli D., Azzini M., Brocco G., Russ C *et al.* Resistance to activated protein C in healthy women taking oral contraceptives. // *Br. J. Haematol.*, 1995; 91: 465—470.
43. on plasma prothrombin fragment F1+2 measurements. // *Thromb. Res.*, 1991; 63: 617—628.

44. Preda L., Tripodi A., Valsecchi C., Lombardi A., Finotto E., Mannucci P.M. A prothrombin time-based functional assay of protein S. // *Thromb. Res.*, 1990; 60: 19—32.
45. Rossi E., Gatti L., Guarneri D., Finotto E., Lombardi A., Preda L. Functional protein S in women with lupus anticoagulant inhibitor. // *Thromb. Res.*, 1992; 65: 253—262.
46. Schjetlein R., Wisloff F. An evaluation of two commercial test procedures for the detection of lupus anticoagulant. // *Am. J. Clin. Pathol.*, 1995; 103: 108—111.
47. Simioni P., Gavasso S., Luni S., Invidiato S., Girolami A. A protein S functional assay yields unsatisfactory results in patients with activated protein C resistance. // *Blood Coag. Fibrinol.*, 1995; 6: 286—287.
48. Simioni P., Scarano L., Gavasso S. et al. Prothrombin fragment 1+2 and thrombin-antithrombin complex levels in patients with inherited APC resistance due to factor V Leiden mutation. // *Br. J. Haematol.*, 1996; 92: 435—441.
49. Sletnes K., Graven K., Wisloff F. Preparation of plasma for the detection of lupus anticoagulants and antiphospholipid antibodies. // *Thromb. Res.*, 1992; 66: 43—53.
50. Suzuki K., Nishioka J. Plasma protein S activity measured using Protac, a snake venom derived activator of protein C. // *Thromb. Res.*, 1988; 48: 241—251.
51. Triplett D.A., Brandt J.T., Maas R.L. The laboratory heterogeneity of lupus anticoagulants. // *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1985; 109: 946—51.
52. Tripodi A., Chantarangkul V., Bottasso B., Mannucci P.M. Poor comparability of prothrombin fragment 1+2 values measured by two commercial ELISA methods: influence of different anticoagulants and standards. // *Thromb. Haemostas*, 1994; 71: 605—608.
53. Tripodi A., Negri B., Bertina R.M., Mannucci P.M., Screening of the FV:Q506 mutation. Evaluation of thirteen plasma-based methods for their diagnostic efficacy in comparison with DNA analysis. // *Thromb. Haemostas*, 1997; 77: 436—439.
54. Trossaert M., Conard J., Horellou M.H., Samama M.M., Ireland H., Bayston F.A., Lane D.A. Modified APC-resistance assay for patients on oral anticoagulants. // *Lancet*, 1994; 344: 1709.
55. van de Waart P., Preissner K.T., Bechtold J.R., Muller-Berghaus G. A functional test for protein S activity in plasma. // *Thromb. Res.*, 1987; 48: 427—437.
56. Varadi K., Moritz B., Lang H., Bauer K., Preston E., Peake I., Rivard G.E., Keil B., Schwarz H.P. A chromogenic assay for activated protein C resistance. // *Br. J. Haematol.*, 1995; 90: 884—889.
57. Veitl M., Hamwi A., Kurturan A., Virgolini I., Vukovich Th. Comparison of four rapid D-dimer tests for diagnosis of pulmonary embolism. // *Thromb. Res.*, 1996; 82: 399—407.
58. Wiesel M.-L., Charmantier J.-L., Freyssinet J.-M., Grunebaum L., Schuhler S., Cazenave J.-P. Screening of protein S deficiency using a functional assay in patients with venous and arterial thrombosis. // *Thromb. Res.*, 1990; 58: 461—468.
59. Wolf M., Boyer-Neumann C., Martinoli J.L., Leroy-Matheron C., Amiral J., Meyer D., Larrieu M.J. A new functional assay for human protein S activity using activated factor V as substrate. // *Thromb. Haemostas*, 1989; 62: 1144—1145.

Глава VII.

Антагонисты витамина К (оральные антикоагулянты)

1. История открытия оральных антикоагулянтов (антагонисты витамина К)

История открытия оральных антикоагулянтов, пожалуй, больше подходит для сюжета романа. А началось все с того, что в 1920-х годах в прериях США и Канады развилась «загадочная» болезнь: рогатый скот умирал от неконтролируемых внутренних и наружных кровотечений. В 1921 году у фермера из Дакоты заболели 80 коров, из них 65 умерли. У 25 быков при кастрации развились массивные кровотечения, 12 из них умерли. Такая же картина наблюдалась и в других фермерских хозяйствах США и Канады. Ученые-ветеринары Frank Schofield из Онтарио и Lee Roderick из Северной Дакоты приступив к изучению феномена, обнаружили, что причина не связана с дефицитом питания или патологией организма. F. Schofield в то же время отметил, что кровотечения начинаются, когда скот питается перегнившим сеном. Во втором десятилетии XX века равнины Канады, как впрочем и раньше, были засажены сладким клевером, так как это растение хорошо росло на бедных почвах и могло заменить кукурузу в силосном корме. Было непонятно, почему традиционная пища вдруг стала ядом. Для объяснения этого феномена необходимо было учесть ряд обстоятельств. Во-первых, болезнь носила спорадический характер. Во-вторых, болезнь возникала лишь в сезон влажного лета и осени. В-третьих, хранение сена в те времена было примитивным и во влажный сезон оно начинало перегнивать. В-четвертых, если обычно испорченное сено не использовалось для корма животных, то в 20-ые годы (годы засухи) и во времена Великой Американской депрессии фермеры не могли себе позволить купить дополнительный фураж и вынуждены были использовать влажное сено из сладкого клевера. Болезнь проявлялась в двух формах; в тяжелых случаях животное истекало кровью и погибало в течение 1—2 дней. Часто это провоцировалось хирургическим вмешательством (кастрация у быков) либо родами у скота. Подострое течение болезни продолжалось от недели до месяца: кровотечения преимущественно были подкожными или внутримышечными.

Несмотря на то, что кровотечения у скота начались с 1920г., первое сообщение об этом появилось лишь в 1924 году. F. Schofield, ветеринар-патолог из Онтарио изучал болезнь в течение 4 лет. Он обнаружил, что при заболевании удлиняется время свертывания крови: чем сильнее кровотечение, тем длиннее время свертывания. Schofield пытался индуцировать кровотечение у кроликов, кормя их перегнившим сеном сладкого клевера, но когда он добавлял в пищу *Aspergillus* — основную причину гниения — антикоагулянтный эффект не наблюдался. Тогда исследователь решил, что гниение вызывает образование особого токсина в сладком клевере. Неожиданным оказалось и то, что удлинение времени свертывания обнаруживалось (при медленном развитии болезни) еще за 2 недели до появления первых признаков кровотечения.

Исходя из собственных наблюдений и исследований, Schofield пришел к выводу, что болезнь можно предотвратить лишь отказавшись от использования перегнившего сена из сладкого клевера. Для лечения же он предложил переливание

крови или использование плазмы, поскольку нормальная плазма корригировала время свертывания *in vitro*. Schofield первым предположил, что у заболевшего скота не хватает протромбина в крови.

Однако, несмотря на исследования Schofield и его рекомендации, активного внедрения результатов его исследований в практику не произошло, и болезнь продолжалась. По-видимому, это было связано с тем, что загадочный «токсичный агент» из сладкого клевера не был идентифицирован.

Между тем в 1929—1931 гг. ветеринар из Северной Дакоты, Lee Roderick описал заболевание в своем районе. Он подтвердил мнение Schofield, что причиной заболевания и удлинения времени свертывания является перегнивший сладкий клевер. Так как кровь заболевшего скота содержала нормальное количество фибриногена, кальция и тромбоцитов, он также пришел к выводу, что причиной кровотечения был дефицит протромбина. Он подтвердил это, изолировав протромбин из плазмы коров с помощью техники Howell. Roderick обнаружил, что протромбин здоровой коровы при добавлении к крови с удлиненным временем свертывания, нормализует его; при добавлении же протромбина от больной коровы — время свертывания не укорачивается.

Помимо времени свертывания цельной крови, Roderick измерял время свертывания оксалатной плазмы тремя путями: просто заменял оксалат кальцием; повторял этот же тест с добавлением тканевой жидкости; повторял тест после добавления цефалина. Все тесты производились при температуре 37°C. Примечательно, что время рекальцификации плазмы он назвал «протромбиновым временем». Лишь 22 года спустя группой исследователей из Северной Каролины под руководством Brinkhous его цефалиновое время свертывания было названо «частичным тромбопластиновым временем». Время же свертывания с тканевой жидкостью через 4 года было описано Арманом Квиком как «протромбиновое время».

Таким образом, и Schofield, и Roderick обнаружили, что болезнь является обратимой в случае отмены испорченного сена, а также в случае переливания свежей или дефибринированной крови здоровых животных. И хотя патогенез и физиология были выяснены, биохимическая природа агента все еще была не известна.

Лишь история фермера из штата Висконсин стала толчком к дальнейшим исследованиям, посвященным изучению химической структуры «злосчастного» токсина сладкого клевера и открытию дикумарина (дикумарол).

В декабре 1932 года у Эда Карлсона, фермера из Висконсина, умерли две молодые телки, а в январе — корова от кровотечений. Когда же суботним утром в феврале 1933 года у его лучшего призового быка развилось тяжелое носовое кровотечение, терпению фермера пришел конец. Карлсон не доверял местным ветеринарам, так как и его отец, и его дед испокон веков кормили скот сладким клевером, не зная проблем. Ему посоветовали обратиться в местную экспериментальную сельскохозяйственную станцию. В отчаянии, несмотря на снежную бурю и -18°C за окном, Карлсон отправился через 190 миль в Мэдисон, Висконсин, в Коллегию Ветеринаров за помощью. В багажнике была мертвая корова, канистра несвернувшейся крови и примерно 100 фунтов испорченного сена — единственного корма, который он мог себе позволить.

И тут, поистине, вмешалась судьба, так как благодаря субботе единственной открытой дверью на ветеринарной станции оказалась лаборатория Карла Линка. Выслушав Карлсона, Линк посоветовал ему сделать то же, что в свое время провозгласили Schofield и Roderick: «Заготавливайте хорошее сено и переливайте кровь!»

Здесь следует добавить еще одно имя: старший студент Линка, швабский аспирант, приехавший в США в 1926 году с дипломом сельскохозяйственной химии из Баварии, E.W.Schoeffel. Он начал учиться у Линка в 1929 году. После того, как расстроенный фермер уехал, он воскликнул: «Боже, фермер проехал почти 200 миль в снежную бурю и возвращается домой с обещаниями и надеждами, которые могут сбыться лишь через 5—15 лет, а может и нет. «Заготавливайте хорошее сено —

переливайте крови!» Как можно это сделать, если у вас нет денег?!» До позднего вечера в тот день Schoeffel экспериментировал с кровью и подтвердил то, что обнаружил ранее Roderick. Молодой исследователь настаивал на том, что экономическая депрессия не позволит большинству фермеров заменить сладкий клевер на другой корм и призывал своего учителя, Карла Линка, заняться изучением «болезни сладкого клевера». Следует отметить, что Линку еще в 1932 году предлагали работу в Университете Миннесоты над той же проблемой, но тогда он решил остаться в Висконсине изучать химию «здорового» сладкого клевера.

В понедельник Линк собрал свою кафедру и заявил, что они начинают изучать болезнь рогатого скота. Только 6 лет спустя, 28 июня 1939г его группе (Brink, Campbell, Huenbner, Rõberts, Schoeffel, Smith и Stahmann) удалось кристаллизовать антикоагулянтный материал токсина сладкого клевера, который оказался дикумаролом. Долгий путь к выделению антикоагулянтной субстанции оказался тернистым: тестирование чувствительности различных экстрактов сладкого клевера на токсичность требовала использования различных животных. Поскольку исследователи шли по стопам Schofield и Roderick и использовали в своих экспериментах кроликов, они пришли к заключению, что существует 2 вида кроликов — одни чувствительный к антикоагулянту сладкого клевера, а другой — нет. Помимо прочего была начата генетическая программа для разделения этих двух групп.

Кроме того, для анализа антикоагулянтного эффекта требовался чувствительный тест. Очень скоро выяснилось, что применяемое протромбиновое время Квика недостаточно чувствительно: оно удлинялось, если коагуляция нарушалась, по крайней мере, на 50%. Значительное время было потрачено на модификацию теста, чтобы он стал чувствительным к малейшим нарушениям коагуляции.

Наконец, достаточно сложной была экстракция антикоагулянта. Он не высвобождался из влажного сена, когда экстракция производилась с помощью воды или других растворителей.

Идентификация антикоагулянта удалась Huebner и Link, которые показали, что в процессе «порчи» сладкого клевера под воздействием бактерий во влажной среде, натуральный кумарин окисляется до 4-гидроксикумарина. При этом две молекулы связывались метильной группой и образовывали бис-кумарин. Это случилось 1 апреля 1940 года. Оказалось, что эта же химическая структура была открыта еще в 1903 году Richard Anschutz, но в его докладе об открытии точка плавления в 29°C была достаточно низка, и ее не распознал Link. Открытое им химическое вещество, Anschutz назвал « α -метилбензобисбензотетронзаур».

Линк и соавт. обнаружили, что каждое кумариновое кольцо содержит избыточный гидроксильный радикал. Вещество вызывало кровотечения не только у рогатого скота и кроликов, но также и у крыс, свиней, мышей, собак, кошек, цыплят, но не вызывало кровотечения у лошадей. Характерно было, что антикоагулянт не имел эффекта при непосредственном добавлении его к образцу крови.

С открытием дикумарола было предположено, что данную субстанцию можно использовать в качестве антикоагулянта для предотвращения тромбообразования у человека. Таким образом, канистре крови, оставленной отчаявшимся фермером на полу в лаборатории Линка, суждено было изменить ход истории, а Линк в начале своих исследований даже не мог предполагать, какие последствия это будет иметь.

В апреле 1941 года Линк и Huebner представили детали химии и биологии дикумарола. Работа была выполнена группой ученых в клинике Mayo. Это были Hugh Butt (возглавлял первые исследования по биологии витамина К), Edgar Allen (с кафедры заболеваний периферических сосудов, изучал тромботическую болезнь) и Jesse Bollman (биохимик, выполнявший работы по свертыванию). Группа Mayo попросила у Линка образец дикумарола для изучения его антикоагулянтных свойств у пациентов. После немедленного согласия Линка, группа Mayo приступила к исследованию дикумарола в клинической практике. Однако прежде чем приступить к исследованиям антикоагулянта в клинике, необходимо было преж-

де найти антидот для коррекции дозы. В начале 40-ых годов было показано, что водорастворимый витамин К можно использовать для восстановления уровня протромбина.

Первые результаты клинического применения дикумарола были столь впечатляющим, что уже через 3 месяца был опубликован отчет об эффективном снижении послеоперационных тромбозов. Вскоре дикумарол стал применяться во всем мире для профилактики и лечения тромботических состояний. Многие научные издания пестрили сообщениями, что, возможно, у гепарина появился достойный соперник.

Позже группа Линка синтезировала около 150 аналогов дикумарола. Хотя одним из основных недостатков дикумарола была длительная экскреция из организма, Линк синтезировал большое количество аналогов не столько с целью улучшения препарата, в частности, фармакокинетики, для более успешного применения в клинической практике, сколько с целью получить более водорастворимый, а, следовательно, и эффективный препарат, который можно было бы распылять на пищу, употребляемую крысами и другими вредными грызунами, что приводило бы к их гибели от кровотечений. Не следует забывать, что Линк, прежде всего, был сотрудником Коллегии Ветеринаров! Однако и здесь он принес пользу медицине. Аналог под номером 42 оказался наиболее подходящим. Он был получен в 1948 году и назван варфарин, в признательность за финансовую помощь в исследованиях Wisconsin Alumni Research Foundation (WARF). Варфарин был в 10 раз эффективнее кумарола и хорошо растворим в воде. Последующее изучение аналога 42 было задержано из-за уменьшения штата лаборатории Линка во время II Мировой войны и из-за болезни самого Линка, он страдал туберкулезом. Однако заслугу Линка и его научной группы перед медициной трудно переоценить. Впоследствии варфарин стал не только эффективным средством в борьбе с грызунами, но и основным оральным антикоагулянтом, применяемым во всем мире.

Дальнейшие исследования фармакодинамики и фармакокинетики варфарина были продолжены в клинике Mayo. В 1947 году мнение о том, что основное действие дикумарола — подавление протромбина в плазме — было подвергнуто сомнению. В эксперименте на собаках было обнаружено, что дикумарол, в первую очередь, угнетает фермент, превращающий протромбин в тромбин.

В то же время Paul Owren обнаружил у своего пациента в Осло дефицит фермента, превращающего протромбин в тромбин. Промотор Owren, позже названный фактором V, был термолabileм и отсутствовал в плазме.

Промотор, описанный в клинике Mayo, был другим: он был термостабильным и присутствовал в плазме. Позже этот фактор был назван фактор VII. Именно присутствие стабильного VII фактора объясняло успех лечения кровотечений у скота переливанием плазмы или дефибринированной крови.

Впоследствии было обнаружено, что не только протромбин и факторы VII, IX, X, а также протеин C и S подвергаются угнетению под действием оральных антикоагулянтов. А поскольку все они являются витамин К-зависимыми, это позволило предположить, что дикумарол и варфарин являются антагонистами витамина К.

Ранее делались попытки лечения болезни сладкого клевера витамином К, но в итоге они были неудачными. Это удивляло Линка, так как он знал о том, что кровотечение быков лечили витамином К, приготовленным из сена люцерны. Неудачи эти связывали с менадионом, который отсутствовал в боковых цепях витамина K1 и K2, а также небольших доз. В 1942 и 1943 Townsend и Mills, Lehmann и Shapiro et al. обнаружили, что витамин К был эффективен в отношении оральных антикоагулянтов, если назначался в дозах, достаточных для того, чтобы преодолеть антивитаминовый эффект.

Ряд синтетических антикоагулянтов (кумаринов и инданедионов) впоследствии применяли в практике под различными названиями Тромексан, Диндеван, Маркумар, Синтром и варфарин. Одним из первых пациентов, получавших успешную терапию составом Линка №42 в 1953 году, был американский президент Дуайт Эйзенхауэр после коронарного тромбоза. А то, что хорошо для героя

II Мировой войны и Президента США, должно быть хорошо для всех, несмотря на то, что это — «крысиный яд». Варфарин теперь является самым широко используемым и во многих странах единственным оральным антикоагулянтом, поскольку последние исследования подтверждали его преимущества перед другими производными дикумарола, что детальнее будет изложено в следующих главах.

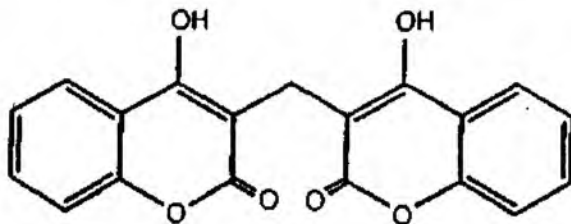
Таким образом, растительный антикоагулянт сладкого клевера, явившийся причиной тяжелой геморрагической болезни скота в 1920-е — 1930-е годы, был открыт в той части страны, где и разразилась болезнь. А сам токсин, дикумарол, и его улучшенный аналог, варфарин, значительно повлияли на лечение болезней человека, контроль над грызунами и, что немаловажно, на открытие компонентов механизма свертывания крови.

2. Структура и механизм действия антагонистов витамина К

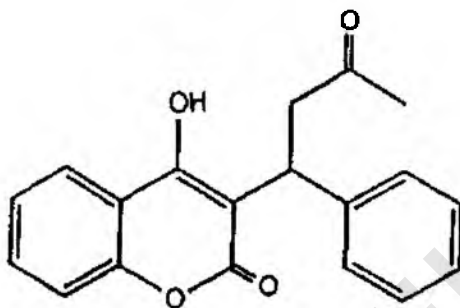
Успехи в понимании метаболизма и функции витамина К в синтезе протромбина позволили установить роль витамина К как кофактора в посттрансляционном синтезе γ -карбоксиглутаминовой кислоты (Gla) в структуре витамин К-зависимых факторов свертывания крови (факторы II, VII, IX, X, протеины С и S). Варфарин, наиболее широко используемый (а во многих странах и единственный) оральный антикоагулянт во всем мире, ингибирует синтез Gla-остатков в витамин К-зависимых белках, противодействуя нормальному обмену витамина, необходимого для образования активности кофактора карбоксилирования.

История открытия витамина К датируется началом 1930-х годов, когда Henrik Dam обнаружил антигеморрагический жирорастворимый фактор в пище цыплят. Фактор был назван витамином К по первой букве слова «Coagulation» на немецком языке, указывая связь между свертыванием крови и открытым новым фактором. Пятью годами позже витамин был выделен из люцерны и гниющего рыбного корма, структура же была подтверждена химическим синтезом.

Примерно в то же самое время, когда H. Dam наблюдал геморрагическую болезнь у цыплят, получавших корм с низким содержанием жиров, что в дальнейшем повлекло открытие им витамина К, новая загадочная геморрагическая болезнь наблюдалась у рогатого скота, питавшегося испорченным сладким клевером на лугах США и Канады. Замена перегнившего или влажного сена из сладкого клевера на другой корм или переливание крови от здорового скота купировало кровотечение, что свидетельствовало об обратимом характере нарушений, ведущих к кровотечению. Геморрагический агент позже был выделен и идентифицирован в лаборатории Карла Линка как 3,3'-метилен бис-(4-гидроксикумарин), который позже получил название дикумарол. После открытия дикумарола было синтезировано несколько сотен его производных. Однако наиболее удачным и часто применяемым в мире оральным антикоагулянтом по сей день является варфарин (рис. 58). Поскольку дикумарол был плохорастворим в воде, а потому требовались большие его дозы для достижения антикоагулянтного эффекта, в лаборатории Карла Линка был синтезирован его аналог под №42, который и получил название варфарин. Варфарин был водорастворим и обладал большей антикоагулянтной активностью. Впервые в качестве антикоагулянтного препарата в клинической практике варфарин был применен в 1941 году. Предпосылками же к применению варфарина у человека с лечебной целью (а не только с целью уничтожения грызунов) послужили наблюдения случаев отравления варфарином людей — случайно или с целью самоубийства. При этом обнаружилось, что единственным патологическим эффектом варфарина при отравлении было снижение функциональной активности свертывающих факторов крови. Никаких других существенных эффектов не обнаруживалось. Исследования механизма действия витамина К в значительной мере помогло то, что с помощью варфарина можно было достичь гипопротромбинемии.



Дикумарол



Варфарин

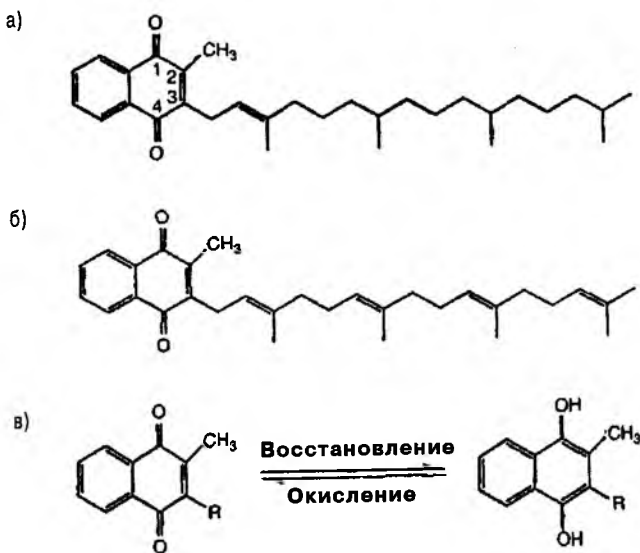
Рис. 58. Химическая структура дикумарола и его синтетического аналога варфарина.

Структура естественных витаминов К, встречающихся в природе, представлена на рис. 59. Витамин К1 (филлохинон) обнаружен в пищевых продуктах и растительных маслах. Растительный витамин является по своей структуре нафтохиноном с насыщенной боковой полиизопреноидной цепью в положении 3.

Витамин К2 (менахинон) обнаружен в бактериях и имеет ненасыщенную боковую цепь переменной длины в положении 3.

Для объяснения биологического действия витамина К было предложено несколько теорий, пока не выяснилось, что витамин К участвует в пострибосомальном синтезе γ -карбоксиглутаминовой кислоты витамин К-зависимых протеинов. Такой вывод позволили сделать, по меньшей мере, два важных наблюдения. Первое, Shah и Suttle продемонстрировали, что неактивные предшественники протромбина в печени крыс при дополнительном введении витамина К преобразовывались в активный протромбин у крыс, получавших циклогексимид с целью подавления синтеза белков в печени. Второе, были обнаружены неактивные формы протромбина в плазме людей и животных, получавших 4-гидроксикумарин-содержащие антикоагулянты. Благодаря длительному поиску различий между активными и неактивными плазменными формами протромбина было обнаружено, что витамин К-зависимая модификация происходит в области N-концевого P1-фрагмента протромбина. Stenflo et al. идентифицировали эту модификацию как γ -карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты. Независимо от Stenflo et al., Nelsestuen et al. обнаружили данную модификацию в области дипептида (Gla-Ser) бычьего протромбина.

Позже Magnusson et al. обнаружили, что первые N-концевые Glu-остатки протромбина γ -карбоксилированы. Новая аминокислота, образующаяся под действием витамина К была названа γ -карбоксиглутаминовой кислотой и обозначена аббревиатурой Gla. Последовательно обнажаясь, Gla-остатки связываются с кальцием, и тем самым опосредуют одну из важнейших функций ионов кальция и системы гемостаза в целом — связывание витамин К-зависимых факторов



а) филлохинон (витамин К1, фитонадион), 2-метил-3фитил-1,4-нафтохинон; б) менахинон 4, один из менахинонов, с объединенным названием витамин К2; в) менадион (3-метил-1,4-нафталендион).

Рис. 59. Химическая структура различных форм природного витамина К.

свертывания с отрицательно заряженными фосфолипидными поверхностями, предоставляемыми тромбоцитами крови и эндотелиальными клетками в области повреждения эндотелия. При назначении варфарина формирование Gla-остатков в витамин К-зависимых факторах свертывания значительно ингибируется, что ведет к биосинтезу факторов свертывания крови со сниженной способностью к образованию связей с ионами кальция. В свою очередь, дефект связывания с ионами кальция ведет к неспособности этих факторов участвовать в коагуляционном каскаде.

Карбоксилаза является интегральным мембранным белком эндоплазматической сети и участвует в качестве фермента в модификации различных секреторных протеинов внутри эндоплазматической сети. Исследования показали, что витамин К-зависимые протеины содержат сигнальный пептид для трансляции внутрь эндоплазматической сети и пропептид, который связан с сигнальным пептидом в области N-концевой части зрелого протеина. Под действием сигнальной пептидазы происходит кливаж сигнального пептида, а пропептид «обнажается» и становится доступным для распознавания, после чего уже возможен процесс γ -карбоксилирования витамин К-зависимых протеинов под действием витамин К-зависимой карбоксилазы (модификация, или «созревание» витамин К-зависимых протеинов в эндоплазматической сети).

Как выяснилось, процесс витамин К-зависимого карбоксилирования требует наличия молекулярного кислорода, диоксида углерода и максимально восстановленной формы хинона витамина К — гидрохинона витамина К (рис.60).

Поскольку наиболее распространенной формой витамина К являются хиноны, непосредственно до начала реакции γ -карбоксилирования, необходимо восстановление их до гидрохинонов под действием различных редуктаз, присутствующих в тканях, где происходит синтез протеинов, содержащих γ -карбоксиглутаминовую кислоту. До этого наблюдения в печени крыс был идентифицирован другой метаболит витамина К, получивший название эпоксида витамина К.

Редуктаза эпоксида витамина К и витамин К-редуктаза блокируются антагонистами витамина К.

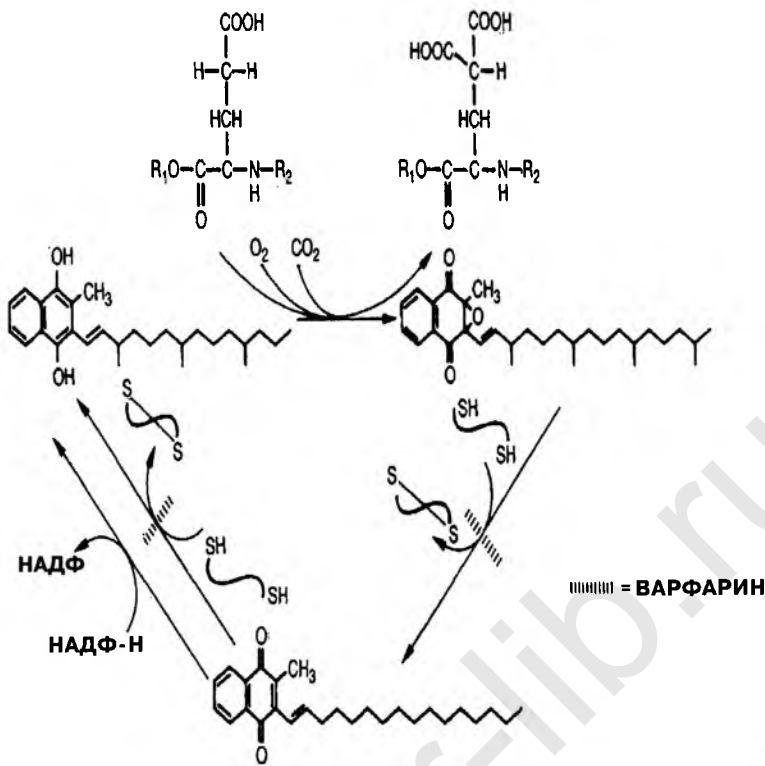


Рис. 60. Цикл витамина К, отображающий метаболические процессы, необходимые для функционирования витамина К в качестве кофактора. Метаболическая цепь может быть прервана варфарином на этапе превращение эпоксида в хинон и хинона — в гидрохинон с участием сульфгидрил-чувствительных энзимов.

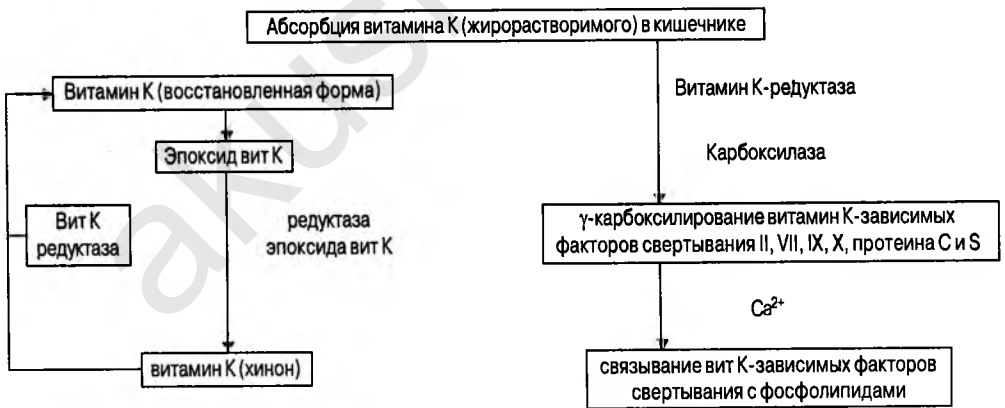


Рис. 61. Механизм действия антагонистов витамина К на синтез витамин К-зависимых факторов. Витамин К, поступающий с пищей необходим для процесса карбоксилирования факторов VII, IX, X, II, протеинов С и S. Варфарин и другие антагонисты витамина К препятствуют синтезу активных (карбоксилированных) факторов свертывания через ингибицию редуктазы эпоксида витамина К и витамин К-редуктазы.

Позже было установлено, что оба эти метаболита были частью цикла витамина К в печени. Цикл витамина К и его роль в γ -карбоксилировании представлены на рис. 61. Восстановление хинона витамина К до его гидрохинона может осуществляться двумя путями. Гидрохинон витамина К является активным кофактором карбоксилазы, а в процессе γ -карбоксилирования превращается в эпоксид витамина К. Однажды образовавшись, эпоксид витамина К может, после энзиматического восстановления, вступать в рециркуляцию в качестве кофактора карбоксилазы. Фермент, который регулирует нормальные концентрации витамина К в тканях, неизвестен, однако *in vitro* в его роли может выступать дитиотрептол (ДТТ). Предполагают, что *in vivo* восстановленная форма липоевой кислоты и тиоредоксин могут выступать в качестве естественных восстановителей.

Редуктаза эпоксида витамина К и редуктаза хинона витамина К являются основными мишенями антикоагулянтов, содержащих 4-гидроксикумарин, таких как варфарин и пр. Ингибция этого метаболического пути по существу, необратима. Тем не менее, витамин К часто используют в качестве антидота при передозировке оральными антикоагулянтами. Такой эффект витамина К обусловлен другой редуктазой хинона, которая «работает» при условии высокой концентрации витамина К, не ингибируется варфарином и требует наличия NADH.

Впервые один из механизмов действия 4-гидроксикумариновых антикоагулянтов описал в своей работе Matschiner et al., который продемонстрировал аккумуляцию эпоксида витамина К в печени у крыс после назначения варфарина.

Вначале существовало мнение, что эпоксид является ингибитором эффектов витамина в печени. Однако позже это мнение было опровергнуто.

Другое важное наблюдение привело к открытию: варфарин не ингибировал *in vitro* витамин К-зависимую карбоксилазу. Это наблюдение легло в основу гипотезы, согласно которой цикл витамина К нарушается в печени варфарином. Позже ингибируемый варфарином фермент был назван редуктазой эпоксида витамина К. Эта теория получила подтверждение в дальнейших экспериментальных исследованиях: было отмечено, что на ферменты цикла витамина К варфарин значительно хуже действовал у варфарин-резистентных крыс. В дальнейшем в результате кинетического анализа энзимов микросомальных препаратов появилась наиболее вероятная модель восстановления эпоксида витамина К и хинона витамина К. Энзим в своем активном участке содержит тиоловые группы, которые окисляются одновременно с восстановлением витамина К (окислительно-восстановительная реакция). Варфарин способен связываться с окисленными тиоловыми группами, препятствуя тем самым дальнейшему восстановлению эссенциальных тиоловых групп, необходимых для осуществления энзиматической активности.

Влияние пищевых продуктов на эффекты антагонистов витамина К

Причины нестабильности антикоагулянтной терапии могут быть весьма разнообразны и включают взаимодействие с другими лекарственными средствами, врожденную варфаринорезистентность, существование множества форм атипичных протромбинов, содержащих от 0 до 9 G1a-остатков с различной степенью свертывающей активности, а также от особенностей питания. В настоящее время уже разработаны специальные перечни пищевых продуктов, которые могут взаимодействовать с варфарином, влияя тем самым на антикоагулянтный эффект. Как правило, наиболее важные из них указываются в специальном паспорте, который в Великобритании, США, Германии выдается пациентам, которые амбулаторно получают варфарин. Первые у крыс была описана обратная связь между количеством белка, получаемого с пищей, и антикоагулянтным эффектом. В 1970 году появились первые противоречивые сообщения о влиянии аскорбиновой кислоты в виде пищевой добавки на антикоагулянтный эффект варфарина. Хотя

влияние на антикоагулянтный эффект было дозо-зависимым, тем не менее не было представлено механизмов нарушения метаболизма варфарина. Высокие дозы витамина E (более 1200 IU) усиливают активность варфарина, повышая потребность в витамине K в несколько раз. Кроме того, было продемонстрировано, что и алкоголь влияет на антикоагулянтный эффект варфарина дозо-зависимым способом: влияние на эффект зависит от объема и частоты потребления алкоголя. В то же время, согласно исследованиям O'Reilly, умеренное потребление вина не влияет на стабильность антикоагулянтной терапии независимо от того, употребляется алкоголь «на голодный желудок» или во время еды.

Однако наиболее очевидным кажется влияние пищевых продуктов и добавок на эффект варфарина, в зависимости от содержания в них витамина K (а точнее филлохинона), хотя надо заметить, что в многочисленной литературе по этому поводу существует большая путаница. Возможно, это объясняется еще и тем, что утвердилось такое мнение, что около 50% необходимого человеческому организму витамина K он получает эндогенно, в форме менахинона, производимого кишечными бактериями. Однако эта теория не подтвердилась экспериментальными исследованиями, и в настоящее время известно, что главным источником витамина K является филлохинон. Ежедневная потребность в витамине K составляет около 1 мкг/кг веса тела. Поступая с пищей, витамин K быстро всасывается в кишечнике и транспортируется в печень в составе богатых липидами хиломикронных частиц.

Уже в 1965 году было обнаружено, что диета может влиять на протромбиновое время. Миллиграмм по миллиграмму шел поиск дозы филлохинона, которая была бы активнее варфарина. Благодаря экспериментальным исследованиям выяснилось, что, по меньшей мере, 0,5 мг филлохинона могут эффективно нивелировать антикоагулянтный эффект варфаринотерапии.

В процессе участия филлохинона в цикле витамина K требуется другая редуктаза для восстановительных реакций, отличающаяся от других редуктаз тем, что не ингибируется варфарином. В результате образуется активный гидрохиноновый кофактор через варфарин-нечувствительный пиридин-зависимый путь. Достаточное для осуществления такого эффекта содержание филлохинона может быть в пище, содержащей большие количества зеленых (листовых) овощей или некоторые приправы — для салатов на основе растительных масел.

В мировой литературе описываются случаи нестабильных результатов антикоагулянтной терапии в результате влияния пищевого рациона и поступления филлохинона с пищей. При этом, было выделено 3 класса пациентов: 1) пациенты, пищевой рацион которых содержит богатые витамином K продукты, что нивелировало антикоагулянтный эффект варфаринотерапии; 2) пациенты, которым вследствие изменения пищевого рациона с повышенным содержанием витамина K в продуктах пришлось повысить дозу варфарина для поддержания достаточного антикоагулянтного эффекта; 3) пациенты, изменившие свой пищевой рацион и снизившие таким образом поступление витамина K с пищей; при этом наблюдался эффект чрезмерной антикоагуляции.

Однако в литературе встречаются и несоответствия относительно содержания филлохинона в некоторых продуктах. Например, Blickstein et al. описали двух пациентов, у которых антикоагулянтная терапия варфарином проводилась успешно, несмотря на то, что они включили в пищевой рацион авокадо. Тем не менее, он считает, что авокадо — продукт, содержащий чрезвычайно малое количество филлохинона. Flannery et al. заявили о существовании так называемого «синдрома японского ресторана» на основании наблюдения одного пациента, у которого развилась выраженная гипопротромбинемия, причиной которой авторы сочли исключительное потребление пациентом блюд японской кухни. Этот феномен впоследствии был оспорен Aoki; в то же время других подобных сообщений также не отмечалось.

Что касается продуктов для энтерального питания, то чаще всего именно у пациентов, получающих такое питание, отмечались случаи резистентности к варфаринотерапии, что было связано с высоким содержанием в них филлохинона. В последнее время, учитывая потенциально антагонистическое взаимодействие с варфарином, уровень филлохинона был снижен в этих продуктах. Другие исследователи отмечают, что при длительной постоянной инфузии липидной эмульсии развивается резистентность к варфарину. Lennon et al. позже подтвердили, что эмульсии липидов, вводимые внутривенно, могут потенциально влиять на статус витамина К в организме и эффективность варфаринотерапии, измерив содержание филлохинона в липидных эмульсиях. Pettei et al. также подтвердили это мнение, поскольку обнаружили, что у детей, получавших исключительно парентеральное питание с препаратами мультивитаминов, содержание филлохинона в сыворотке крови было выше, чем в контрольной группе детей.

Исследования Pedersen et al. и Ovesen et al. показали, что зеленые листовые овощи, которые содержат высокие концентрации филлохинона, снижают антикоагулянтный эффект варфарина; в то же время было отмечено, что овощи, содержащие малые количества филлохинона не влияют на антикоагулянтный ответ.

В противоположность этим наблюдениям Karlson et al. обнаружили, что одноразовый прием средней порции зеленых листовых овощей значительное влияние на протромбиновое время не оказывает, и подвергли сомнению влияние филлохинона, поступающего с пищей, на антикоагулянтный эффект варфарина. В то же время исследователь не отверг мнения, что длительный прием в больших количествах продуктов богатых филлохиномом может дозо-зависимым способом влиять на антикоагулянтный эффект варфарина.

Одной из основных причин некоторого замешательства относительно таких противоречивых данных долгое время оставались ограниченные данные относительно точного содержания филлохинона в различных продуктах. Более ранние данные о содержании витамина К в продуктах основывались на результатах биологических исследований, которые имели широкую вариабельность. Учитывая это обстоятельство, последние таблицы содержания филлохинона в продуктах были составлены исключительно на основе данных, полученных с использованием более чувствительного метода жидкостной хроматографии (табл. 40). Эти новые данные подтвердили старые данные относительно высокого содержания филлохинона в некоторых пищевых продуктах типа темных зеленых листовых овощей и некоторых растительных масел. Однако были получены и отличные от старых данные, относительно содержания филлохинона в других продуктах. Так, если ранее утверждалось, что кофе, чай, печень и яйца являются богатыми источниками филлохинона, то последние исследования не подтвердили этих данных. Обжаренный кофе и сухой чай содержат незначительные количества филлохинона; однако бобы и свежие листья чая содержат высокие количества этого витамина. Яичный желток в среднем содержит 2,0 мкг филлохинона на 100г желтка, в то же время яичный белок содержит незначительное количество витамина К. Печень животного происхождения (свиная, говяжья, куриная) содержит 1—12 мкг филлохинона на 100г печени. С другой стороны, недавний анализ более 260 наиболее употребляемых в США продуктов питания показал, что среди них много источников филлохинона, что ранее не учитывалось. Так, например, некоторые продукты, содержащие незначительные количества филлохинона в сыром виде, после производственной обработки (например, с использованием масел, богатых филлохиномом) становились дополнительными источниками филлохинона в пищевом рационе. Это, конечно же, вносило дополнительные трудности в процесс разработки пищевых рационов диетологами и соответственно влияло и на антикоагулянтную терапию варфарином.

Содержание филлохинона в различных продуктах.

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Молочнокислые продукты	
<i>Молоко</i>	
3,5% жирность	0,3
2% жирность	0,2
Нежирное	0,02
3,5% молочный порошок	2
Топленое 3,5%	1
Шоколадное 2%	0,3
Соевое	4
<i>Йогурты</i>	
10% жирность неспециф. ароматизаторы	0,8
Натуральный, низкая жирность	0,3
С фруктовыми ароматизаторами, низкая жирность	2
С фруктовыми ароматизаторами, замороженный	0,7
<i>Сыры</i>	
Бри	2
Чеддер	4
Домашний	0,4
Сливочный сыр	3
Чеддер, датский голубой	4
Плавленый (американский)	3
Рокфор	5
Швейцарский	3
<i>Сливки</i>	
Двойные	6
50 на 50	1
Сметана	1
Заменитель замороженный	6
<i>Яйца</i>	
Вареные	0,3
Жареные	7
Яичница-болтуня	12
Белок	0
Желток	0,9

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Мясо, домашняя птица и рыба	
Бекон	0,05
<i>Говядина</i>	
Жареная	0,7
Сырой фарш	1
Изделия из фарша	2
Бифштекс	1
<i>Куры</i>	
Жареные грудки	0
Жареные по-домашнему	4,5
Жареные (фаст-фуд)	1
Говяжьи сосиски, вареные	2
Ветчина	0
Баранина	5
<i>Печень</i>	
Говяжья сырая	9
Говяжья жареная	3
Баранья, сырая	7
Печень вола, сырая	1
Печень кролика, сырая	12
<i>Свинина</i>	
Филе	0,03
Жареная	0
Отбивная	3
Сосиски	2
Салями	1
Грудки индейки, жареные	0,01
Телячья котлета	7
Моллюск	0,2
Треска (филе)	0,01
Печень трески в масле	0,3
Рыбные палочки мороженые	7
Пикша	5
Макрель	5

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Устрицы	0,1
Лосось красный, консервированный в воде	0,3
Сардины	0,09
<i>Креветки</i>	
Неспецифического приготовления	0,03
Вареные	0
Кальмары	0,02
<i>Тунец</i>	
Консервированный в воде	0,2
Консервированный в масле	24
Орехи и бобовые	
Черные бобы	5
Горох	12
<i>Фасоль</i>	
Сухая	19
Вареная	8
Консервированная	4
Чечевица	22
Бобы лимы	6
Мисо, сухая	11
Смесь орехов, исключая арахис	13
Бобы тунг	140
Морские бобы	2
Арахис, сухой жареный	0,3
Арахисовое масло	0,3
Горох вареный	5
Пекан	10
Фисташки	70
Свинина с бобами, консервированная	1
Семена сезама	8
<i>Соя</i>	
Сухая	47
Жареная	37
Тофу	2

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Злаковые	
Ячмень сухой	4
Бисквитное тесто мороженое, испеченное	5
Отруби пшеничные	10
<i>Хлеб</i>	
Коричный	8
Мелкого помола	4
Батон белый	2
Батон цельнозерновой	5
Белый	2
Цельнозерновой	3
Ржаной	3
Пшеничная мука	7
<i>Злаки</i>	
Хлопья отрубей	2
Кукурузные хлопья	0,04
Хлопья с фруктовым ароматом	0,2
Овсяные	0,8
Рисовые хлебцы	0,08
С отрубями	2
Вафли	0,09
Кукурузный хлеб	7
<i>Крекер</i>	
Масляный тип	13
Солёный	4
Яичная лапша, вареная	0,09
Макароньы вареные	0,05
Просо сухое	0,9
<i>Горячая сдоба</i>	
Черничная	25
Английская	0,3
Овес, неспецифического приготовления	10
<i>Овсянка</i>	
Сухая	3
Приготовленная	0,4

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Блины	7
<i>Рис</i>	
Белый сырой	0,04
Белый приготовленный	0
Мука рисовая	0,04
Спагетти сухие	0,2
Пшеничная мука	0,8
Фрукты	
<i>Яблоки</i>	
С кожурой	4
Без кожуры	0,7
Сок	0,01
Соус в бутылках	0,6
<i>Абрикосы</i>	
Консервированные	5
Сырые	3
<i>Авокадо</i>	
Авокадо с кожицей, сырое	14
Бананы	0,2
Черника	6
Вишня	2
<i>Клюква</i>	
Сырая	2
Сок	0
Соус	1
<i>Инжир</i>	
Инжир	3
Фруктовый коктейль консервированный	2
<i>Виноград</i>	
Зеленый	8
Красный	5
Сок	0,3
<i>Грейпфрут</i>	
Сырой	0,02
Сок	0,02

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Киви с кожурой	25
Лимон с кожурой	0,2
Лимонад	0,05
Манго с кожурой	0,5
Нектарины	3
<i>Апельсин</i>	
С кожурой	0,05
Сок	0,04
Персики консервированные	2
<i>Груши</i>	
С кожурой	6
Консервированные	0,4
<i>Ананас</i>	
Консервированный /свежий	0,2
Сок	0,5
<i>Слива</i>	
Красная	8
Зеленая	15
Тыква, консервированная	16
Изюм сухой	3
Клубника	2
Арбуз	0,3
Овощи	
Артишоки	14
<i>Спаржа</i>	
Сырая	40
Свежая/мороженая вареная	80
<i>Бобы</i>	
Зеленый сырой	50
Зеленый мороженный	30
Зеленый свежий/мороженный вареный	16
<i>Свекла</i>	
Сырая	2
Вареная	1

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
<i>Брокколи</i>	
Сырая	205
Мороженая	146
Вареная	192
<i>Брюссельская капуста</i>	
Сырая	161
Верхний лист	438
Вареная	289
<i>Капуста</i>	
Свежая вареная	289
Зеленая сырая	487
Красная сырая	30
Белая сырая	80
<i>Морковь</i>	
Сырая	6
Мороженая	7
Вареная	16
<i>Цветная капуста</i>	
Сырая	5
Мороженая	13
Вареная	15
Сельдерей	18
Салат «колу-слоу» (капуста+морковь)	78
<i>Кукуруза</i>	
Вареная	0,3
<i>Огурцы</i>	
С кожурой	22
Без кожуры	2
<i>Баклажаны</i>	
Сырые	3
Вареные	3
<i>Чеснок</i>	
Свежий	0.1
порошок	0,7

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Капуста, листы	817
Лук-порей	14
<i>Салат</i>	
Темно-зеленый лист	850
Айсберг и др.	123
Красный лист	210
Грибы	0,02
Горчица зеленая, сырая	170
Лук	0,1
<i>Горох</i>	
Зеленый сырой	36
Зеленый мороженный	24
Зеленый вареный	24
<i>Перец</i>	
Зеленый сырой	13
Красный сырой	2
<i>Картофель</i>	
Сырой с кожурой	0,6
Печеный с кожурой	3
Печеный без кожуры	0,2
Вареный без кожуры	0,3
Сладкий консервированный	4
Сладкий печеный	2
Жареный	6
Фри	4
Пюре	5
Редис	0,3
Ревень	4
Квашеная капуста	19
<i>Шпинат</i>	
Листья сырые	383
Вареные	360
<i>Томаты</i>	
Красные сырые	6

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Сок	2
Соус	3
Тушеные консервированные	2
Репа белая	0,5
Репа зеленая	251
Овощной сок	5
Кресс-салат	315
Цуккини	3
Масла и заправки	
Миндальное масло	7
Сливочное масло	7
Кокосовое масло	0,4
Кукурузное масло	3
<i>Маргарин</i>	
Неспецифически приготовленный и/или масляный	51
Майонез	63
Оливковое масло	55
Оливковое/подсолнечное масло	28
Пальмовое масло	8
Арахисовое масло	1
Подсолнечное масло	8
<i>Заправки для салата</i>	
Обычная	123
Обезжиренная	11
Соевое масло	193
Масло грецких орехов	15
Смешанные продукты, готовые блюда	
<i>Говядина</i>	
Тушеная с овощами	5
Беф-строгановф	2
Цыгленок	3
Яйцо, сыр, ветчина на булочке, фаст-фуд	4
Рыбный бутерброд на булочке, фаст-фуд	17
Хот дог	4

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
<i>Замороженная еда</i>	
Стейк	2
Индейка с заправкой	5
Гамбургер, четверть фунта, фаст-фуд	4
Лазанья с мясом домашняя	5
Макароны с сыром	5
Мясной рулет домашний	9
<i>Пицца</i>	
Сырная	4
Сыр и пепперони	4
<i>Супы</i>	
Говяжий	0,9
Куриная лапша	0,1
Сливочный с моллюском	0,3
Грибной с молоком	2
Томатный	2
Овощной с говядиной	0,6
Спагетти с томатным соусом и фрикадельками	6
Десерты	
<i>Торты</i>	
Желтый или белый мороженный	9
Шоколадный	6
Шоколадный с мороженым	13
Карамель	2
Шоколад	0,4
<i>Печенье</i>	
Шоколадное	10
Сэндвич со сливками	9
Сахарное	11
Заварной крем	0
Пончики	10
Желатиновая заправка	0,02
Мороженое ванильное сливочное	0,5
Мороженое молочное ванильное	2

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
<i>Пирог</i>	
Яблочный	11
Тыквенный	10
Шоколадный пудинг	4
Фруктовый щербет	0,7
Сладкий рулет (датский)	11
Напитки	
Пиво	0
Газированные напитки	0
<i>Кола</i>	
Обычная	0
Диетическая	0
<i>Кофе</i>	
Натуральный	0
Без кофеина	0,02
<i>Фруктовые напитки</i>	
Консервированные	0,02
Из порошка	0
Мартини	0
Саке	0
<i>Чай</i>	
Зеленый	964
Черный	342
Вода	0
Виски	0
Вино красное или белое	0
Приправы и подслащающие вещества	
Разрыхлитель	0
Соус барбекю	3
Экстракт лимона или миндаля	0
Фруктовая пастила	0,3
Мед	0,01
Острый соус	3
Фруктовое желе	7

Продукты	Филлохинон (мкг/100г продукта)
Горчица сухая	1
Горчица желтая	2
Оливки черные	1
Сироп для блинов	0
Огуречный рассол	21
Соль	0,01
Соевый соус	0,02
Сахар белый	0
Ванильный сахар	0
Кукурузные чипсы	7
Попкорн	20
Картофельные чипсы	12

Исследования Hirsch и Fuster продемонстрировали, что снижение всасывания витамина К, связанное с состоянием мальабсорбции жиров, потенцирует эффект варфарина. Такой же феномен наблюдается и у пациентов, получающих мало витамина К с пищей, что аггравруется одновременным приемом антибиотиков и внутривенной инфузией жидкостей без добавления филлохинона. Karla et al. описали случай передозировки антикоагулянта (варфарина) у женщины, которая в связи с семейной историей ишемической болезни сердца получала диету с низким содержанием жиров. Chow et al. описали подобный феномен у мужчины, который придерживался диеты с низким содержанием пуринов в связи с подагрой.

Обе группы исследователей изучали также влияние употребления в пищу печени животного происхождения на уровень антикоагуляции. С этой целью из пищевого рациона пациентов была исключена печень. И хотя, как ранее уже указывалось, печень не является богатым источником филлохинона, согласно проведенным этими учеными экспериментам, удаление печени из рациона способствовало усилению антикоагулянтного эффекта варфарина. Возможно, такой результат был связан с тем, что из рациона были удалены и другие, богатые филлохиноном продукты, а также с отсутствием полного диетического анализа и данных о содержании менахинона в печени животных. Эти обстоятельства усложняют подтверждение существования взаимосвязи между приемом продуктов из печени и антикоагулянтным ответом на фоне прием варфарина.

Отдельный интерес представляют клинические наблюдения взаимодействия филлохинон-варфарин у пациентов, получающих пищевые добавки и специальные диеты, часто назначаемые пациентами самостоятельно без ведома врачей. В большинстве случаев подобный антагонизм возникает, когда пациенты, соблюдая диету для снижения веса, начинают в больших количествах употреблять зеленые листовые овощи (шпинат, брокколи и пр.). В литературе описан случай, когда женщина получала, сама того не зная, энтеральное питание, богатое филлохиноном, в магазине здоровой пищи, что первоначально было упущено из виду в том числе и врачом, который назначил пациентке варфарин. Аналогичный случай взаимодействия «пища-лекарство» был описан у пациента, кото-

рый, прочитав о пользе витамина Е в популярном журнале, наряду с варфарином стал принимать мегадозы витамина Е.

Учитывая все большую популярность пищевых добавок в профилактике и лечении различных патологических состояний, при назначении антикоагулянтной терапии необходимо учитывать возможное лекарственное взаимодействие. Кроме того, следует признать, что многие пациенты, получающие антикоагулянтную терапию, часто соблюдают и ограничительные диеты в связи с наличием сердечно-сосудистых заболеваний. Изменения образа питания при этом, прежде всего, подразумевает уменьшение жиров в рационе и включение свежих овощей. Такие изменения диеты могут влиять на успешность антикоагулянтной терапии. Успешность антикоагулянтной терапии варфарином, таким образом, в значительной мере зависит от контроля пищевого рациона и учета содержания в пищевых продуктах и пищевых добавках витамина К.

Появившаяся в последние годы тенденция к «минидозам» варфарина в начале терапии (1—2,5 мг) и постоянный лабораторный мониторинг наряду с тщательной оценкой диеты, прежде всего, преследуют цель предупреждения возможных геморрагических осложнений.

Витамин К-зависимые гемостатические механизмы

Семейство витамин К-зависимых протеинов свертывающей системы, функции которых известны, включает пять зимогенов: протеин С, протромбин, а также факторы VII, IX и X. Только протеин S, синтез которого также зависит от витамина К, не является зимогеном и выступает в роли кофактора протеина С. Все эти факторы играют центральную роль в гемостатическом механизме. Витамин К-зависимые зимогены имеют гомологичную структуру: 4 домена простираются от амино- до карбоки-конца — это домен γ -карбоксиглутаминовой кислоты (Gla-домен), два домена эпидермального фактора роста, два «крингл»-домена и домен сериновой протеазы (рис. 62).

Витамин К-зависимые протеины содержат гомологичные препропептидазы, которые играют главную роль в процессе посттрансляционной модификации, включая γ -карбоксилирование, гликозилирование, β -гидроксилирование и секрецию. Зимогены синтезируются в печени, протеин S — не только в печени, но также и эндотелиальными клетками и мегакариоцитами. Как только зимогены превращаются в активные формы энзимов, последние сразу же связываются с анионными фосфолипидными поверхностями в присутствии кофакторов и ионов кальция. Каждый мембрано-связанный комплекс энзим-кофактор расщепляет витамин К-зависимый зимоген до активной формы. Формирование таких макромолекулярных энзимных комплексов играет ключевую роль в контроле гемостатической функции. Образовавшиеся комплексы значительно (более чем на 5 порядков) увеличивают интенсивность реакций в системе свертывания. Однако скорость реакций может значительно уменьшаться в отсутствие даже одного компонента макромолекулярного комплекса. На рис. 63 представлена модель сборки витамин К-зависимых макромолекулярных комплексов с последовательной активацией зимогенов.

Связывание с мембранными фосфолипидными поверхностями является необходимым условием функционирования витамин К-зависимых протеинов свертывания и осуществляется их Gla-доменами. Эти домены содержат до 12 Gla-остатков, девять из которых представлены во всех витамин К-зависимых протеинах. Gla-остатки 7, 16, 20 и 26 протеина С необходимы для осуществления антикоагулянтной функции. Так, отсутствие только Gla 20 в молекуле мутантного протеина С у лиц с наследственным дефицитом протеина С ведет к потере мембрано-зависимой антикоагулянтной функции.

Экспериментальные исследования фрагмента 1 протромбина, содержащего Gla-домен, показали, что в присутствии ионов кальция домен претерпевает конформационные изменения; однако, эти конформационные изменения происходят

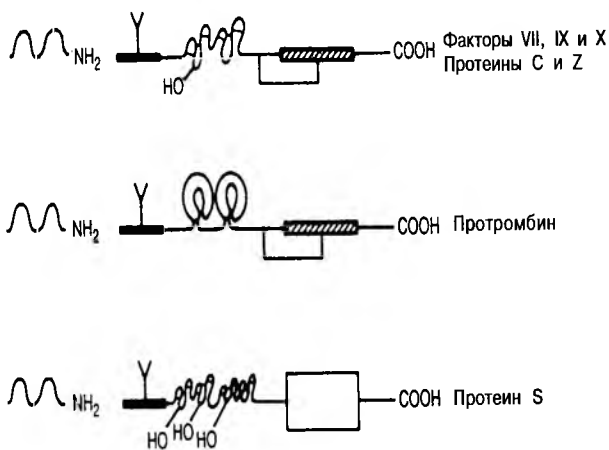
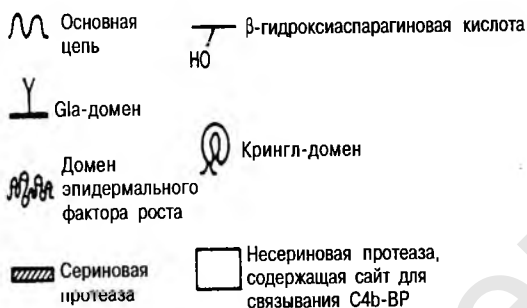


Рис. 62. Расположение гомологичных доменов, представленных в каталитических и некаталитических участках витамин К-зависимых протеинов.



и при концентрациях кальция ниже, чем необходимо их количество для связывания с фосфолипидными мембранами, и, кроме того, они могут происходить и в присутствии ионов металлов, не поддерживающих связывание с мембранами. Таким образом, конформационные изменения в фрагменте 1 протромбина хотя и необходимы, тем не менее, не являются достаточным фактором связывания с мембранными поверхностями.

Оральные антикоагулянты, как уже указывалось, ингибируют γ-карбоксилирование. После ингибиции карбоксилирования, из печени в кровь секретируются некарбоксилированные протеины, которые и функционально отличаются от «нормальных», полностью карбоксилированных протеинов. Эти некарбоксилированные протеины обозначаются аббревиатурой PIVKA (protein induced by vitamin K antagonists).

Ранние исследования показали, что Gla—дефицитарные протромбины имеют менее 3% нормальной активности, но значительно большую активность при активации в течение длительного времени. Последующие исследования показали, что активность протромбина снижается с потерей трех Gla-остатков. Кроме того, снижение степени карбоксилирования пропорционально не только свертывающей активности (11 Gla = 112%, 10 Gla = 100%, 9 Gla = 78%, 8 Gla = 20%, 7 Gla = 7% и 6 Gla и меньше = 2%), но и Ca²⁺— индуцированным конформационным изменениям.

Современная модель изменений в системе гемостаза под действием антагонистов витамина К следующая: минимально декарбоксилированные изомеры витамина К-зависимых коагуляционных протеинов обладают различной способностью связывать Ca²⁺ и липиды и, таким образом, участвовать в образовании макромолекулярных комплексов в области сосудистого повреждения. К сожалению, ни один традиционно используемый метод исследования (ни протромбиновое

время, ни другие более современные методы контроля за антикоагулянтной терапией) не позволяет измерить активность минимально декарбокислированных форм протромбинов, в особенности 8- и 9-Gla-изомеров, которые обладают коагуляционной активностью и в то же время перекрестно взаимодействуют с кальций-зависимыми антипротромбиновыми антителами, специфичными для нормального протромбина. Минимально декарбокислированные формы могут связываться с макромолекулярными комплексами и ингибировать их ферментатическую активность. Данная модель представляет интерес в свете современных представлений об эффективности низких и очень низких доз варфарина. Режимы варфаринотерапии в дозе 1 мг/сутки вызывают незначительные отклонения или не влияют вовсе на результаты традиционных тестов контроля антикоагулянтного эффекта, хотя, возможно, имеют клиническую эффективность с современных позиций. Вероятно, минимально декарбокислированные протеины могут быть функционально важны в тонкой регуляции этих процессов, что указывает на необходимость дальнейшего изучения декарбокислированных форм витамин К-зависимых коагуляционных протеинов. В заключении следует отметить, что с учетом механизма антикоагулянтного действия низких доз варфарина, эффектам алиментарно поступающего витамина К будет придаваться все большее значение в клинической практике, тем более что антикоагулянтный мониторинг пациентов, получающих варфарин, имеет в последнее время тенденцию к упрощению и минимизации.

3. Фармакокинетика варфарина и взаимодействие с другими лекарственными средствами

Варфарин является одним из наиболее широко применяемых оральных антикоагулянтов во всем мире благодаря, в первую очередь, большей, по сравнению с другими антагонистами витамина К, предсказуемости антикоагулянтного эффекта и биодоступности. В нашей стране, к сожалению, долгое время применялись другие антагонисты витамина К (фенилин, пелентан, неодикумарин), которые, безусловно, уступают варфарину и в предсказуемости эффекта и в биодоступности. Несмотря на то, что варфарин был синтезирован более 50 лет назад, в нашей стране он появился лишь недавно (с 2001 года).

Хотя варфарин по-прежнему остается практически единственным оральным антикоагулянтом для эффективной длительной профилактики тромбозов и тромбоэмболий у пациентов с разнообразной патологией, в том числе при протезировании клапанов сердца, фибрилляции предсердий, после инфаркта миокарда и др. состояниях, сопровождающихся тромбофилией, он не стал «идеальным» противотромботическим препаратом. К основным недостаткам в первую очередь относятся необходимость постоянного контроля и осложнения терапии, в частности, кровотечения, которые могут оказаться и фатальными. Хотя в настоящее время появилась возможность более точного контроля варфаринотерапии с помощью международного нормализованного отношения (МНО), что позволило снизить частоту геморрагических осложнений, тем не менее, в некоторых группах пациентов по-прежнему риск геморрагических осложнений остается высоким: прежде всего это относится к пожилым пациентам и пациентам с коморбидными состояниями. Риск осложнений повышается и в тех случаях, когда параллельно необходимо назначение других лекарственных препаратов. Способность варфарина взаимодействовать с лекарствами хорошо известна врачам, применяющим в своей практике оральные антикоагулянты, и многократно описана в обзорах различных исследователей. Однако большинство данных о взаимодействии варфарина с лекарствами основаны на исследованиях *in vitro* и потому не всегда отражают эффекты *in vivo*. В большой степени знание фармакокинетики и фармакодинамики варфарина способствует оценке пользы и эффектов, связанных с одновременным приемом других лекарств.

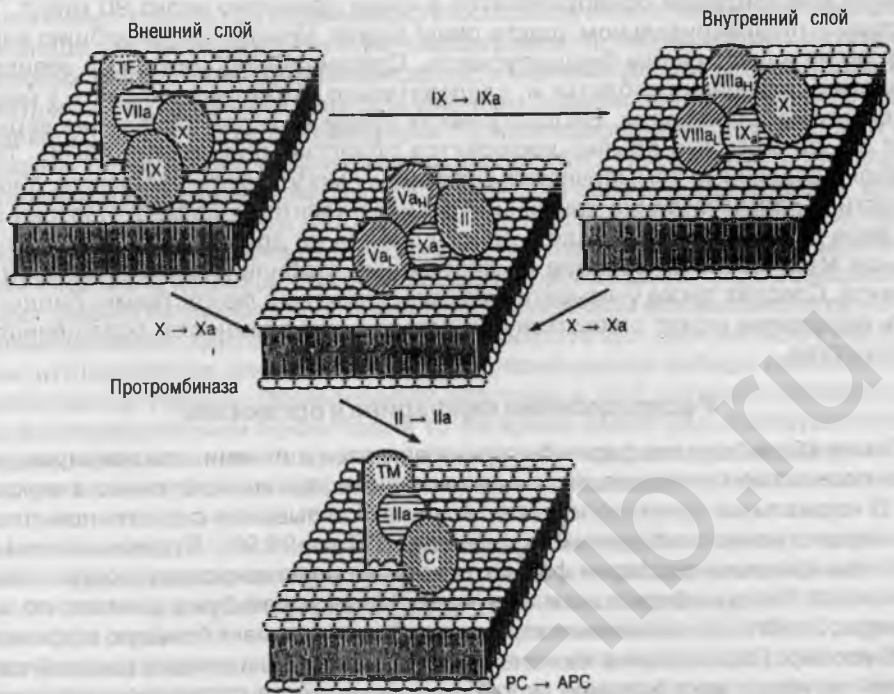


Рис. 63. Витамин К-зависимые энзиматические комплексы (теназы).

Каждый комплекс собирается на фософлипидной поверхности.

Кофакторы — тканевой фактор (TF), тромбомодулин (TM), факторы VIIa и Va связываются с комплементарными сериновыми протеазами — факторами VIIa, Xa, IXa и тромбином (IIa).

Субстратами макромолекулярных комплексов являются факторы IX, X, протромбин (II) и протеин С (C); APC соответствует активированному протеину С.

Фармакокинетика варфарина

Варфарин (1-(4'-гидрокси-3'кумаринил)-1-фенил-3-бутанон) является дериватом кумарина с одним кольцом (рис.60). Впервые он был синтезирован в лаборатории Карла Линка в 40-х годах в Университете Висконсина под названием аналог дикумарола №42. Антикоагулянтный эффект варфарина как антагониста витамина К связан с ингибцией процесса γ -карбоксилирования глутаминовых остатков N-концевых участков витаминов К-зависимых факторов свертывания (II, VII, IX и X) и прерыванием процесса рециклирования витамина К в микросомах печени. Как уже ранее указывалось, вследствие ингибирования γ -карбоксилирования витамин К-зависимых протеинов, последние остаются в форме (PIVKA-факторы), которая не способна связываться с ионами кальция и фосфолипидной поверхностью и участвовать в образовании макромолекулярных теназных комплексов и тем самым — в процессе коагуляции. О важности γ -карбоксилирования и, как следствие, наличия Gla-остатков в молекуле протромбина свидетельствует тот факт, что молекулы протромбина с 5—6 Gla-остатками (в норме их количество колеблется от 10 до 13) обладают лишь 2% полной активности, увеличение же их количества до 9 остатков уже обеспечивает до 70% активности.

Суммарная фармакодинамическая активность варфарина складывается из его собственных фармакокинетических процессов; метаболизма факторов свертывания и наличия витамина К.

Абсорбция варфарина

Варфарин быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и в максимальной концентрации обнаруживается в крови примерно через 90 минут. Присутствие в пищеварительном тракте пищи может замедлять абсорбцию варфарина, но не влияет на его биодоступность. Степень абсорбции также зависит от скорости растворения таблетки и, следовательно, может варьировать у различных фабричных продуктов. Биодоступность среди брендов варфарина варьирует от 5% до 14%, что обычно измеряется областью под кривой (ОПК). Таким образом, различные коммерческие варфаринны могут иметь различную биодоступность и, соответственно, различный антикоагулянтный эффект. Поэтому в целом ряде случаев при переходе с одного бренда на другой требуется дополнительное МНО-мониторирование до достижения стабильного антикоагулянтного эффекта. Следует также учитывать, что как и с другими лекарствами, биодоступность варфарина может снижаться при повышенной влажности, освещенности и температуре.

Распределение варфарина в организме

После абсорбции варфарин быстро появляется в печени, где аккумулируется почти полностью по отношению к другим тканям, преимущественно в микросомах. В нормальных физиологических условиях связывание с протеином плазмы (преимущественно альбуминами) составляет 97,4—99,9%. Будучи связанным с протеинами плазмы, варфарин фармакологически инактивирован и соответственно защищен от биотрансформации и экскреции. Молекула альбумина имеет, по меньшей мере, 2 сайта для связывания варфарина; R-изомер имеет большую аффинность, чем S-изомер. Параллельное назначение препаратов, обладающих высокой связывающей активностью с белками, может способствовать вытеснению варфарина из связи с протеинами, кроме того, возможно и стереоспецифическое замещение варфарина. Некоторые лекарственные взаимодействия, включая стереоселективное связывание с протеинами плазмы (в случаях, когда в процесс вовлекается лишь один энантиомер) могут не изменять концентрацию тех форм варфарина, которые обычно измеряются (рацемат). Однако в настоящее время не фиксируемые взаимодействия интенсивно изучаются, поскольку могут быть клинически значимыми.

При назначении варфарина необходимо принимать во внимание различную степень способности связываться с протеинами плазмы разных изомеров варфарина: S-изомер варфарина почти в 4—8 раз активнее связывается с протеинами плазмы. Поэтому лекарственные взаимодействия, в большей степени влияющие на S-изомер, потенциально имеют большее значение: некоторые взаимодействия со стереоселективными лекарствами могут быть причиной ранее необъяснимых проблем с антикоагуляцией. Однако следует заметить, что замещение связи варфарина с протеином является причиной лишь транзиторного повышения концентрации свободного варфарина. Такие дополнительные количества свободного варфарина становятся доступными для сайтов элиминации, в результате чего общий клиренс его в организме увеличивается. Таким образом, значительное взаимодействие лекарственных средств по подобному механизму встречается не часто или в большинстве случаев носит транзиторный характер. Индивидуальные различия в связывании варфарина с белками плазмы были многократно показаны различными исследованиями; кроме того, было обнаружено, что клиренс значительно коррелирует со связыванием с протеинами.

Малые концентрации свободного варфарина в плазме отражают высокую степень связывания его с белками. Объем распределения рацематного варфарина колеблется в пределах от 0,09 до 0,17 л/кг, составляя в среднем 0,12—0,13 л/кг. Объем распределения R-изомера превышает объем S-изомера, что также отражает различную способность связываться с протеинами.

Акушерам хорошо известно, что варфарин проникает через плаценту и попадает в ткани плода. Именно эта особенность, в основном, ограничивает использование этого антикоагулянта во время беременности. Терапия варфарином на протяжении I триместра беременности ассоциируется с развитием мальформаций плода, получивших название «варфариновой эмбриопатии» с развитием назальной гипоплазии с/без зернистости эпифизов. Эффекты варфарина на костную ткань, вероятно, связаны со снижением содержания γ -карбокситглутамата в остеокальцине — белке костной ткани. Прием варфарина в другие сроки беременности также связан с развитием аномалий ЦНС: прежде всего, это дорсальная и вентральная дисплазия, отсутствие corpus colosum или атрофия зрительных нервов. Применение в III триместре более всего опасно развитием тяжелых геморрагических осложнений у ребенка. Применение варфарина возможно в течение короткого периода II триместра, когда риск тератогенных и эмбриотоксических эффектов минимален. Тем не менее, учитывая все вышеизложенное, основным антикоагулянтом во время беременности все еще остается гепарин, а наши исследования свидетельствуют, что препаратом выбора является низкомолекулярный гепарин (Фраксипарин, Фрагмин и др.), который, обладая отличным антикоагулянтным эффектом, в то же время имеет ряд преимуществ перед нефракционированным гепарином: в числе основных следует назвать меньший риск развития побочных эффектов и возможность самостоятельного применения препарата подкожно.

Что же касается применения варфарина в послеродовом периоде, то многочисленные исследования по содержанию варфарина в материнском молоке, плазме новорожденных, а также исследования свертывающей активности продемонстрировали, что варфарин не проникает в материнское молоко и риск антикоагуляции у ребенка при грудном вскармливании отсутствует. Это позволяет применять варфарин после родов, когда необходима длительная, а у некоторых пациенток (механические протезы клапанов сердца) и пожизненная антикоагулянтная терапия.

Фармакодинамика варфарина

Поскольку секреция зрелых (карбоксилированных) форм происходит в эндоплазматической сети, логично предполагать, что и большая часть варфарина участвует в метаболизме именно в гладкой эндоплазматической сети печени. Наблюдаемый в клинической практике различный антикоагулянтный ответ на одну и ту же дозу варфарина у разных пациентов во многом объясняется различным внутрипеченочным метаболизмом варфарина, в который вовлечены стереоспецифические пути, катализируемые системой цитохрома P450. Первичными метаболическими продуктами являются алкоголяты варфарина с малой фармакологической активностью и гидроксиварфарина. В метаболизме варфарина участвуют различные изомеры P450, проявляющие разную региональную селективность и стереоселективность.

Энантомеры варфарина несколько отличаются своими метаболическими путями. Цитохром P4502C9 отвечает в основном за клиренс S-варфарина *in vivo*, тогда как за деградацию R-варфарина отвечает цитохром P4501A2, который гидроксилирует R-варфарин в позиции 6. Цитохром P4503A4 принимает участие в метаболизме обоих изомеров варфарина. R-изомер вначале окисляется до 6-гидроксиварфарина и затем восстанавливается до 9S, 11R-варфариналкоголята. S-изомер окисляется до 7-гидроксиварфарина, прежде чем восстановиться до 9S, 11S-варфариналкоголята. Алкоголяты варфарина выводятся из организма через почки. Участвуют ли эти метаболиты в осуществлении антикоагулянтного эффекта до сих пор не ясно.

Варфарин метаболизируется в организме достаточно интенсивно, о чем свидетельствует тот факт, что только 2% от введенной дозы выводится в неизменном виде с мочой. Возможно, частично варфарин элиминируется с желчью и удаляется из энтерогепатической циркуляции.

Другие антагонисты витамина К в гидроксिलированной форме конъюгируются в печени, после чего экскретируются в тощую кишку с желчью, где деконъюгируются и частично реабсорбируются в кровь, откуда, наконец, экскретируются с мочой в форме неконъюгированных гидроксिलированных соединений.

Известно, что, к примеру, этилбискумацетат значительно увеличивает почечную экскрецию мочевой кислоты. До сих пор не ясно, обладает ли варфарин таким метаболическим эффектом, однако уже есть данные, что уровень его метаболизма с участием цитохрома Р450 отличается от других антагонистов витамина К. Время полувыведения различных форм варфарина колеблется от 33 часов до 45 часов. Обычно устойчивый антикоагулянтный эффект достигается примерно к 10-му дню терапии варфарином, именно потому в течение первых 10 дней необходимо осуществлять ежедневный мониторинг.

Нарушенная функция почек может влиять на метаболизм варфарина. В литературе описываются случаи варфаринорезистентности в связи с повышенным клиренсом у пациентов с нефротическим синдромом и тяжелой гипоальбуминемией. Известно, что время полувыведения варфарина у пациентов на гемодиализе составляет только 15 часов. Тем не менее, полной ясности относительно влияния нарушения функции почек на дозо-зависимый антикоагулянтный ответ на фоне варфаринотерапии по сей день нет. Поэтому в таких случаях необходим более тщательный мониторинг антикоагулянтного эффекта.

Заболевания печени оказывают влияние на антикоагулянтный эффект варфарина, однако не столько за счет влияния на фармакокинетику варфарина, сколько вследствие нарушений синтеза факторов свертывания.

Многолетние исследования и клинический опыт также показывают, что пожилые пациенты более склонны к геморрагическим осложнениям, даже если уровень антикоагуляции регулярно контролируется. Возможно, это связано со сниженным клиренсом варфарина у пожилых. С другой стороны, видимо, не учитывается и тот факт, что наряду с варфарином пожилые пациенты получают ряд других лекарств, которые могут потенцировать эффект варфарина. Однако, независимо от причин данного феномена, целесообразно начинать варфаринотерапию у пожилых пациентов с малых доз. Такие «гиперметаболические» состояния как лихорадка и гипертиреоз также сопровождаются усилением ответа на оральные антикоагулянты, однако появились доказательства, что это вызвано не эффектом варфарина, а ускорением катаболизма витамин К-зависимых факторов свертывания (почти в 3 раза).

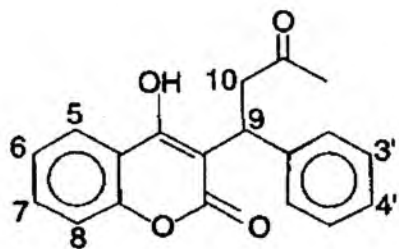
Метаболизм витамина К

Метаболизм витамина К (филлохинона) играет ключевую роль в системе гемостаза и является необходимым звеном механизма действия варфарина. Как уже ранее указывалось, витамин К участвует в реакциях, которые способствуют образованию γ -карбоксиглутаматных остатков (Gla), необходимых для формирования активных витамин К-зависимых факторов свертывания (II, VII, IX, X) и антикоагулянтных протеинов С и S в процессе участия в реакциях γ -карбоксилирования, ответственных за добавление Gla-остатков к неактивным факторам, витамин К_{2,3}-эпоксид (эпоксид витамина К). Все эти процессы происходят в печени. Эпоксид затем вновь рециклируется в восстановленную форму — хинон — с помощью фермента редуктазы эпоксида витамина К₁, после чего происходит еще одна окислительно-восстановительная реакция с участием фермента НАДФ-Н-зависимой редуктазы хинона витамина К с восстановлением хинона до гидрохинона — активной формы витамина К.

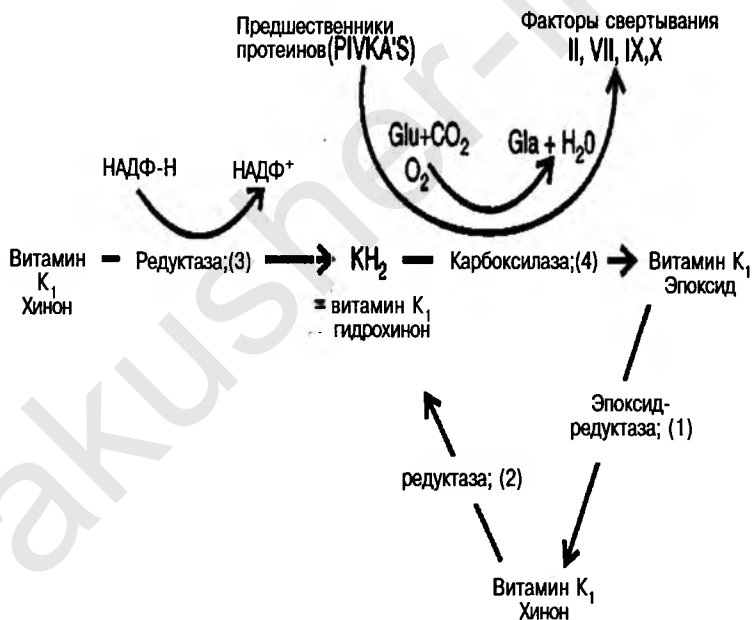
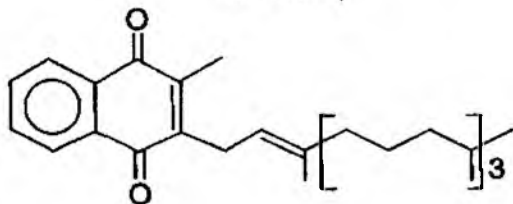
Варфарин осуществляет свой антикоагулянтный эффект, блокируя фермент эпоксид-редуктазу дозо-зависимым способом, что тормозит производство функционально активных форм витамин К-зависимых факторов свертывания и соответственно ведет к аккумуляции неактивного эпоксида витамина К (рис. 65).

ВАРФАРИН

Рис. 64. Химическая структура варфарина и витамина K₁.



ВИТАМИН K₁



(1) и (2) — дитиол-зависимые редуктазы, которые ингибируются варфарином, при этом накапливается витамин K. (3) — НАДФ-Н-зависимая редуктаза, которая относительно нечувствительна к эффектам варфарина. Карбоксилаза (4) ответственна за γ-карбоксилирование глутаминовых остатков в глутаматные (Gla) остатки.

Рис. 65. Витамин K-зависимые реакции карбоксилирования и цикл витамина K.

Только циклическая часть участок 4-гидроксикумарина, присущая всем кумариновым антикоагулянтам, связывается с рецептором редуктазы. Эту гипотезу подтверждает и гипопротромбинемический эффект салицилата, поскольку он имеет циклическую структуру, сходную с 4-гидроксициклической системой.

Таким образом, именно кумариновое кольцо ответственно за большинство фармакодинамических свойств варфарина, тогда как боковая цепь — за метаболизм варфарина.

Недавно был выявлен альтернативный путь действия варфарина: варфарин ингибирует восстановление хинона в гидрохинон через влияние на НАДФ-Н-зависимую хинон-редуктазу. НАДФ-Н-зависимая хинон-редуктаза менее чувствительна к ингибции варфарином, что может объяснять эффективность назначения витамина К в достаточных дозах для снижения или полной отмены антикоагулянтного эффекта варфарина.

О важности механизма действия варфарина свидетельствуют исследования *in vitro* в эксперименте на животных: обнаружилось, что оральные антикоагулянты (ОАК) — антагонисты витамина К — способны истощать запасы витамина К в печени. Время, в течение которого происходит истощение запасов витамина К до определенного критического порогового уровня, наряду с синтезом активных факторов свертывания и их постоянной деградацией обуславливают временной интервал между временем назначения варфарина, его дозой и увеличением МНО.

Получение примерно 0,5 — 1 мкг витамина К/кг в день позволяет избежать появления клинических или лабораторных признаков истощения витамина К. Как уже указывалось, основным источником поступающего с пищей витамина К являются зеленые овощи, богатые филлохиномом (витамин К₁), хотя небольшое количество менахинона (витамина К₂) синтезируется также кишечными бактериями.

Бедная витамином К диета может приводить к повышению МНО, однако это наблюдается не так часто: скорее в таких случаях имеет место сочетание нескольких факторов, действующих одновременно (мальабсорбция, заболевания печени, прием некоторых антибиотиков). Однако, в таких ситуациях, вероятно, более целесообразно измерять не столько МНО, сколько концентрацию филлохинона в плазме для определения степени истощения витамина К. Хотя большинство антибиотиков ингибирует синтез витамина К кишечными бактериями, все же роль их не так велика, так как синтезируемый менахинон — менее важный, всегда следует учитывать возможное наличие других состояний как причины истощения запасов витамина К. В то же время есть данные, что антибиотики, содержащие N-метилтиотетразольную боковую цепочку, вследствие влияния на кольцо витамина К и, возможно, ингибируя витамин К-эпоксидредуктазу, могут быть причиной увеличения МНО.

В противоположность недостаточному приему витамина К, чрезмерное его потребление может вести к приобретенной резистентности к варфарину, что, в свою очередь, требует повышения доз варфарина.

Таким образом, запасы витамина К являются важным регулирующим фактором как риска развития кровотечений, так и резистентности к ОАК. Однако, прямое измерение запасов витамина К в организме достаточно сложно, вследствие отсутствия доступных для анализа тканей человека, в частности печени, и необходимых методов для анализа.

Тем не менее, в последнее время появились методы косвенной оценки содержания витамина К в организме — это филлохинон плазмы и эпоксид витамина К, появление в плазме аномального протромбина (дез-гамма-карбоксипротромбин) после назначений витамина К, и измерение концентрации γ -карбоксилированной глутаминовой кислоты в моче.

Измерение активности витамина К является интегральным для объяснения связанных с антикоагуляцией проблем, однако, в настоящее время еще далеко от системного исследования. Если существующие в настоящее время методики измерения метаболических концентраций и содержания филлохинона в плазме станут

реально полезными для мониторинга уровня витамина К, возможно в будущем будут разработаны иммунные методы для рутинной лабораторной диагностики.

Проблемы измерения антикоагулянтного эффекта

Измерение сывороточных концентраций варфарина обычно не может решить проблем, связанных с антикоагуляцией. Кроме того, различная активность R- и S-изомеров также влияет на терапевтический интервал варфарина.

В среднем, минимальная концентрация варфарина, необходимая для синтеза факторов свертывания, составляет 0,38 мкг/мл, однако терапевтические границы концентрации, соответствующие «менее интенсивным» и «более интенсивным» режимам соответствуют концентрациям 0,5—3 мкг/мл.

Вариабельность антикоагулянтного ответа у разных пациентов создает проблемы, поскольку в ряде исследований концентрации варфарина (как общего, так и свободного) различались почти в 4 раза у пациентов с терапевтическими границами МНО. Выяснилось, что фармакокинетика варфарина меньше влияет на такую вариабельность, нежели фармакодинамическое взаимодействие варфарина со своими рецепторами цикла витамина К и кинетика факторов свертывания.

Согласно некоторым данным, о степени антикоагуляции лучше судить по концентрации свободного (не связанного) S-изомера. Однако измерения концентраций варфарина все еще совершенствуется. В настоящее время наиболее перспективной является жидкостная хроматография под высоким давлением (HPLC-high-pressure liquid chromatography), поскольку позволяет не только определять концентрации вплоть до нанограммов на миллилитр, но и идентифицировать рацемат и энантиомеры варфарина.

По-видимому, основной точкой приложения варфарина является фермент редуктаза эпоксида витамина К₁. Проявлением такой ингибиции, которая не развивается в отсутствие варфарина, является присутствие повышенных концентраций 2,3-эпоксида витамина К₁, который под действием редуктазы эпоксида К₁ превращается в хинон витамина К₁. Варфарин вызывает накопление эпоксида дозо-зависимым способом. Уровень 2,3-эпоксида витамина К₁, возможно, является более чувствительным маркером активности варфарина, чем протромбиновое время или МНО, когда применяются низкие дозы варфарина.

Аномальный протромбин аккумулируется в крови, когда:

- а) энзимы, вовлеченные в процесс активации витамина К, ингибированы; либо
- б) в условиях дефицита витамина К; либо
- в) при заболеваниях печени; либо
- г) после назначения варфарина.

Аномальный протромбин является одним из неактивных протеинов PIVKA, идентичных иммунологически предшественникам (зимогенам) витамин К-зависимых факторов. Иммуноэлектрофорез и биологические методы исследования (с использованием яда *Echis carinatus*) позволяют измерить концентрацию аномального протромбина в различных клинических ситуациях. В условиях «нормы» содержание аномального протромбина должно составлять менее 15 мЕ/мл. В условиях дефицита витамина К или после назначения ОАК концентрация аномального протромбина в плазме может превышать 200 мЕ/мл. При неосложненном дефиците витамина К, восстановление уровня витамина К (извне) способствует «возвращению» уровня аномального протромбина к нормальным значениям быстрее, чем после прекращения терапии варфарином.

Тяжелые заболевания печени также способствуют повышению уровня аномального протромбина и других PIVKA, однако, этот эффект можно отличить от подобного при дефиците витамина К или варфаринотерапии измерив уровни факторов XI и XII (они снижаются только при заболеваниях печени) или с помощью протромбинового времени с ядом *Echis*.

γ -карбоксилированная глутаминовая кислота (активный участок витамин К-зависимых факторов свертывания) может быть измерена в моче с помощью анионной обменной хроматографии с помощью техники разведения изотопов. Экспозиция снижается при варфаринотерапии и/или дефиците витамина К. Обнаружена отрицательная корреляция между экскрецией с мочой γ -карбоксилированной глутаминовой кислоты и протромбиновым временем, что открывает возможности мониторинга запасов витамина К у пациентов, получающих варфаринотерапию.

Поиск наиболее информативного теста определения эффективности варфарина все еще продолжается. На сегодняшний же день определение МНО является наиболее часто применяемым в клинической практике, по крайней мере, выгодно отличается от своих предшественников — протромбинового индекса и протромбинового времени.

Проблемы клинического применения варфарина. Роль фармакокинетики и фармадинамики

Одной из проблем варфаринотерапии до последнего времени были терапевтические границы антикоагулянтной активности. Вероятно, прежние рекомендации не вполне адекватны, поскольку не учитывалась роль энантиомеров, которые не измерялись и кинетика которых отлична от таковой рацемата. Измерение уровня энантиомеров может улучшить интерпретацию и прогнозирование клинических исходов, однако, до сих пор нет уверенности, требуется ли дополнительно измерять свободную концентрацию варфарина.

Варфаринотерапия без адекватного контроля напоминает хождение по лезвию бритвы: от положительного эффекта — антитромботического — до нежелательного — геморрагии — может быть очень узкая грань.

Существующие тесты мониторинга терапии варфарином — МНО и протромбиновое время — могут лишь отчасти прогнозировать риск кровоточивости, но не прогнозируют тромботические осложнения на фоне варфаринотерапии. Тем не менее, риск ретромбозов, вероятно, скорее всего зависит от интенсивности варфаринотерапии, в то время как сверхинтенсивная терапия повышает риск кровотечений. Поэтому, во избежание или, по крайней мере, с целью минимизации риска побочных эффектов, необходимо придерживаться определенного терапевтического интервала МНО — суррогатного показателя уровня антикоагуляции.

Однако и здесь могут возникать проблемы: в среднем у 20—25% пациентов не удается подобрать стабильную терапевтическую дозу варфарина. При этом установлено, что такие факторы, как вес, пол, раса или другие лекарственные вещества не могут определять достаточную еженедельную дозировку и стабильность дозы.

В среднем 5—10% пациентов, нуждающихся в антикоагулянтной терапии, являются варфарино-резистентными. Такие интериндивидуальные вариации ответа на варфарин до сих пор не изучены полностью и продолжают оставаться причиной высокого риска morbidity и летальности.

Такой же процент (5—10%) составляют пациенты с повышенной чувствительностью к варфарину. Самая распространенная гипотеза, объясняющая повышение чувствительности к варфарину состоит в истощении запасов витамина К, хотя клинические исследования пока отсутствуют.

Резистентность к варфарину может быть следствием нескольких причин:

- 1) избыток витамина К в диете, что требует повышение доз варфарина (до 35 мг/сут). Известно, что овощи из семейства крестоцветных, содержат высокое количество витамина К, повышают скорость метаболического клиренса варфарина;
- 2) генетические факторы, что также приводит к необходимости применения очень высоких доз варфарина: вероятно, в таких случаях имеется дефект в

варфариновом рецепторе или в соответствующем сайте энзима редуктазы эпоксида витамина К — при этом резистентность может быть связана либо с недостаточностью связывания варфарина с редуктазой эпоксида витамина К, либо с изменениями активности энзима самого по себе, что и ведет к снижению варфариновой активности.

Таким образом, подводя итог, можно выделить следующие группы «сложных» для варфаринотерапии пациентов:

- 1) «варфарин-чувствительные» пациенты, у которых очень быстро достигается терапевтический уровень МНО, и у которых могут развиваться геморрагические осложнения, если варфаринотерапия начинается с обычных стартовых доз;
- 2) «варфарин-резистентные» пациенты, у которых не достигается терапевтический уровень МНО в ходе начальной терапии варфарином, так как им необходима необычно высокая доза варфарина. Это может повышать риск рецидивов тромбозов;
- 3) пациенты с «плавающим» МНО, которые требуют более частого контроля МНО и постоянного изменения дозы варфарина (как снижения, так и повышения); в этой группе высок риск развития как тромботических, так и геморрагических осложнений.

Таким образом, помимо учета сложных эффектов самого варфарина, в ряде случаев для прогнозирования антикоагулянтного ответа или токсичности при его применении, может быть необходимо дополнительное исследование запасов витамина К и активности цикла витамина К, а также уровня и активности факторов свертывания.

Взаимодействие лекарственных средств с варфарином

Множество препаратов могут изменять реакцию организма на оральные антикоагулянты, при этом для многих из них характерны несколько механизмов действия (табл. 41, 42, 43). Целесообразно, чтобы пациентам, получающим терапию оральными антикоагулянтами, назначали как можно меньшее количество дополнительных препаратов, и чтобы после любого изменения в характере медикаментозной терапии часто производились лабораторные исследования. Например, в Великобритании пациентам выдают брошюру, в которой наряду с предупреждением об опасностях, связанных с патентованными лекарствами, приводятся также подробные описания их антикоагулянтных дозировок и контроля, а также содержатся инструкции, касающиеся правильных действий в случае кровотечения или развития параллельного заболевания.

Несмотря на то, что медикам хорошо известно о существовании взаимодействия многих препаратов с оральными антикоагулянтами, потенциальная возможность медикаментозных взаимодействий с препаратами, прописанными врачами, может быть обнаружена, по меньшей мере, у 1/3 всех больных.

Механизмы медикаментозного взаимодействия различных лекарственных препаратов с ОА

Абсорбция

Холестираминовая смола снижает всасывание варфарина, а также витамина К, что, в целом, приводит к уменьшению антикоагулянтной реакции (Robinson, Benjamin and Connach, 1997). Влияние на абсорбцию варфарина со стороны других препаратов, включая препараты, снижающие кислотность, по-видимому, не представляет клинического значения, хотя в случае с другими производными кумарина дело обстоит иначе.

Связывание с альбумином плазмы

Концентрация оральных антикоагулянтных препаратов, не связанных с белками, в плазме может быть увеличена с помощью сопутствующего введения препаратов, конкурирующих за захват имеющихся участков связывания альбумина; увеличение фармакологически активной фракции ведет к повышению антикоагулянтного эффекта, а также к увеличению скорости элиминации препарата. Предполагается, что такое взаимодействие приводит к кратковременному усилению антикоагулянтной реакции, за которым следует возврат к стабильному состоянию, аналогичному тому, которое наблюдалось раньше.

К препаратам, конкурирующим за захват участков связывания с альбумином, относятся длительно действующие сульфонамиды, фенилбутазон, аспирин и хлоралгидрат.

Метаболизм

Некоторые препараты приводят к увеличению активности ферментативных систем в печени, отвечающих за метаболизм оральных антикоагулянтных препаратов, что вызывает уменьшение антикоагулянтной реакции. Примерами таких препаратов являются барбитураты, глутамид, рифампицин (рифампин).

В последнее время высказывается предположение о том, что курение также действует подобным образом в качестве стимулятора ферментов. В настоящее время имеются данные о том, что курение может оказывать влияние на метаболизм варфарина, хотя пока нет данных о клинической значимости этого взаимодействия. Другие препараты, включая дисульфирам, метронидазол и аллопуринол, могут привести к снижению скорости метаболизма кумарина и обусловить повышение антикоагулянтной реакции.

Изменение гемостатических факторов

Параллельное применение антитромбоцитарных и нестероидных противовоспалительных препаратов может привести к повышению частоты и выраженности геморрагических осложнений. Эстрогены могут увеличить уровни коагуляционных факторов, ослабляя таким образом эффект оральных антикоагулянтов, в то же время тироксин приводит к усилению катаболизма свертывающих факторов, обладая, таким образом, синергичным действием с ОАК.

К лекарственным препаратам, не оказывающим влияния на эффекты варфарина, относятся: атенолол, буметанид, фелодипин, антациды, ранитидин, а также, по некоторым данным, норфлоксацин, кеторолан, напроксен, нитразепам и флуокситин.

Выраженное кровотечение, как побочный эффект терапии ОА, обычно имеет место, когда МНО превышает терапевтические пределы, как правило, у больных с искусственными клапанами сердца и у получающих ОАК свыше 3-х лет. К другим факторам, которые могут повысить риск кровотечения, как уже указывалось, относятся преклонный возраст, а также урологические и гинекологические нарушения (миома, менометроррагии и пр.), послеродовые/послеоперационные состояния и начало лечения с большой нагрузочной дозы. Риск серьезных геморрагий может быть уменьшен посредством исключения больных с противопоказаниями, началом терапии с помощью умеренной дозировки, просвещения больных и поддержания интенсивности антикоагуляции в пределах терапевтического диапазона. Последняя мера предосторожности является наиболее важной, так как большинство кровотечений наблюдаются, как уже отмечалось, у больных с патологически повышенным протромбиновым отношением (МНО).

Наиболее характерными местами локализации кровотечений являются желудочно-кишечный и мочеполовой тракты, нос и кожа; большинство летальных исходов происходит в результате кровотечения из ЖКТ или внутримозгового кровоизлияния. Геморрагии различной локализации чаще клинически очевидны, но могут быть и скрытыми, когда кровотечение происходит в забрюшинной или околопочечной областях; что сопряжено с высоким риском смертельных осложнений.

Препараты, потенцирующие эффекты варфарина.

Антибиотики	Кардиальные средства	Противовоспалительные	ЦНС	Желудочно-кишечные	Другое
Эритромицин	Амидарон	Фенилбутазон	Алкоголь (+заболевания печени)	Циметидин	Анаболические стероиды
Ко-тримоксазол	Клофибрат	Пироксикам		Омепразол	
Флуконазол	Прокафенон	Аспирин			
Метронидазол	Пропранолол	Ацетаминофен			
Миконазол	Сульфинпиразон	Декстропропоксифен	Хлоралгидрат		Тамоксифен
Изониазид	Аспирин	Индометацин			
Ципрофлоксацин	Хинидин		Дисульфирам		5-флуороуроцил
Интраконазол	Симвастин				
Тетрациклин	Ловастин		Фенитоин		
Налидиксовая кислота	Гепарин				Ифосфатид
Офлоксацин	Гемфиброзил				
Цефамандол	Метолазон				
Цефазолин					

Таблица 42.

Препараты, ингибирующие эффект варфарина.

Антибиотики	Кардиальные средства	Противовоспалительные	ЦНС	Желудочно-кишечные	Другое
Гризеофульвин	Холестирамин	Азатиоприн	Барбитураты	Сукралфат	Циклоспорин
Нафциллин			Карбамазепин		Пища, богатая витамином К, в том числе «энтеральное питание» — авокадо — брокколи
Рифампин			Хлордиазепоксид		
Диклосациллин					

Препараты, не оказывающие влияния на эффекты варфарина.

Антибиотики	Кардиальные средства	Противовоспалительные	ЦНС	Желудочно-кишечные	Другое
Эноксацин	Атенолол	Кеторолак	Алкоголь	Антациды	Табак
Кетоконазол	Буметанид	Напроксен	Флуоксетин	Фаматидин	
Антибиотики	Кардиальные средства	Противовоспалительные	ЦНС	Желудочно-кишечные	Другое
Ванкомицин	Фелодипин	Этодалак	Нитразепам	Низатидин	
	Метопролол	Дифлунизол		Псиллиум	
	Дилтиазем			Ранитидин	

4. Эффекты антагонистов витамина К на факторы свертывания и молекулярные маркеры тромбоза

Дефицит витамина К, как уже не раз указывалось, снижает уровень факторов свертывания в крови. Подобным же эффектом обладают кумариновые антикоагулянты на витамин К-зависимые факторы свертывания II, VII, IX, X, а также на протеины С, S и некоторые витаминК-зависимые белки, не связанные с системой свертывания крови (см. ниже). Снижение уровня «нормальных» факторов свертывания под действием ОАК и дефицита витамина К сопровождается появлением в плазме новых протеинов — PIVKA-факторов. Анализ этих протеинов позволил в дальнейшем установить механизм действия витамина К. Хорошо известно, что витамин К выступает в роли кофактора в процессе карбоксилирования глутаминовых остатков факторов II, VII, IX и X, а PIVKA — это некарбоксилированные формы этих факторов. PIVKA-II (некарбоксилированный протромбин, или декарбоксипротромбин) обладает типичным PIVKA-эффектом: протромбиновое время плазмы пациентов, получающих ОАК, удлиняется больше, это характерно только для снижения уровня витамин К-зависимых факторов свертывания. Именно это обстоятельство положило начало изучению роли PIVKA на факторы свертывания.

После открытия некарбоксилированной формы протромбина, его некоторое время называли претромбин, и несколько позже, название было изменено на более «нейтральное» PIVKA-II.

Bertina et al. установили, что PIVKA-II могут конкурировать с нормальным протромбином «за место» в протромбиназном комплексе.

В 1965 году Francois Josso et al. с помощью бидименсионного электрофореза витамин К-дефицитной плазмы обнаружили две разновидности белков, которые отличались по электрофоретической подвижности в присутствии ионов кальция. Однако результаты исследования не были опубликованы. Позже Ganrot и Nilehn опубликовали эти данные, вслед за чем, были идентифицированы PIVKA-IX и PIVKA-X (H. Coen Hemher et al.)

В 1972 году Johan Stenflo нашел отличия в химической структуре между нормальным протромбином и PIVKA-II. Концепция PIVKA не была бесспорна. В частности, Gilormani et al. отрицая ее правомерность и считая PIVKA-эффект неспецифическим феноменом. Однако последующие исследования все же опровергли точку зрения Gilormani et al. Таким образом, от идентификации ингибитора (PIVKA) до подтверждения его клинического значения был сделан большой шаг вперед. Выяснилось, что PIVKA не играют роли в геморрагических осложнениях у пациентов, получающих ОАК.

Наиболее важное практическое значение PIVKA эффекта заключается в том, что он является одним из важных факторов, осложняющих стандартизацию тромбопластинов, поскольку *in vitro* эффект PIVKA может быть причиной удлинения протромбинового времени.

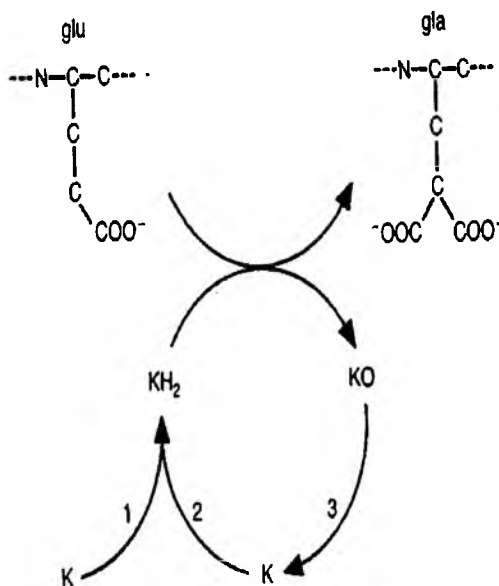


Рис. 66. Цикл витамина К.

Витамин К (хинон) вначале восстанавливается до гидрохинона (KH_2), после чего окисляется в эпексид (КО). В процессе окисления витамина KH_2 глутаминовая кислота (Glu) восстанавливается до К (хинон), заключая цикл витамина К.

- (1) — НАДФ-Н-зависимая редуктаза
- (2) — дитиол-зависимая К-редуктаза
- (3) — дитиол-зависимая КО-редуктаза

Синтез Gla-протеинов

Витамин К является важнейшим кофактором карбоксилирования белок связанных остатков глутаминовой кислоты (Glu) в γ -карбоксиглутаминовую кислоту (Gla) (рис. 66).

В настоящее время витамин К-зависимые протеины также называются Gla-протеинами. Gla формируется в результате посттрансляционной модификации в процессе синтеза белка. В качестве коэнзима витамин К-зависимой карбоксилазы при этом выступает не хинон витамина К, а его восстановленная форма (гидрохинон витамина К, KH_2). В реакции карбоксилирования KH_2 превращается в эпексид витамина К (КО). КО затем восстанавливается вновь в витамина К (хинон), а тот, в свою очередь — в KH_2 под действием двух редуктаз (рис. 66). Такой циклический метаболизм витамина К чрезвычайно эффективен и «экономен», поскольку в результате дневная потребность в поступлении витамина К низка. Хотя окончательно природа редуктаз не выяснена, известно, что и витамин К- и КО-редуктазы являются дитиол (дитиолтреитрол или тиоредоксин)-зависимыми и обе ингибируются производными кумарина. Блокирование любой из этих редуктаз ведет к прекращению реакции карбоксилирования. Таким образом, производные кумарина сами по себе напрямую не действуют на карбоксилирование, но предотвращают образование необходимого для этой реакции KH_2 , ингибируя его образование из витамина К, поступающего извне с пищей.

Кроме того, печень содержит НАДФ-Н-зависимую К-редуктазу, которая не ингибируется антагонистами витамина К и которая участвует исключительно в процессе восстановления витамина К, но не КО. Таким образом, если синтез витамин К-зависимых факторов свертывания в печени блокирован кумаринами, он может быть возобновлен назначением высоких доз витамина К, поскольку в отличие от нормальной ситуации, при этом цикл витамина К прерван, а в плазме пациентов, получающих ОАК, обнаруживаются высокие концентрации КО. In vitro

и in vivo исследования показали, что остеобласты костной ткани дефицитарны по НАДФ-Н-зависимой К-редуктазе. Так, у животных, получающих витамин К с пищей, варфарин эффективно блокирует карбоксилирование остатка глутаминовой кислоты остеокальцина, в то время как уровень факторов свертывания остается на нормальном уровне. Именно потому производные кумарина запрещены к применению во время беременности, поскольку вызывают дефекты костной ткани у плода (в частности назальную гипоплазию).

Все Gla-протеины синтезируются и секретируются из эндоплазматической сети с участием пре- и пропептидов в области N-конца молекулы. Гидрофобный препептид необходим для транслокации внутрь эндоплазматической сети. Далее белки подвергаются посттрансляционной модификации, включая кливаж препептида, γ -карбоксилирование, образование дисульфидных связей и гликозилирование. Препептид служит в качестве распознавательного сигнала для витамин К-зависимой карбоксилазы.

Витамин К-зависимые протеины, отличные от факторов свертывания обнаружены во многих тканях, помимо печени. Такие протеины широко представлены в тканях почек, плаценты, поджелудочной железы, кожи, селезенки, легких, яичек, сосудистой стенки и в костной ткани. Этот факт дает основание предположить, что антагонисты витамина К и в этих органах могут вызывать определенные изменения. Так, PIVKA-подобные формы некоторых Gla-протеинов были обнаружены в культурах клеток гепатоцитов, клеток почечных трубочек, фибробластов, эндотелиальных клеток и различных линиях опухолевых клеток. При этом не все Gla-протеины еще идентифицированы. В костной ткани к таковым относятся остеокальцин, матричный Gla-протеин и протеин S; в дентине зуба — свой Gla-протеин; кроме того, Gla-протеин обнаружен и в гетеротопических сердечно-сосудистых кальцинатах (остеокальцин), в том числе в атеросклеротических бляшках. Более того, существует еще множество хорошо не изученных источников Gla-белков — от улиток и змей до сперматозоидов. Все это еще раз подчеркивает важность изучения, в том числе не связанных с антикоагуляцией эффектов ОАК.

Влияние ОАК на уровень факторов свертывания

Концентрация факторов свертывания в плазме, как известно, является результатом хорошо отрегулированного равновесия между синтезом и распадом. Синтез факторов, в первую очередь, зависит от функции печени, наличия витамин К-зависимых факторов, активности системы карбоксилирования, а также от наличия витамина К или, соответственно, антагонистов витамина К. Нарушения в синтезе факторов свертывания пропорциональны уровню факторов в плазме. В то же время в условиях нормы, уровень синтеза факторов эквивалентен уровню их выведения из организма. Однако если синтез факторов полностью прекращается, уровень факторов в плазме крови снижается в логарифмической зависимости, что связано с периодом полураспада факторов свертывания. Это можно выразить следующей формулой:

$$C_t = C_0 (0,5)^{t/t_{1/2}},$$

где C_t — концентрация фактора в момент времени t ;

C_0 — концентрация в момент $t = 0$;

t — определенный момент времени;

$t_{1/2}$ — время полураспада

Время полураспада протромбина составляет, как уже указывалось, около 60 часов, фактора X — 45 часов, фактора IX — 14 часов и фактора VII — 6 часов. Это означает, что для достижения антикоагулянтного эффекта и снижения уровня протромбина при назначении антагонистов витамина К требуется, по меньшей мере, 60 часов.

Количество PIVKA в крови после назначения ОАК, в основном, исследовалось для PIVKA-II. Выяснилось, что даже после незначительной ингибиции витамин К-зависимой карбоксилазы, уровень PIVKA-II увеличивается почти до 0,5 мкмоль (мкМ), т.е. почти до 1/3 нормальной концентрации протромбина. Однако уровень PIVKA не зависит от интенсивности антикоагуляции. Время полураспада PIVKA не известно.

В настоящее время выдвигается гипотеза, согласно которой ингибиторный эффект PIVKA на тромбообразование ответственен за антитромботические эффекты ультранизких доз ОАК. Тем не менее, эта идея поддерживается не всеми исследователями.

Эффекты PIVKA на тромбопластиновое время и свертывающую активность плазмы

Удлинение тромбопластинового времени (протромбинового) в условиях антикоагуляции ОАК является результатом 2 причин: снижения уровня протромбина и факторов VII и X, а также присутствия ингибирующих PIVKA. Эффект последних наблюдается только у человека. PIVKA не образуются у цыплят и кроликов, возможно, потому, что предшественники этих протеинов также не обнаружены у этих животных. Не наблюдается PIVKA-активности и в бычьей плазме. Именно эти факты использовались ранее в качестве аргумента против существования этой активности в организме человека.

Однако именно вследствие наличия PIVKA-эффектов исследования тромбопластинового времени — неоднозначный тест для суждения об истинном уровне снижения факторов свертывания. Тромбопластиновое время может значительно колебаться в зависимости не только от типа тромбопластина и его чувствительности к уменьшению уровня факторов свертывания, но и от его чувствительности к PIVKA. При этом чем выше чувствительность к PIVKA, тем больше несоответствие между процентом уменьшения факторов свертывания и процентом «контрольной кривой» для того или иного тромбопластина. Как уже указывалось, кроличий тромбопластин не чувствителен к PIVKA-эффекту, в то время как человеческий и бычий — чувствительны.

Практическое значение этого феномена ограничено лабораторией, это означает, что пока нет достоверных данных, что PIVKA играют важную роль в патофизиологии антикоагуляции *in vivo*, за исключением того, что их появление в плазме — свидетельство дефицита витамина К.

Поскольку практическое значение циркуляции PIVKA все еще не до конца ясно, не известно и то, какой из тромбопластинов предпочтительнее — PIVKA-чувствительный или PIVKA-нечувствительный.

Теоретически, даже существующие в настоящее время методы с использованием поправочных коэффициентов (МИЧ — международный индекс чувствительности), которые позволяют преобразовывать отношение удлинения тромбопластинового времени в МНО достоверны только в грубом приближении. Математическая процедура определения МНО основана на выборе в качестве контрольной кривой — кривой, линейной логарифмической зависимости с одним параметром. Однако поскольку время свертывания зависит, по крайней мере, от 2 параметров — дефицита факторов свертывания и ингибирующего эффекта PIVKA — в этом смысле такая зависимость может «работать» правильно только с тромбопластинами, которые являются нечувствительными к эффекту PIVKA (как, например, кроличьи), а потому оправдывают зависимость от одного параметра логарифмических контрольных кривых, прилагаемых к различным тромбопластинам. Но даже здесь, несмотря на PIVKA-нечувствительность, необходима осторожность, с тем, чтобы не расширить процедуру теста заранее ограниченного диапазона, когда логарифмическая кривая превращается практически в линейную. Тем не менее, это обстоятельство не должно умалить тот факт, что МНО на сегодняшний момент

является единственным параметром, позволяющим более успешно, чем ранее, сравнивать результаты, полученные с разными тромбопластинами.

PIVKA как маркеры дефицита витамина К

Наиболее чувствительным методом определения PIVKA является определение с помощью моноклональных антител, которые специфически распознают декарбокситромбин (PIVKA-II).

PIVKA-II обычно не обнаруживается в плазме у здоровых людей, однако, может появляться после серьезного ограничения витамина К в диете в течение нескольких недель. PIVKA-II также обнаруживается при заболеваниях печени: при этом независимо от того, снижается или нет уровень факторов свертывания крови. Объяснением тому является, по меньшей мере, две причины:

во-первых, холестаза может вызвать нарушение всасывания витамина К в кишечнике;

во-вторых, в случаях острого гепатита и цирроза PIVKA II также циркулируют в крови, однако, не «реагируют» на введение извне витамина К, поскольку у этих пациентов имеют место нарушения ферментативных систем и, следовательно, карбоксилирования в печени, не связанные с дефицитом витамина К.

Кроме того, PIVKA-II часто обнаруживается у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, и в таких случаях выступает в качестве маркера опухоли.

До сих пор нерешенным остается вопрос о роли дефицита витамина К в геморрагической болезни новорожденных. Уровень витамин К-зависимых факторов свертывания у новорожденных низок, однако эксперименты на животных достоверно подтвердили, что это может быть связано и с низким уровнем транскрипции м-РНК (а, следовательно, и синтеза белка).

У здоровых младенцев, как правило, либо не обнаруживается PIVKA, либо обнаруживается в очень небольших количествах. Это исключает возможность, что имеет место повышенная активность синтеза полипептидов, превышающая механизм карбоксилирования.

Тем не менее, интенсивность механизмов карбоксилирования может быть близка к максимальной. Уровень витамина К в плазме новорожденных также не высокий; хотя это не обязательно указывает, что его содержание в других тканях такое же низкое. Кроме того, это не указывает и на то, что назначение витамина К было бы лишним, особенно в тех случаях (случаях высокого риска), когда мать во время беременности принимала ОАК, а также при сниженном поступлении витамина К с молоком матери или в результате мальабсорбции.

Таким образом, у новорожденных дефицит витамина К может иметь место довольно часто, при этом уровень факторов свертывания чаще, значительно не снижается, однако может стать причиной клинических проявлений в ответ на малейшую провокацию (травматичные роды, использование потенцирующих дефицит витамина К средств, мальабсорбция и пр.).

Конечно, далеко не во всех случаях редкая геморрагическая болезнь новорожденных (1:4000 новорожденных) связана с дефицитом витамина К и порой достаточно трудно дифференцировать ряд других возможных причин, которых не так мало (местные причины, гемофилия, болезнь Виллебранда и пр.).

Подводя итог, следует отметить, что с одной стороны наличие PIVKA-II — часто связано с дефицитом витамина К, а с другой стороны появление PIVKA-II — не всегда маркер дефицита витамина К (как в случаях рака печени, гепатита, цирроза и пр.).

Эффекты оральных антикоагулянтов на молекулярные маркеры тромбоза

Несмотря на значительные успехи в совершенствовании методов мониторинга антикоагулянтной терапии ингибиторами витамина К и появления нового

параметра — МНО — оптимальные уровни интенсивности противосвертывающей терапии, т.е. уровни, которые бы обеспечили защиту от тромбоза с минимальным риском кровотечения, в некоторых клинических ситуациях все еще не установлены.

В связи с этим фактом, в таких случаях логически напрашивается мысль использовать в качестве маркеров эффективности проводимой антикоагулянтной терапии молекулярные маркеры тромбофилии, как-то комплексы тромбин-анти-тромбин (ТАТ), фрагменты F 1+2 протромбина, D-димер, фибринопептид А. Возможно, что эти методы контроля позволили бы выбрать ту минимальную дозу варфарина, которая была бы эффективной и в то же время безопасной. Однако, учитывая дороговизну этих методов, часто отсроченность получения результат, они не получили широкого распространения в клинической практике. Тем не менее, имеет смысл при наличии возможности, использовать эти методы в некоторых ситуациях, в особенности, когда требуется назначение высоких доз ОАК, конечно, наряду с традиционным МНО.

Эффекты ОАК на активность протромбина

Образование тромбина в нормальных условиях возможно только в присутствии факторов X_a , V_a , ионов кальция и фосфолипидных поверхностей. В течение этого процесса высвобождаются аминоконцевые неактивные участки молекулы протромбина — фрагменты 1 и 2 (F1+2). Соответственно уровень F1+2 возрастает при увеличении концентрации протромбина и интенсивности формирования протромбиназного комплекса и, как следствие, образования тромбина. Снижение уровня F 1+2 является следствием снижения интенсивности образования протромбиназного комплекса и тромбина, что в том числе может быть следствием проводимой антикоагулянтной терапии.

Именно этот вопрос актуален в первую очередь в связи с применением оральных антикоагулянтов.

Sonway et al. первыми продемонстрировали, что уровень F1+2 заметно снижается у пациентов, получающих варфарин с устойчивым $MNO > 2$. Однако поскольку варфарин снижает γ -карбоксилирование остатков глутаминовой кислоты в гепатоцитах, возникло сомнение, что F1+2 некарбоксилированных молекул протромбина могут иметь другую иммунореактивность и потому снижать достоверность метода. Однако позже выяснилось, что γ -карбоксилированные F1+2 имеют такую же иммунореактивность и метаболизм *in vivo*, как и фрагменты нормального протромбина. Это открыло возможности для дальнейшего исследования F1+2 как маркера эффективности проводимой антикоагулянтной терапии ОАК.

После назначения ОАК наблюдается относительное постепенное снижение уровней F1+2 в течение нескольких дней. При этом, согласно данным большинства исследователей, снижение уровня F1+2 до 50% у пациентов с острым тромбозом и высоким уровнем F1+2 достигалось не ранее, чем через 5 дней от начала терапии, несмотря на то, что терапевтическое значение МНО достигалось раньше. Объяснением этому феномену является механизм действия варфарина — уровень витамин-К зависимых факторов свертывания с началом терапии варфарином снижаются неодинаково быстро: уровень протромбина снижается до стабильного уровня в течение нескольких дней; в первую очередь же снижается уровень FVII и протеина С. Таким образом, в начале терапии тромбопластиновое время может быть удлинено раньше, чем уровни факторов IX, X и протромбина снизятся до значений, обеспечивающих противотромботический эффект и соответственно, сопровождающихся снижением уровня F1+2.

В некоторых случаях (особенно у пациентов с тромбофилией, которые имеют нарушения в системе протеина С, как дефицит протеина С, APC-R (FV Leiden и др), АФС и пр.) в течение первых 24 часов после начала варфаринотерапии наблюдается транзиторное повышение уровня F1+2, что связано с быстрым падением уровня протеина С. Это наблюдение легло в основу объяснению редкого феномена

варфарин-индуцированного некроза кожи вследствие проявления большей супрессии протейна С по сравнению с другими витамин К зависимыми факторами свертывания, что ведет к транзиторному состоянию гиперкоагуляции и повышению риска рецидивов тромбоза.

Конечно, если изначально у пациента имеются нарушения в системе протеина С, это увеличивает риск возникновения транзиторного гиперкоагуляционного состояния. Однако не менее важным фактором риска является и высокая нагрузочная доза варфарина в начале терапии. Поэтому, в настоящее время в большинстве ведущих клиник мира отмечается тенденция к снижению первоначальных доз варфарина (5 мг и менее в сутки).

Другим выходом из подобной ситуации является временное (в течение первых трех дней) «прикрытие» начала варфаринотерапии гепарином в профилактической дозе 10 тыс. Ед/сутки подкожно. Мы успешно с этой целью применяем низкомолекулярный гепарин, поскольку помимо прямого анти Ха-эффекта, он обладает и ангиопротективным эффектом, а, кроме того, практически не обладает побочными эффектами нефракционированного гепарина, важнейшими из которых являются геморрагические осложнения.

Активность протромбина, МНО и уровень F1+2 в процессе стабильной антикоагуляции варфарином

Поскольку вопросы использования молекулярных маркеров тромбофилии с целью контроля эффективности проводимой антикоагулянтной терапии варфарином стали активно изучаться относительно недавно, крупных многоцентровых исследований по этим вопросам пока не много. Тем не менее, определенные тенденции о корреляции между традиционным МНО и F1+2 уже наметились. Так, Conway et al. показали, что стабильная антикоагуляция с интервалом МНО 2,5 — 3,5 сопровождается снижением активности протромбина в 5—10 раз у асимптоматичных пациентов с тромботическим анамнезом.

В то же время, согласно данным исследования 130 пациентов (Boston Area Anticoagulation Trial for Atrial Fibrillation) с неревматической фибрилляцией предсердий, у которых варфарин применяется в дозах, поддерживающих интервал МНО в пределах 1,7 — 2,5, уровень F 1+2 плазмы снижается почти на 70% по сравнению с контрольной группой, не получающей антикоагулянтной терапии. Asahura et al. также подтвердили, что уровень F 1+2 значительно снижается на варфаринотерапии с МНО до 2 у пациентов с фибрилляцией предсердий.

По достижении стабильного антикоагуляционного эффекта уровень F 1+2 прогрессивно падает с увеличением интенсивности варфаринотерапии, измеряемой МНО.

По данным Takahashi et al. уровень F 1+2 снижается по сравнению с контрольной группой, при достижении значения нижней границы МНО более 1,47.

Эффекты низких доз варфарина на активацию протромбина

С целью снижения риска геморрагических осложнений в последнее время интенсивно исследуются вопросы о том, каким должен быть минимальный уровень антикоагуляции, который бы надежно предотвращал развитие тромбозов и в то же время вызывал бы минимальный риск кровотечений.

В связи с этим появились данные исследований, согласно которым минидозы варфарина (1,75—2,5 мг в сутки с МНО 1,5—2) достаточно эффективно предупреждают развитие тромбозов в отсутствие повышенного риска геморрагических осложнений. Однако по сей день нет полной уверенности, обеспечивают ли подобные дозы надежный противотромботический эффект, поскольку до сих пор не ясно, чем обеспечивается такой противотромботический эффект. Кроме того, учитывая огромную гетерогенность в биодоступности варфарина и неоднозначный межиндивидуальный антикоагуляционный ответ для лабораторного контроля

эффективности низких доз варфарина с помощью МНО целесообразнее использовать тромбопластиновые реагенты с очень высокой чувствительностью (МНО около 1). Это будет скорее гарантировать, что препарат имеет измеримый биологический эффект на систему свертывания.

Однако здесь может подстерегать и другая «опасность». Минимальное удлинение протромбинового времени, а, следовательно, и увеличение МНО могут не сопровождаться объективно подавлением свертывающей активности. Проблема и в том, что до сих пор точно не ясно, какой же все-таки минимальный уровень МНО может угнетать коагуляцию на достаточном уровне, чтобы обеспечить противотромботическую защиту. Именно потому, видимо, в этих исследованиях и в клинической практике все-таки уместнее с целью контроля антикоагулянтного эффекта использовать более информативный метод — уровень F 1+2, поскольку этот маркер отражает баланс между про- и антитромботической активностью *in vivo*.

Эффекты варфарина на маркеры тромбиновой активности (ТАТ)

Несмотря на то, что комплекс тромбин-анти тромбин (ТАТ) является хорошим маркером тромбофилии и активации тромбина (тромбинемии) в отличие от F 1+2, на фоне стабильной антикоагуляции варфарином, согласно данным большинства исследователей, достоверного снижения уровня ТАТ, как и фибринопептида А, не наблюдается. Так, у пациентов с повышенным уровнем ТАТ вследствие проксимального венозного тромбоза, уровни ТАТ остаются высокими еще в течение 8 дней после начала варфаринотерапии, и возвращаются к нормальным значениям лишь на 35-й день. В то же время Georgianis et al. обнаружил, что уровень ТАТ от 1,2 до 4,8 нг/мл с МНО от 2 до более чем 3,5 наблюдается у пациентов с искусственными клапанами сердца, получающих постоянно варфарин. Более того, у пациентов с механическими искусственными клапанами сердца уровни ТАТ прогрессивно уменьшаются с повышением интенсивности варфаринотерапии и МНО.

Средние уровни фибринопептида А также уменьшаются с увеличением интенсивности варфаринотерапии. Однако, в отличие от F 1+2, они существенно не меняются на фоне терапии низкими дозами.

Эффекты варфарина на D-димер

Несмотря на то, что D-димер высоко чувствителен (но малоспецифичен) в диагностике тромбоза глубоких вен, для него характерно гораздо более медленное снижение на фоне варфаринотерапии, чем для F 1+2, ТАТ, фибринопептида А. Тем не менее, корреляция между уровнем D-димера и интенсивностью варфаринотерапии существует. Так, Georgianis et al. обнаружили, что уровень D-димера выше у пациентов с механическими протезами клапанов сердца, получающих варфарин в дозах поддерживающих значение МНО менее 2. У пациентов же с ТГВ после начала терапии варфарином уровень D-димера в течение 35 дней значительно не уменьшался, значительное же снижение уровня D-димера отмечается лишь к третьему месяцу терапии.

5. Эффекты витамина К и антагонистов витамина К на метаболизм костной ткани

Как выше уже не раз указывалось, витамин К является коферментом γ -глутамилкарбоксилазы в реакции γ -карбоксилирования и преобразования остатков глутаминовой кислоты в γ -карбоксиглутамат (Gla). Несмотря на то, что γ -карбоксиглутамидаза была обнаружена почти во всех тканях, наибольшее количество Gla-содержащих протеинов обнаружено в тканях печени и костной ткани. Gla-белки костной ткани — это остеокальцин, протеин S и матриксный Gla-протеин (MGP). Хотя первоначально считалось, что функция этих протеинов связана с нормальным обменом веществ в костной ткани, точная их роль была не ясна. Позже выяснилось, что

остеокальцин отсутствует в недавно сформированных костях и появляется в них лишь в процессе минерализации. Исходя из этого, было предположено, что одной из функций остеокальцина является торможение чрезмерной минерализации и кристаллического роста. Другая функция остеокальцина была предложена Glowacki et al., который в эксперименте продемонстрировал, что С-конец протеина может действовать как хемо-аттрактант, необходимый для пополнения и дифференцировки предшественников остеокластов.

Функция MGP не известна, хотя предполагается, что он вовлечен в формирование гидроксипатитных кристаллов.

Наряду с тем, что в печени 4-гидроксикумарины и витамин К действуют как антагонисты, что лежит в основе антикоагулянтного эффекта варфарина и прочих ОАК; ОАК также действуют как мощные антагонисты витамина К в остеообластах, что ведет к накоплению протеинов — предшественников остеокальцина — в остеообластах и появлению в кровотоке некарбоксилированного остеокальцина. При этом избыток вводимого извне витамина К не способен преодолеть этот антагонизм, в то время как в печени имеется «обходной» метаболический путь, который «работает» в условиях высокой концентрации витамина К и вновь восстанавливает γ -карбоксилирование глутаминовых остатков факторов свертывания.

В настоящее время хорошо известно, что производные кумарина вызывают anomalies костной ткани у плодов человека и животных, а также у молодых животных. Тем не менее, до сих пор нет данных об эффекте 4-гидроксикумаринов на костную ткань детей и взрослых. Последние годы эти вопросы интенсивно изучаются.

Так, известно, что некарбоксилированный остеокальцин чаще обнаруживается у женщин в постменопаузе, из него логически напрашивается мысль, что такая группа пациенток более склонна к дефициту витамина К. Возможно, это связано и с ухудшением всасывания в кишечнике витамина К с возрастом. Может ли длительный дефицит витамина К вести к нарушению обмена веществ в костной ткани у взрослых, все еще открытый вопрос. Однако, исследования Szulc et al. свидетельствует, что риск остеопоротических переломов почти в шесть раз выше у лиц с повышенным уровнем некарбоксилированного остеокальцина.

Первое сообщение об эффективности включения витамина К в терапию остеопороза у постменопаузальных женщин было сделано японским исследователем Tomita в 1961 году, который обнаружил, что после назначения витамина К выделение кальция с мочой значительно уменьшалось.

Важность этого сообщения долгое время не была достаточно оценена, поскольку к этому времени механизм действия витамина К не был известен. Только в 1989 году об этом же сообщили Knapen et al.

К тому времени были опубликованы еще два проспективных исследования, причем тоже в Японии, где изучалось влияние высоких доз витамина К (менохинон-4, 45 мг в день в течение 12 мес.) на костную массу. Обнаружилось, что потеря костной ткани в результате остеопороза была значительно уменьшена.

Orimo et al. сообщили, что при сравнительной оценке эффекта витамина К (менохинон-4) и одного миллиграмма витамина D (альфа-кальцидол) в день у пациентов с остеопорозом лучшие исходы наблюдались в группе, получавшей витамин К. Эти данные еще раз подчеркивают, что витамин К необходим для нормального обмена веществ в костной ткани у взрослых.

Однако сомнения на этот счет все же окончательно не рассеяны. Следует заметить, что пищевые привычки у японских женщин и женщин западных отличаются. Всасывание кальция чрезвычайно низко у японок (меньше чем 300 мг/день). Поэтому, если предположить, что витамин К просто стимулировал абсорбцию кальция в кишечнике, то этот эффект имел бы большую важность у японских женщин, нежели у представительниц кавказской расы.

В настоящее время большинству клиницистов, а в особенности акушерам и педиатрам, хорошо известно, что у детей, матери которых в течение беременно-

сти получали ОАК, могут развиваться костные аномалии. Такая эмбриопатия называется фетальным варфариновым синдромом, или *chondrodysplasia punctata*, и характеризуется гипоплазией спинки носа и дистальных фаланг наряду с чрезмерной нерегулярной кальцификацией эпифизов и позвонков. Факт, что подобные клинические признаки обнаруживаются и у младенцев с биохимическими признаками врожденного дефицита редуктазы эпоксида витамина К (КО-редуктаза), свидетельствует о роли костных Gla-протеинов в регуляции минерализации молодой быстро растущей костной ткани. На сегодняшний день данные многочисленных исследований большей частью свидетельствуют, что у взрослых прием ОАК не влияет на костный метаболизм.

Таким образом, влияние ОАК на костный метаболизм зависит от возраста (точнее, состояния развития костной ткани), с наиболее выраженным эффектом на костную ткань в периоды ее быстрого роста.

Возможно, длительная терапия ОАК может также иметь слабый эффект на метаболизм костной ткани и кальция (повышение экскреции кальция с мочой и слабое снижение костной массы) у молодых мужчин (до 40 лет). В то же время недостаточно данных для суждения о влиянии ОАК на костный метаболизм у пожилых.

6. Показания и противопоказания к применению ОАК

Являясь наиболее удачным и широко распространенным ОАК, варфарин является препаратом выбора при необходимости длительной антикоагулянтной терапии, поскольку: а) обладает достаточным противотромботическим эффектом; б) принимается перорально; в) препарат дешев.

С нашей точки зрения, препарат следует назначать в «холодном» периоде с целью первичной и вторичной профилактики тромбозов, тогда как в острых ситуациях (при острых тромбозах, ТЭЛА, инфаркты миокарда и пр.), безусловно, предпочтение отдается нефракционированному гепарину и НМГ.

Круг клинических состояний и заболеваний, когда необходима длительная антикоагулянтная профилактика, достаточно широк: это и рецидивирующие тромбозы, и фибрилляция предсердий, и искусственные клапаны сердца, и заболевания клапанного аппарата сердца, и церебральный эмболизм, и онкологические заболевания.

Большинство рекомендаций по дозированию варфарина в настоящее время подразумевает достижение интервала МНО 2,0—3,0 (это менее интенсивный режим, чем рекомендовалось ранее). Более интенсивный режим варфаринотерапии рекомендуется для пациентов с высоким риском тромбоемболизма — МНО 2,5—3,5. К группе высокого риска, в основном, относятся пациенты с протезированными клапанами сердца, фибрилляцией предсердий.

Продолжительность терапии ОАК зависит от клинической ситуации и степени риска тромбоемболических осложнений.

Эмпирически ранее назначалась терапия ОАК в течение 3 месяцев после первого эпизода проксимального ТГВ. Позже появились взаимоисключающие данные исследований, согласно которым 3 месяца — недостаточный срок, и предполагалось его увеличить до 6 месяцев, и наоборот, что 6 недель — достаточный период для предотвращения рецидивов тромбоза и тромбоемболизма. Вероятно, такие разночтения объясняются и не учетом других факторов риска рецидива тромбоза и/или тромбоемболии. В частности, не всегда учитывается, какие факторы риска тромбоза присутствуют перманентно (например, генетически обусловленная тромбофилия, в том числе комбинированные формы; злокачественные новообразования), а какие — временно (переломы крупных трубчатых костей, костей таза, артропластика и пр.). Логично предположить, что в случае наличия временных факторов риска, антикоагулянтная (первичная или вторичная) профилактика тромбоемболизма может быть относительно непродолжительной.

Благодаря открытию в последние годы новых наиболее распространенных причин тромбозов на сегодняшний день появилась возможность лучше оценивать наличие факторов риска венозного и артериального тромбоэмболизма.

Для практического врача при назначении варфарина важны именно практические аспекты антикоагуляции. Поэтому в начале терапии необходимо:

- Оценить факторы риска геморрагических осложнений;
- В течение нескольких дней (чаще первые 3—5 дней) «прикрыть» начало варфаринотерапии гепарином или НМГ (если назначается гепарин, то АЧТВ через 6 часов должно удлиниться в 1,5 — 2 раза);
- Нагрузочная доза — от 5 до 7,5 мг (крайне редко 10 мг);
- Измерять МНО со следующего дня ежедневно, пока не будет получен стабильный антикоагуляционный ответ с соответствующим стабильным интервалом МНО (как правило, 2—3, за исключением групп высокого риска) в течение, по меньшей мере, 2 дней;
- По достижении стабильного МНО назначается определенная (подобранная) доза варфарина один раз в день;
- Для контроля МНО следует использовать реагенты с чувствительным МИЧ (1,0—1,5);
- Для контроля терапии использовать только МНО (но не «протромбиновым индекс»!!!);
- Снабдить пациента специальным антикоагулянтным календарем, где он сможет отмечать по датам количество принимаемых таблеток и значение МНО;
- У пациентов с устойчивой антикоагуляцией и стабильным МНО осуществлять контроль каждые 4—6 недель, в противном случае — еженедельно.

Если же имеются трудности со стабильным МНО ответом («плавающее» МНО), конечно необходим более частый контроль и более тщательное выяснение возможных причин (заболевания печени, диета, потребление алкоголя в больших дозах, использование параллельно других лекарств без ведома врача, в частности, нестероидных противовоспалительных препаратов и пр.).

Хотя, как уже указывалось, оптимальная продолжительность антикоагулянтной терапии варфарином для пациентов с ТГВ и ТЭЛА не установлена, в клинической практике для решения этого вопроса следует учитывать следующие факторы:

- Количество тромботических эпизодов в анамнезе;
- «Обратимость» факторов риска;
- Степень лизиса тромба (тромбоэмбола);
- Риск кровотечений.

Пациенты с преходящими факторами риска обычно получают антикоагулянтную терапию варфарином в течение трех месяцев. У пациентов с эпизодом тромбоза в анамнезе риск рецидива после второго эпизода достаточно высок, поэтому терапия в этих случаях (если не выявлена генетическая природа тромбофилии или циркуляция АФА) должна, по крайней мере, продолжаться до тех пор, пока тромб или тромбоэмбол полностью не лизируется согласно данным УЗДГ или сканирования легких с интервалом 3 и 6 месяцев.

Кроме того, продолжительность варфаринотерапии может по объективным данным уменьшаться вследствие высокого риска геморрагических осложнений у некоторых пациентов.

Длительная терапия более 3—6 месяцев необходима:

- у пациентов с рецидивирующими тромбозами (более чем 1 эпизод вратного тромбоза);
- у пациентов с наличием постоянных факторов риска тромбоэмболизма (генетические формы тромбофилии, АФА, комбинированные формы тромбофилии, злокачественные новообразования, тромбоэмболическая легочная гипертензия и тд.).

У пациентов с идиопатическими тромбозами, особенно в возрасте моложе 50 лет, а также в случаях наличия семейного тромбофилического анамнеза в первую очередь необходимо проведение исследований на предмет наследственного обусловленных нарушений, предрасполагающих к тромбозу, и циркуляцию АФА.

В таких случаях терапия варфарином может продолжаться неопределенно долго (в зависимости от клинической ситуации и наличия маркеров тромбофилии), а в ряде случаев (особенно у пациентов с рецидивирующими тромбозами и церебральным эмболизмом) — пожизненно.

Пожизненная антикоагулянтная профилактика варфарином необходима и у пациентов с протезированными клапанами сердца, а также у пациентов с фибрилляцией предсердий. В настоящее время обсуждается возможность применения перманентной антикоагулянтной профилактики у больных злокачественными новообразованиями, поскольку это позволит не только снизить риск тромбозомболических осложнений и преждевременной смерти от них, но и продлить жизнь за счет антиканцерогенного (антиметастатического) эффекта варфарина.

Терапия ОАК требует от врача не только знаний патогенеза и клинических проявлений тромбоэмболизма, но также фармакодинамики и фармакокинетики антагонистов витамина К. Кроме того, необходимо тщательное кропотливое изучение всех аспектов образа жизни пациента, которые могут влиять на эффективность терапии или быть причиной побочных явлений.

Помимо прочего, существует этическая сторона общения с пациентами, поскольку их надо должным образом подготовить к необходимости применения ОАК и разъяснить возможные побочные эффекты. При этом должны быть разъяснены следующие вопросы:

- Показания к антикоагуляции;
- Механизм действия препарата (на популярном уровне);
- Необходимость согласования с лечащим врачом дополнительного применения других лекарственных средств;
- Необходимость регулярного контроля дозы;
- Инструкции относительно симптомов геморрагий (малых и больших);
- Необходимость сообщения о падениях, повреждениях и кровотечениях;
- Инструкции относительно того, когда и кому звонить;
- Инструкции по питанию и потреблению алкоголя;
- Инструкции по активному образу жизни (спорт поощряется, за исключением травматических видов — борьба, бокс и пр.);
- Инструкции относительно малых геморрагий (при бритье, чистке зубов и пр.);
- Обязательное предупреждение о контрацепции и обсуждение с лечащим врачом вопросов замены терапии при планировании беременности;

Неумелое назначение варфарина или других ОАК порой может принести больший вред, чем отсутствие данной терапии. Поэтому важно еще до начала терапии выявить возможные противопоказания к ней.

Противопоказаниями к терапии ОАК являются функциональные или анатомические нарушения, которые могут увеличить частоту или выраженность кровотечения.

Некоторые противопоказания являются абсолютными (например, недавно проведена нейрохирургическая операция), но большинство противопоказаний являются относительными, и в таких случаях следует оценить и сопоставить риск развития кровотечения и вероятность положительных результатов от лечения. Поэтому прежде чем назначать длительную антикоагулянтную терапию ОАК, необходимо выявление противопоказаний и принятие решения о том, обладает ли больной достаточным интеллектом и чувством ответственности для проведения этого вида терапии. Основные противопоказания к этому лечению приведены в таблице 44.

Противопоказания к применению оральных антикоагулянтных препаратов.

Общие	Недостаточный интеллект. Психические заболевания, алкоголизм. Преклонный возраст. Беременность (в особенности I и III триместры). Трудности контроля антикоагуляции (в силу различных причин).
Сердечно-сосудистые	Умеренная или тяжелая гипертензия. Аневризма артерий. Инфекционный эндокардит. Острый перикардит.
Со стороны желудочно-кишечного тракта	Пептическая язва. Заболевания печени. Проведенная недавно биопсия печени. ^a Колит. Опухоль в желудочно-кишечном тракте.
Со стороны почек	Хирургические повреждения мочевого тракта. Умеренное или тяжелое нарушение функции почек. ^a Недавно проведенная биопсия почек. ^b
Неврологические	Недавно перенесенный неэмболический инсульт. ^b Недавно перенесенная травма и хирургическая операция на головном мозге, спинном мозге или глазах. ^b
Гемостазиологические	Предшествующий дефект гемостаза геморрагического характера.

Примечание:

^a противопоказание к длительной оральной антикоагуляции; кратковременная терапия под наблюдением врача, например, в стационаре, не противопоказана.

^b временные противопоказания.

7. Лабораторный мониторинг терапии ОАК

Еще до открытия оральных антикоагулянтов — производных кумарина — одним из методов лабораторного контроля свертывающей активности было протромбиновое время (ПВ), предложенное Арманом Квиком в 1935 году. ПВ отражает *in vitro* внешний путь свертывания и удлиняется при снижении уровня трех витаминов К зависимых факторов свертывания (II, VII и X). Одновременное снижение уровней F IX и протеинов C и S не удлиняет ПВ.

К сожалению, ПВ не стало универсальным методом контроля терапии ОАК, главным образом, из-за недостатков стандартизации вследствие чрезвычайной вариабельности различных тромбопластинов из различных экстрактов тканей, используемых в различных реагентах — это обусловило большой разброс значений ПВ при исследовании одного и того же образца плазмы с помощью различных реактивов. В связи с этим позже появился ряд других методов, призванных улучшить и стандартизировать методику контроля терапии: ПИ (протромбиновый индекс; активность протромбина и протромбиновое отношение). История с контролем антикоагулянтной терапии, можно сказать, пережила ряд «потрясений». С целью стандартизации дозирования ОАК American Heart Association рекомендовала терапевтический интервал для протромбинового отношения ПО (ПО= ПВ плазмы больного/ПВ пула нормальной плазмы) в пределах 2,0—2,5. Однако в 1950-х, начале 60-х годов появились коммерческие брэндзы тромбопластинов, полученных из кроличьих тканей, которые заменили используемые прежде реактивы из человеческого

мозга, которые в каждой стране были отечественного производства. Изменения эти были сделаны с целью улучшения и приведения к единой стандартизации тромбопластинов. Однако при том, что тромбопластины были изменены, терапевтический интервал ПО не был пересмотрен, хотя сейчас известно, что тромбопластины кроличьего происхождения обладают меньшей чувствительностью. Таким образом, ПВ с новыми коммерческими реактивами меньше удлинялось в ответ на дефект коагуляции на фоне терапии варфарином. Поэтому для достижения «лабораторного» терапевтического интервала ПО требовалось увеличение дозы варфарина. Это привело, в свою очередь, к увеличению числа геморрагических осложнений в Северной Америке на фоне варфаринотерапии. В Великобритании же и в нескольких других странах, которые продолжали использовать реактивы с человеческим тромбопластином, полученным из мозга, интенсивность антикоагулянтной терапии оставалась неизменной и соответственно, количество геморрагических осложнений не возрастало. Такое положение дел продолжалось в течение почти 30 лет. Оказалось, что дозы варфарина, применяемые в Северной Америке почти вдвое превышали таковые в Великобритании. Только в 1983 году, с введением ВОЗ новой системы стандартизации ПВ с помощью международного нормализованного отношения (МНО), удалось «сравнить» стандарты и нивелировать разницу между интенсивностью антикоагуляции *in vitro* в зависимости от типа тромбопластина. Благодаря появлению МНО, которое учитывает чувствительность используемого тромбопластина, контроль антикоагулянтной терапии стал универсальным.

С 1985 года большинство лабораторий в мире стали использовать именно показатель МНО для мониторинга антикоагулянтного эффекта ОАК. Показатель МНО рассчитывается по формуле:

$$\text{МНО} = \left(\frac{\text{ПВ}}{\text{ПВ}_{(n)}} \right)^{\text{МИЧ}},$$

где ПВ — протромбиновое время исследуемой плазмы;

ПВ_(n) — протромбиновое время нормальной плазмы;

МИЧ — международный индекс чувствительности;

МНО — международное нормализованное отношение.

Проблемы контроля антикоагулянтной терапии ОАК с использованием МНО

Несмотря на то, что система МНО выгодно отличается от предшествующих методов контроля антикоагулянтной терапии (ПИ, ПО, ПВ), тем не менее, и с ней могут возникать трудности в процессе антикоагулянтного мониторинга:

1) Точность МНО снижается при использовании тромбопластинов с высокими значениями МИЧ.

Учитывая, что при математическом вычислении МНО, ПО возводится в степень МИЧ ($\text{МНО} = (\text{ПО})^{\text{МИЧ}}$), не удивительно, что конечный результат менее точен, когда тромбопластин менее чувствителен и соответственно, значение МИЧ выше. По той же причине погрешности выше и при большем значении ПО, т.е. соответственно при большем удлинении ПВ исследуемой плазмы, а, следовательно, и более интенсивной антикоагуляции ($\text{ПО} = \text{ПВ}$ исследуемой плазмы / $\text{ПВ}_{(n)}$). Данная проблема может быть наиболее просто решена использованием чувствительных тромбопластинов со значениями МНО, близкими к 1,0. Однако следует отметить, что даже с малочувствительными тромбопластинами, использование МНО обеспечивает более точные результаты, чем просто протромбиновое отношение (ПО).

2) Снижение точности МНО в связи с использованием автоматических коагулометров.

Поскольку в большинстве современных лабораторий используется автоматические коагулометры для фиксации времени образования сгустка, значения МНО отличаются в зависимости от прибора.

Тем не менее, эта погрешность может быть сведена к минимуму при использовании чувствительных тромбoplastинов (МНО близкое к 1,0) и тромбoplastинов с лиофилизированными образцами плазмы с известными значениями ПВ.

3) Некачественные реактивы с недостаточно достоверным значением МИЧ.

Как правило, такая ошибка подозревается, когда разные партии реактива тромбoplastина от одного и того же производителя имеют разные значения МИЧ.

Понятно, что с такими реактивами адекватный контроль варфаринотерапии невозможен, что может повлечь за собой тяжелые осложнения, вплоть до фатальных.

Поэтому желательно использовать надежные реактивы от ведущих производителей.

4) Использование некачественной (несоответствующей заявленному значению ПВ) контрольной плазмы.

Такую проблему можно решить, либо заменив некачественный контрольный образец на хорошо протестированный, или использовать пул плазмы, по крайней мере, от 20 здоровых волонтеров.

8. Возможности применения ОАК в акушерской практике

Учитывая, что беременность является состоянием, физиологически сопровождающимся гиперкоагуляцией и повышающим риск тромботических осложнений в среднем в 5—6 раз, венозный и артериальный тромбоэмболизм являются серьезными проблемами, с которыми сталкиваются акушеры. Следует отметить, что если за последние 30 лет материнская смертность значительно снизилась в развитых странах в основном за счет таких составляющих материнской смертности, как кровотечения и сепсис, тромбоэмболические осложнения заняли в структуре материнской смертности 1—2 места. По-видимому, в первую очередь, это связано с меньшей предсказуемостью тромбоэмболических осложнений, так как диагностика претромботических состояний и тромбоза глубоких вен далеко не всегда доступна и большинство акушеров мало ориентированы в этих вопросах. Поэтому часто фатальные тромбозы являются неожиданностью, омрачающей не только послеродовой, но и дородовой периоды.

Профилактика тромбоэмболических осложнений во время беременности ставит специальные проблемы: во-первых, необходимо дородовое консультирование и выделение групп риска по развитию тромбоэмболических осложнений; во-вторых, важно вовремя диагностировать свершившийся тромбоз или тромбоэмболию; в-третьих, ведение беременности требует постоянного лабораторного и клинического мониторинга и адекватной противотромботической профилактики — эффективной и безопасной для матери и плода.

Благодаря открытиям в области клинической гемостазиологии, в последние годы появилась возможность более тщательно формировать группы риска, которые значительно расширились (рецидивирующие тромбозы и тромбоэмболии в анамнезе, АФС, мутация FV Leiden, мутация протромбина, дефекты фибринолиза, искусственные клапаны сердца и пр.).

Как уже указывалось, оптимальный противотромботический препарат во время беременности должен быть достаточно эффективным и безопасным для плода. Это изначально должно подразумевать противопоказание к применению варфарина и др. ОАК и показания к антикоагуляции гепарином (в настоящее время появилась возможность применения низкомолекулярных гепаринов), поскольку хорошо известно, что ОАК обладают тератогенным и эмбриотоксическим эффектами.

Однако место оральной антикоагулянтной терапии в ведении беременных с высоким риском тромбоэмболических осложнений в последние годы все еще спорный вопрос, поскольку, во-первых, беременные с искусственными клапанами сердца все еще получают ОАК в определенные периоды беременности, так как требуют эффективной антикоагуляции в связи с высоким риском артериаль-

ных тромбоземболических явлений; во-вторых, вопросы эмбриотоксичности и тератогенности варфарина изучаются более подробно, что, возможно, позволило найти форму и время применения ОАК во время беременности; в-третьих, бесспорно, соглашаясь с тем, что при наличии гепарина (и в особенности НМГ) нет необходимости в использовании производных кумарина у беременных, следует заметить, что в редких случаях противопоказаний к применению гепарина (гепарин-индуцированная тромбоцитопения, остеопороз) единственной альтернативой чаще остаются ОАК.

В связи с этими обстоятельствами имеет смысл рассмотреть эффекты варфарина и клинико-лабораторные особенности его мониторинга во время беременности.

Варфарин: «за» и «против» применения в акушерстве

Большое преимущество варфарина состоит, безусловно, в том, что его можно применять перорально, однако и большим недостатком является то, что он проникает через плаценту и оказывает неблагоприятный тератогенный эффект в первом триместре, а также увеличивает риск геморрагических осложнений как у матери, так и плода в конце беременности и в особенности во время родов.

Другая опасность, которая может подстергать беременную, находящуюся на варфаринотерапии, — **ургентные акушерские ситуации**, в частности, ПОНРП, которая может привести к смертельному кровотечению и гибели плода, кроме того, в подобных ситуациях необходимо экстренное кесарево сечение, а (за исключением концентрата факторов протромбинового комплекса) восстановить быстро уровень витамин К-зависимых факторов и полноценный гемостаз с помощью других методов невозможно (у витамина К отсроченный эффект — несколько часов; свежемороженая плазма может быть необходима в больших количествах для восстановления достаточного уровня факторов свертывания, что может вызвать перегрузку объемом, учитывая, что ОЦК у беременных повышено).

Однако даже если исход ургентной ситуации успешный, после операции кесарева сечения может понадобиться возврат к антикоагулянтной терапии с целью профилактики тромбоземболизма. Здесь также могут быть трудности. Так, если применялись высокие дозы витамина К для инверсии эффекта варфаринизации, в течение нескольких последующих дней развивается резистентность к ОАК.

Неблагоприятные эффекты на плод связаны с тем, что ОАК проникают через плаценту и способствуют развитию характерной эмбриопатии, аномалий ЦНС и кровотечений плода. Кроме того, повышается и риск преждевременных родов, и антенатальной гибели плода в результате дефекта гемостатической функции у плода и матери, ведущего к кровотечениям в области плаценты и, как следствие, ПОНРП.

Установлено, что тератогенные нарушения носят определенный характер, но встречаются с разной частотой в первом триместре. Наиболее часто развивается синдром, характеризующийся патологическим развитием аномального остеогенеза и хрящевой ткани — «Chondrodysplasia punctata» — хотя это не единственная мальформация, характерная для варфарина. Существует мнение, что фениндион (фенилин) вызывает тератогенные эффекты реже, чем варфарин, однако все еще нет достоверных данных, подтверждающих эту гипотезу. Механизм нарушений остеогенеза связан с подавлением γ -карбоксилирования остеокальцина — основного белка костной ткани, синтезируемого остеокластами, о чем свидетельствуют данные экспериментов на крысах. Относительно же высокое содержание в норме остеокальцина в околоплодных водах свидетельствует о гораздо более быстрой минерализации костей у плода, чем у взрослых. Поэтому так неблагоприятно подавление γ -карбоксилирования у плодов. Кумарин — индуцированная эмбриопатия включает назальную гипоплазию, гипертелоризм, а также эпифизарные аномалии, обнаруживаемые в позвоночнике, стопах, бедренной и пяточной костях в период новорожденности и в детстве, которые с возрастом исчезают. Другие скелетные аномалии включают брахидактилию («паучьи пальцы»), гипоплазию конечных фаланг, лучевую девиацию пальцев, аномалии черепа и кифосколиоз. Пе-

речисленные аномалии, как правило, описываются в случаях длительной экспозиции *in utero* оральных антикоагулянтов в первом триместре. Скелетные аномалии могут сопровождаться атрофией зрительных нервов, микроцефалией и в некоторых случаях олигофренией: однако, эти проявления являются скорее результатом микрогеморрагий в ткань мозга во втором и третьем триместрах.

Более редки сообщения в мировой литературе о других врожденных пороках — полидактилии, незаращенном боталловом протоке, затылочном менингомиелоцеле, гидроцефалии, контрактуре локтей, макроглоссии, диафрагмальной грыже и аномалиях мочевого тракта. Однако достоверно не известно являются ли эти пороки следствием именно варфаринотерапии.

Истинную частоту варфариновой эмбриопатии установить достаточно сложно, поскольку большинство литературных обзоров ретроспективны. Но обращает на себя внимание и тот факт, что наибольшее число сообщений о варфариновой эмбриопатии приводится исследователями из Северной Америки и по времени приходится как раз на тот период, когда вследствие введения новых коммерческих (менее чувствительных) тромбопластинов для контроля ПВ у пациенток, получающих варфарин, большинство из них находилось в условиях очень высокой интенсивности антикоагуляции. В то же время в Великобритании, где по-прежнему использовался «чувствительный» человеческий тромбопластин, такие осложнения были редки.

В настоящее время все более укрепляется мнение, что риск варфарин-индуцированной эмбриопатии повышается при терапии высокими дозами и в период беременности между 6 и 12 неделями.

Практическому врачу следует ориентировать женщин, получающих варфарин, о возможных осложнениях при применении его во время беременности. Однако нередко у женщин, получающих варфарин, беременность наступает неожиданно, и они, сами того не подозревая, будучи беременными, принимают варфарин. Конечно же, это не причина для прерывания беременности, поскольку до 5 недель риск развития эмбриопатии чрезвычайно низок; в то же время с 6 по 12 неделю следует заменить варфарин на гепарин; в случаях же, когда варфаринотерапия необходима, возобновлять ее можно лишь с 12 недели и вплоть до 35—36 недели, прикрыв дородовой и родовой период гепарином или НМГ. В послеродовом периоде применение варфарина возможно, поскольку он не проникает в грудное молоко и, соответственно, не вызывает нарушения гемостаза у младенца. Этого нельзя сказать о фениндионе, который проникает в молоко и может стать причиной тяжелых геморрагических осложнений у ребенка.

К состояниям, когда варфарин все еще рекомендуется к применению во время беременности, относятся протезированные клапаны сердца, для предотвращения артериального тромбоэмболизма. Если беременные с искусственными клапанами сердца (ИКС) не находятся в состоянии полной антикоагуляции, риск тромбоза клапанов или системной эмболии, а, соответственно, смертности значительно повышается. Хотя добавление аспирина к варфарину снижает риск системного эмболизма после операции замены клапанов сердца, только антитромбоцитарная терапия не эффективна.

Долгое время считалось, что интенсивность антикоагулянтной терапии должна поддерживать МНО около 3,0 у всех пациенток с ИКС, чтобы обеспечить адекватную противотромботическую терапию. Однако появились данные, согласно которым менее интенсивные режимы терапии (МНО 2,0—2,5) так же эффективны и более безопасны (с точки зрения геморрагий и тератогенных осложнений).

Поскольку биопротезы клапанов сердца менее тромбогенны, чем искусственные (антикоагуляция варфарином продолжается лишь три месяца после операции замены клапанов), весьма заманчивой казалась идея замены поврежденных клапанов у всех женщин репродуктивного возраста биопротезами. Это позволило бы избежать опасностей вынужденной полной антикоагуляции во время беременности. Однако, к сожалению и биопротезы не идеальны для женщин репродуктив-

ного возраста. «Идеальный» протез должен быть долговечным, атромбогенным и гемодинамически «состоятельным». Биологические же протезы «стареют» уже во второй, третьей декаде жизни. Беременность же вызывает глубокие изменения в функционировании сердечно-сосудистой системы, что увеличивает нагрузку на биопротез. Кроме того, изменения в обмене кальция, свойственные беременности, также могут стать причиной кальцификации и ранней дегенерации ткани протеза. Поэтому, хотя биопротезы не требуют во время беременности антикоагуляции, часто из-за ухудшения, наблюдаемого во время беременности и после родов, возникает необходимость в повторной операции.

В течение послеродового периода варфаринотерапия может возобновляться, однако начинать ее следует весьма осторожно, под прикрытием гепарина во избежание опасности развития транзиторной гиперкоагуляции (в связи с быстрым падением уровня протеина С) и таких осложнений, как тромбозы и некроз кожи.

Если во время беременности применение варфарина нежелательно и является лишь альтернативой гепаринам, когда их применение по тем или иным причинам невозможно, то в послеродовом периоде круг патологических состояний и заболеваний, требующих варфаринотерапии, значительно шире: это и АФС, и генетически обусловленные тромбофилии, сопровождаемые рецидивирующими тромбозами, которые требуют длительной (не менее трех месяцев), а порой пожизненной (ИКС) антикоагуляции.

9. Осложнения терапии ОАК

Кровотечения являются основным серьезным осложнением терапии ОАК. Как правило, они развиваются при длительной (свыше 3 лет) и интенсивной терапии высокими дозами ($MHO >4,0$) ОАК. Геморрагические тенденции могут, кроме того, усиливаться в результате эффекта взаимодействия с другими лекарственными средствами и потенцирования эффекта ОАК (например, с аспирином). Массивные кровотечения, часто ассоциированные с высоким риском летального исхода, включают, в основном, внутричерепные, острые желудочно-кишечные кровотечения и кровотечения другой локализации, требующие немедленной гемотрансфузии. Наиболее частыми геморрагическими осложнениями терапии ОАК являются носовые, гематурия и, несколько реже, отмечаются желудочно-кишечные, внутричерепные и легочные кровотечения. Геморрагии различной локализации (табл. 45) чаще клинически очевидны, но могут быть и скрытыми, когда кровотечение происходит в забрюшинную или окологепатическую области; почти 1/5 всех кровотечений, наблюдаемых в исследовании Fonfacs (1979), была локализована именно в этих двух участках, а геморрагии в забрюшинное пространство связаны с очень высокой частотой смертности.

Купирование кровотечений

Более чем у половины больных, у которых во время антикоагулянтной терапии открылось кровотечение, может иметь место диагностируемое нарушение и, таким образом, необходимо попытаться выявить основное нарушение, особенно в тех случаях, когда наблюдается кровотечение из желудочно-кишечного тракта или из органов малого таза у женщины. Если MHO находится в пределах терапевтической нормы, и не было выявлено никакого нарушения, которое могло бы объяснить природу кровотечения, следует провести тесты, исследующие внутренний путь свертывания крови, так как геморрагия может быть вызвана низкими уровнями активности фактора IX. В тех случаях, когда MHO находится вне пределов нормальных значений, следует изучить возможную роль предрасполагающих факторов, таких как медикаментозные взаимодействия или сопутствующие заболевания.

Локализация кровотечений у пациентов с геморрагическими осложнениями ОАК.

Локализация	Примечания
Нервная система	
Внутричерепная Субарахноидальная Подоболочечная	Компьютерная осевая томография способствует постановке точного диагноза
Спинальный мозг и его канал	Редко
Компрессия периферических нервов	Редко
Подконъюнктивальная	Обычно безопасная
Сердце	
Кровеносные сосуды в области околосердечной сумки.	Редко
Область шеи	
Глоточно-гортанная область	Может вызвать асфиксию, редко встречается
Легкие	
Легочное экстраплевральное кровотечение	Трудности при дифференциальной диагностике с легочной эмболией
Область живота	
Желудочно-кишечный тракт	Обычно из язвы желудка или 12-ти перстной кишки
Забрюшинное пространство	Высокая частота смертности: при операции источник кровотечения находят редко
Стенка кишечника	Может вызвать кишечную непроходимость или имитировать карциному толстой кишки
Надпочечник	Редко
Кровеносные сосуды в области брюшины	Редко
Яичники	Редко
Ректальная область	Обычно из геморроидальных вен
Почки	
Микроскопическая гематурия	Наблюдается при терапевтическом диапазоне антикоагуляции, но может указывать на передозировку
Явная гематурия	Обычно при передозировке
Внутрипочечное, околопочечное	Может имитировать опухоль почки
Кожа, мышцы и костно-суставная система	
Кровоподтеки	Небольшие спонтанные кровоподтеки встречаются часто, обширные кровоподтеки наблюдаются редко
Мышечные	Редко: кровотечение в оболочку прямой кишки может привести к феномену "острого" живота
Гемартроз	Встречается редко

Лечение геморрагических осложнений терапии ОАК, прежде всего, зависит от интенсивности кровотечения. В тех случаях, когда необходима быстрая инверсия антикоагулянтного эффекта, возможно назначение витамина К, а также трансфузия протеиновых комплексов. Следует заметить, что такая же терапия рекомендуется и пациентам с геморрагическим синдромом, не получающим антикоагулянты (заболевания печени, дефицит витамина К или гемофилия В).

В случаях передозировки ОАК, в отсутствие кровотечения, обычно достаточны временная отмена на 2—3 дня или снижение дозы ОАК. Если же уровень МНО значительно превышает 4,5 необходимо назначение низких доз витамина К (1—2 мг).

При кровотечениях малой интенсивности помимо отмены антикоагулянта, дополнительно необходимо назначение витамина К (1—5 мг), способствующего укорочению ПВ в течение нескольких часов (примерно 8 часов). При массивных кровотечениях, особенно угрожающих жизни, или в ургентных ситуациях, когда необходимо хирургическое вмешательство, доза витамина К должна составлять не менее 10—20 мг, кроме того, дополнительно необходима трансфузия концентрата протромбинового комплекса для быстрой нормализации коагуляции.

По сравнению с концентратом протромбинового комплекса, свежезамороженная плазма (СЗП) менее эффективна для купирования кровотечения у пациентов, получающих ОАК. Более того, СЗП реже рекомендуется и из-за того, что она менее стандартизирована по содержанию факторов свертывания, а, кроме того, может быть причиной перегрузки объемом, в особенности у кардиальных больных.

Однако при назначении концентрата факторов протромбиназного комплекса (особенно повторном) следует помнить и о риске рецидива тромбоэмболии. Возможно, оправдано наряду с концентратом факторов протромбиназного комплекса введение ультранизких доз гепарина, которые не увеличивают геморрагическую тенденцию, но позволяют избежать рецидивов тромбоэмболизма и пациентов высокого риска в связи с основным заболеванием (искусственные клапаны сердца, фибрилляция предсердий и пр.).

При назначении витамина К необходимо также учитывать, что доза более 10 мг, в течение нескольких дней формирует состояние резистентности организма к антикоагулянтной терапии антагонистами витамина К. В то же время 5 мг витамина К такого эффекта не вызывает.

К другим эффектам оральных антикоагулянтов относится некроз кожи. Это редкое осложнение, которое наблюдается и при применении других антикоагулянтов. Большинство описанных случаев наблюдалось у женщин, страдающих ожирением (тенденция к развитию эритематозных поражений над молочными железами, на бедрах и ягодицах, которые могут прогрессировать до появления пузырей и некроза (Nalbundian et al., 1965)). Выраженность этого нарушения может быть различной, но в литературе опубликованы случаи ампутации и летальных исходов. Поражения развиваются в течение первых нескольких дней после начала терапии и практически во всех случаях при использовании режимов терапии с высокой нагрузочной дозой. Гистопатологической особенностью, лежащей в основе этих поражений, является тромбоз в подкожной сосудистой сети, что связано, по-видимому, с быстрым падением уровня протеинов С и S в начале терапии большими дозами ОАК, так как период полувыведения у этих протеинов короче, чем у витамин К-зависимых факторов свертывания. Поэтому у больных с наследственным дефицитом протеинов С и S риск развития тромбозов и некроза кожи при назначении высоких начальных доз варфарина высок. Этим больным имеет смысл назначать ОАК под «прикрытием» гепарина или НМГ. Лишь при достижении значения INR 2—2,5, гепарин отменяется, при этом через 6 часов после отмены вновь исследуется INR и корригируется доза варфарина.

При переходе с гепарина на ОАК следует придерживаться такой же тактики во избежание нежелательного тромбофилического эффекта в начале терапии ОАК. Начальную дозу варфарина рекомендовано начинать с 5мг под контролем INR.

В литературе встречаются сообщения о возможности развития лекарственной желтухи при применении ряда производных кумарина, в том числе и при использовании варфарина.

Кроме того, имеются сведения о гепатотоксическом эффекте ОАК (варфарин, фенпрокумон) с развитием повреждения печени, имитирующего вирусный гепатит (S. Ehrenforth, J.F.Schenk et al, 1999). Некоторые оральные антикоагулянты, но не варфарин, могут потенцировать эффекты антиконвульсантов и гипогликемических препаратов.

Список литературы

1. Бокарев И.Н., Козлова Т.В. Принципы рациональной терапии оральными антикоагулянтами // *Тромбоз, гемостаз и реология*, — 2000. — №4(4).
2. Ahmod S. Lovastatin. Warfarin interaction. // *Arch. Intern. Med.* 1990; 150: 2407.
3. Alving B.M., Strickler M.P., Knight R.D., Barr C.F., Berenbcrg J.L., Peck C.C. Hereditary warfarin resistance. Investigation of rare phenomenon. // *Arch. Intern. Med.* 1985; 145: 499—501.
4. Angaran D.M., Dias V.C., Arom K.V. et al. The comparative influence of prophylactic antibiotics on the prothrombin response to warfarin in the postoperative prosthetic cardiac valve patient. Cefamandole, cefazolin, vancomycin. // *Ann. Surg.* 1987; 206: 155—61.
5. Anon. Vitamin K, vitamin E and the coumarin drugs. // *Nutr. Rev.* 1982; 40: 180—2.
6. Antlitz A.M., Meud J.A.Jr., Tolentino M.A. Potentiation of oral anticoagulant therapy by acetaminophen. // *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 1968; 10: 501—7.
7. Antretter H., Bonatti J. Pregnancy and prosthetic heart valves. // *Lancet* 1994; 344: 1643—4.
8. Aoki N. Japanese not hypersensitive to warfarin. // *N. Engl. J. Med.* 1971; 285: 1327.
9. Arnesen H., Smith P. The predictability of bleeding of prothrombin times sensitive or insensitive to PIVKA during intensive oral anticoagulation. // *Thromb. Res.* 1991; 61: 311—14.
10. Badduke B.R., Jamieson W.R.E., Miyagishima R.T. Pregnancy and childbearing in a population with biologic valvular prostheses. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 1991; 102: 179—86.
11. Bern M.M., Goldhaber S.Z. Low-dose and very-low-dose warfarin, in: Goldhaber S.Z. ed. *Prevention of venous thromboembolism*. New York: Marcel Dekker, 1993:231—44.
12. Bern M.M., Lokich J.J., Wallach S.R. Very low doses of warfarin can prevent thrombosis in central venous catheters. // *Ann. Intern. Med.* 1990; 112: 423—8.
13. Bern M.M., Lokich J.J., Wallach S.R. et al. Very low doses of warfarin can prevent thrombosis in central venous catheters: a randomized prospective trial. // *Ann. Intern. Med.* 1990; 112: 423—8.
14. Blanchard R.A., Furie B.C., Barnett J., Peck C., Faye K., Jacobs M. Vitamin K deficiency in newborns and their mothers. // *Thromb. Haemost.* 1985; 54:1340.

15. Blanchard R.A., Furie B.C., Jorgensen M., Kruger S.F., Furie B. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. //N. Engl. J. Med. 1981; 305: 242—8.
16. Blickstein D., Shakla M., Inbal A. Warfarin antagonism by avocado. //Lancet 1991; 337: 914—15.
17. Boneu B., Bes G., Pelzer H., Sie P., Boccalon H. D-dimers, thrombin-antithrombin III complexes and prothrombin fragments 1+2: diagnostic value in clinically suspected deep vein thrombosis. //Thromb. Haemost. 1991; 65: 28—31.
18. Booth S.L., Madabushi H.T., Davidson K.W., Sadowski J.A. Phylloquinone (vitamin K) is not extracted from tea or coffee during brewing. //7 Am. Diet. Assoc. 1995; 95: 82—3.
19. Booth S.L., Sadowski J.A., Weihrauch J.L., Ferland G. Vitamin K1 (phylloquinone) content of foods: a provisional table. //J. Food Compos. Anal. 1993; 6: 109—20.
20. Breckenridge A.M. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the enantiomers of warfarin in man. //Clin. Pharmacol. Ther. 1974; 15: 424—30.
21. British Society for Haematology. Guidelines on oral anticoagulation, 2nd edn, rev Poller L. //J. Clin. Pathol. 1990; 43: 177—83.
22. Bruhn H.D., Liebsch J., Wagner C. Documentation of hypocoagulability by measurement of prothrombin fragment F1+2 when introducing oral anticoagulant therapy. //Thromb. Res. 1992; 68: 317—19.
23. Buckley N.A., Dawson A.H. Drug interactions with warfarin. //Med. J. Aust. 1992; 157:479.
24. Campbell H.A., Link K.P. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. IV. The isolation and crystallization of the hemorrhagic agent. //J. Biol. Chem. 1941; 138: 21—33.
25. Campbell H.A., Smith W.K., Roberts W.L., Link K.P. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. II. The bioassay of hemorrhagic concentrates by following the prothrombin level in the plasma of rabbit blood. //J. Biol. Chem. 1941; 138: 1—20.
26. Chang H.J., Bell J.R., Deroo D.B., Kirk J.W., Wasson J.H. Physician variation in anticoagulating patients with atrial fibrillation. //Arch. Intern. Med. 1990; 150: 83—6.
27. Chesebro J.H., Fuster V., Elveback L.R. Trial of combined warfarin plus dipyridamole or aspirin therapy on prosthetic heart valve replacement: danger of aspirin compared with dipyridamole. //Am. J. Cardiol. 1983; 51: 1537—41.
28. Choonara I.A., Malia R.G., Haynes B.P. The relationship between inhibition of vitamin K 2,3-epoxide reductase and reduction of clotting factor activity with warfarin. //Br. J. Pharmacol. 1988; 25: 1—7.
29. Coon W.W., Willis P.W. Thromboembolic complications during anticoagulant therapy. //Arch. Surg. 1972; 105: 209—12.
30. Cox D.R., Martin L., Hall B.D. Asplenia syndrome after fetal exposure to warfarin. //Lancet 1977; II: 1134.
31. De Vries T.W., van der Veer E., Heijmans H.S.A. Warfarin embryopathy: patient, possibility, pathogenesis and prognosis. //Br. J. Obstet. Gynaecol. 1993; 100:869—71.

32. Denson K.W.E. Thromboplastin-sensitivity, precision and other characteristics. //Clin. Lab. Haematol. 1988; 18: 315—28.
33. Diab F., Feffer S. Hereditary warfarin resistance. //South. Med. J. 1994; 87: 407—9.
34. Elias A., Bonfils S., Daoud-Elias M. et al. Influence of long term oral anticoagulants upon prothrombin fragment 1+2, thrombin-antithrombin III complex and D-dimer levels in patients affected by proximal deep vein thrombosis. //Thromb. Haemost. 1993; 69: 302—5.
35. Esmon C.T., Suttie J.W. Vitamin K-dependent carboxylase: solubilization and properties. //J. Biol. Chem. 1976; 251: 6238.
36. Esmon C.T. The protein C anticoagulant pathway: biochemistry, physiology and clinical implications. //Focus on Hemostasis (American Red Cross) 1992; 1: 1—7.
37. Ezekowitz M.D., Bridgers S.L., James K.E. et al. Warfarin in the prevention of stroke associated with nonrheumatic atrial fibrillation. //N. Engl. J. Med. 1992; 327: 1406—12.
38. Fasco M.J., Hildebrandt E.F., Suttie J.W. Evidence that warfarin anticoagulant action involves two distinct reductase activities. //J. Biol. Chem. 1982; 19: 1210.
39. Ferland G., Sadowski J.A., O'Brien M.E. Dietary induced subclinical vitamin K deficiency in normal human subjects. //J. Clin. Invest. 1993; 9: 1761—8.
40. Fiore C.E., Tamburino C., Foti R., Grimaldi D. Reduced bone mineral content in patients taking an oral anticoagulant. //South. Meet. J. 1990; 83: 538—42.
41. Fujita T. Studies of osteoporosis in Japan. //Metabolism 1990; 39: 39—42.
42. Furie B., Diuguid C.F., Jacobs M., Diuguid D.L., Furie B.C. Randomized prospective trial comparing the native prothrombin antigen with the prothrombin time for monitoring oral anticoagulant therapy. //Blood 1990; 75: 344 —9.
43. Fuster V., Badimon L., Badimon J.J., Chesebro J.H. Prevention of thromboembolism induced by prosthetic heart valves. //Sem. Thromb. Haemost. 1988; 14: 50—8. 27.
44. Gaw A., Wosornu D., Simvastatin during warfarin therapy in hyperlipoproteinaemia. //Lancet 1992; 340: 979—80.
45. Ginsberg J.S., Hirsh J. Anticoagulants during pregnancy. //Ann. Rev. Med. 1989; 40: 79—86.
46. Ginsberg J.S., Hirsh J. Use of antithrombotic agents during pregnancy. //Chest 1992; 102(Suppl): 3858—908.
47. Girolami A., Sartori M.T., Simioni P. The biological inertia of coumarin-induced pre-factors (so called PIVKAs). //Thromb. Res. 1991; 64: 627—8 (letter, comment).
48. Goldberg R.J., Gore J.M., Dalen J.E. Long term anticoagulant therapy after acute myocardial infarction. //Am. Heart. J. 1985; 109: 616 —62.
49. Green D, Hull RD, Brant R, Pineo GF. Lower mortality in cancer patients treated low-molecular-weight versus standard heparin. //Lancet 1992; 339: 1476.
50. Hall J.G., Pauli R.M. Wilson K.M. Maternal and fetal sequelae of anticoagulation during pregnancy. //Am. J. Med. 1980; 68: 122—40.

51. Hara K., Akiyama Y., Tajima T., Shiraki M. Menatetrenone inhibits bone resorption partly through inhibition of PGE2 synthesis in vitro. //J. Bone Miner. Res. 1993; 8: 535—42.
52. Hart J.P., Shearer M.J., Klencrman L. et al. Electrochemical detection of depressed circulating levels of vitamin K in osteoporosis. //J. Clin. Endocrinol. Metab. 1985; 60: 1268—9.
53. Hauschka P.V., Lian J.B., Cole D.E.C., Gundberg C.M. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. //Phys. Rev. 1989; 69: 990—1047.
54. Hemker H.C., Muller A.D., Loeliger E.A. Two types of prothrombin in vitamin K deficiency. //Thromb. Diath. Haemorrh. 1970; 23: 633.
55. Hermans J., van den Besselaar A.M.H.P., Loeliger E.A., van der Velde E.A. A collaborative study of reference materials for thromboplastins. //Thromb. Haemost. 1983; 50: 712—17.
56. Hewick D., McEwan J. Plasma half-lives, plasma metabolites and anticoagulant efficacies of the enantiomers of warfarin in man. //J. Pharm. Pharmacol. 1983; 25: 458—65.
57. Hirsh J., Poller L., Deykin D. et al. Optimal therapeutic range for oral anticoagulants. //Chest 1989; 95: 58—118.
58. Holmgren K., Andersson G., Fagrell B., et al. One-month versus six-month therapy with oral anticoagulants after symptomatic deep vein thrombosis. //Acta. Med. Scand. 1985; 218: 279—84.
59. Howe A.M., Webster W.S. The warfarin embryopathy: a rat model showing maxillofacial hypoplasia and other skeletal disturbances. //Teratology 1992; 46: 379—90.
60. Hull R., Delmore T., Genton E., et al. Warfarin sodium versus low-dose heparin in the long-term treatment of venous thrombosis. //N. Engl. J. Med. 1979; 301: 855—8.
61. Hull R., Hirsh J., Carter C., et al. Different intensities of oral anticoagulation therapy in the treatment of proximal vein thrombosis. //N. Engl. J. Med. 1982; 307: 1676—81.
62. Hunt B.A., Sax M.J., Chretien S.D., Gray D.R., Frank W.O. Stereoselective alterations in the pharmacokinetics of warfarin enantiomers with two cimetidine dose regimens. //Pharmacotherapy 1989; 9: 184 (letter).
63. Hylek E.M., Singer D.E. Risk factors for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. //Ann. Intern. Med. 1994; 120: 897—902.
64. Ingram G.I.C. The stability of the WHO reference thromboplastin. NIBS&C 67/40. //Thromb. Haemost. 1979; 42: 1135—40.
65. ISIS-2 (Secondary International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. //Lancet 1988; II: 349—60.
66. Jahnchen E., Meinertz T., Gilfrich H.J., Kersting F., Groth U. Enhanced elimination of warfarin during treatment with cholestyramine. //Br. J. Clin. Pharmacol. 1978; 5: 437—40.
67. Kazmier F.J. Effect of oral anticoagulants on factors VII, IX, X and II. MS Thesis, University of Minnesota, 1966.

68. Kempin S.J. Warfarin resistance caused by broccoli. //N. Engl. J. Med. 1983; 308: 1229—30.
69. Kirkwood T.B.L. Calibration of reference thromboplastins and standardisation of the prothrombin time ratio. //Thromb. Haemost. 1983; 49: 238—44.
70. Knapen M.H.J., Jie K.-S.G., Hamulyak K., Vermeer C. Vitamin K-induced changes in markers for osteoblast activity and urinary calcium loss. //Calcif Tissue Int. 1993; S3: 81—5.
71. Koch-Weser J. Quinidine-induced hypoprothrombinemic hemorrhage in patients on chronic warfarin therapy. //Ann. Intern. Med. 1968; 68: 511—17.
72. Kumar S., Haigh J.R.M., Rhodes L.E. et al. Poor compliance is a major factor in unstable outpatient control of anticoagulant therapy. //Thromb. Haemost. 1989; 62: 729—32.
73. Kutsop J.J. Update on vitamin K, content of enteral products. //Am. J. Hosp. Pharm. 1984; 41: 1762.
74. Landefeld S., Beyth R.J. Anticoagulation-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. //Am. J. Med. 1993; 95: 315—28.
75. Landefeld C.S. Bleeding in outpatients treated with warfarin: relation to the prothrombin time and important remediable lesions. //Am. J. Med. 1985; 87: 153—9.
76. Lavergne J.M., Josso F. Metabolism of PIVKA II in man. In: Hemker H.C., Veltkamp J. eds. Prothrombin and related coagulation factors. //Leiden: Leiden University Press, 1975: 183—90.
77. Lee M., Schwartz R.N., Sharifi R. Warfarin resistance and vitamin K. //Ann. Intern. Med. 1981; 94: 140—1.
78. Leor J., Matetzki S. Ofloxacin and warfarin. //Ann. Intern. Med. 1988; 109: 761 (letter).
79. Levine M., Hirsh J., Gent M., et al. Double-blind randomised trial of very-low-dose warfarin for prevention of thromboembolism in stage IV breast cancer. //Lancet 1994; 343: 886—9.
80. Levine M.N., Gent M., Hirsh J., et al. The thrombogenic effect of anticancer drug therapy in women with stage II breast cancer. //N. Engl. J. Med. 1988; 318: 404—7.
81. Levine M.N., Raskob G., Hirsh J. Risk of haemorrhage associated with long term anticoagulant therapy. //Drugs 1985; 30: 444—60.
82. Levine M.N., Raskob G., Landefeld S., Hirsh J. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. //Chest 1995; 108(Suppl): 2768—908.
83. Lewis R.J., Trager W.F. Robinson R.J. Chan K.K. Warfarin metabolites: the anticoagulant activity and the pharmacology of warfarin alcohols. //J. Lab. Clin. Med. 1973; 81: 925—9.
84. Link K. The discovery of dicumarol and its sequels. //Circulation 1959; 19: 97—107.
85. Link K.P., Overman R.S., Sullivan W.R., Huebner F., Scheel L.D. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. XI. Hypoprothrombinemia in the rat induced by salicylic acid. //J. Biol. Chem. 1943; 147: 463—74.
86. Link K.P. The anticoagulant dicumarol. //Proceedings of Institute of Medicine Chicago 1945; 15: 370—87.

87. Link K.P. The anticoagulant from spoiled sweet clover hay. //Harvey Lect. 1943 1944; 39: 162—216.
88. Link K.P. The discovery of dicumarol and its sequels. //Circulation 1959; 19: 97—107.
89. Lipsky J.J. Nutritional sources of vitamin K. //Mayo. Clin. Proc. 1994; 69: 462—6.
90. Lu D., Bovili E.G., Long G.L. Molecular mechanism for familial protein C deficiency and thrombosis in Protein Cvemont (Glu20 →Ala, Val34 →Met). //J. Biol. Chem. 1994; 269: 29032—8.
91. Lutomski D.M., Palascak J.E., Bower R.H. Warfarin resistance associated with intravenous lipid administration. //JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr. 1987; 11: 316—18.
92. MacCallum P.K., Thomson J.M., Poller L. Effects of fixed minidose warfarin on coagulation and fibrino-lysis following major gynecological surgery. //Thromb. Haemost. 1990; 64: 511—15.
93. MacFarlane R.G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism and its function as a biological amplifier. //Nature 1964; 202: 498—9.
94. Magnusson S., Sottrup-Jensen L., Petersen T.E., Morris H.R., Dell A. Primary structure of the vitamin K-dependent part of prothrombin. //FEBS Lett 1974; 44: 189.
95. Majer R.V., Chisholm M., Hickton M.C. Replacement therapy for protein C deficiency using fresh frozen plasma. //Br. J. Haematol. 1989; 72: 475.
96. Major Ongoing Stroke Trials. //Stroke 1994; 25: 2112—16.
97. Malhotra O.P., Nesheim M.E., Mann K.G. The kinetics of activation of normal and 7 carboxy glutamic acid deficient prothrombin. //J. Biol. Chem. 1985; 260: 279—87.
98. Malhotra O.P. Atypical prothrombins induced by dicoumarol. //Nature New Biol. 1972; 239: 59—60.
99. Malhotra O.P. Dicoumarol induced prothrombins. //Ann. N. Y. Acad. Sci. 1981; 370: 426—37.
100. McKenna R., Cale E.R., Vasan U. Is warfarin sodium contraindicated in the dictating mother? //J. Pediatr. 1983; 103: 325.
101. Meyer O. Historical data regarding the experiences with coumarin anticoagulants at the University of Wisconsin Medical School. //Circulation 1959; 19: 114—17.
102. Millenson M.M., Bauer K.A., Kistler J.P., Barzegar S., Tulin L., Rosenberg R.D. Monitoring «mini-intensity» anticoagulation with warfarin: comparison of the prothrombin time using a sensitive thromboplas-tin with prothrombin fragment F₁₊₂ levels. //Blood 1992; 79: 2034—8.
103. Mok C.K., Boey J., Wang R., et al. Warfarin versus dipyridamole aspirin and pentoxifylline-aspirin for the prevention of prosthetic heart valve thromboembolism: a prospective clinical trial. //Circulation 1985; 72: 1059—63.
104. Morley J.E., Mooradian A.D., Silver A.J., Heber D., Alfin-Slater R.B. Nutrition in the elderly. //Ann. Intern. Med. 1988; 109: 890—904.

105. Morris G.K., Mitchell J.R. Warfarin sodium in prevention of deep venous thrombosis and pulmonary embolism in patients with fractured neck of femur. // *Lancet* 1976; II: 869 — 72.
106. Motohara K., Endo F., Matsuda I. Effect of vitamin K administration on acarboxy prothrombin (PIVKA-II) levels in newborns. // *Lancet* 1985; 11: 242—4.
107. Mummah-Schendel L., Suttie J.W. Serum phyloquinone concentrations in normal adult population. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1986; 44: 686—9.
108. Mungall D., White R. Aging and warfarin therapy. // *Ann. Intern. Med.* 1992; 117: 878—82.
109. Nelsestuen G.L., Lytkovicz T.H., Howard J.B. The mode of action of vitamin K: identification of gamma-carboxyglutamic acid as a component of prothrombin. // *J. Biol. Chem.* 1974; 249: 6347.
110. Noer B.L., Tortorice K.L., Angaran DM. Evaluation of a computer warfarin dosing program. // *Pharmacotherapy* 1989; 9: 175 (abstract).
111. Olson J.A. Recommended dietary intakes (RDI) of vitamin K in humans. // *Am. J. Clin. Nutr.* 1987; 45:687—92.
112. O'Reilly R.A. Lack of effect of fortified wine ingested during fasting and anticoagulant therapy. // *Arch. Intern. Med.* 1981; 141: 458—9.
113. O'Reilly R.A., Aggeler P.M. Studies on coumarin anticoagulant drugs: initiation of warfarin therapy without a loading dose. // *Circulation* 1968; 38: 169—77.
114. O'Reilly R.A., Motley C.H. Racemic warfarin and trimethoprim-sulfamethoxazole interaction in humans. // *Ann. Intern. Med.* 1979; 91: 34—6.
115. O'Reilly R.A., Rytand D.A. «Resistance» to warfarin due to unrecognized vitamin K supplementation. // *N. Engl. J. Med.* 1980; 303: 160—1.
116. O'Reilly R.A., Sahud M.A., Robinson A.J. Studies on the interaction of warfarin and clofibrate in man. // *Thromb. Diath. Haemorrh.* 1972; 27: 309—18.
117. O'Reilly R.A., Trager W.F., Rettie A.E., Gouliart D.A. Interaction of amiodarone with racemic warfarin and its separated enantiomorphs in humans. // *Clin. Pharmacol. Ther.* 1987; 42: 290—4.
118. O'Reilly R.A. Interaction of sodium warfarin and rifampin. // *Ann. Intern. Med.* 1974; 81: 337—40.
119. O'Reilly R.A. Stereoselective interaction of trimethoprim-sulfamethoxazole with the separated enantiomorphs of racemic warfarin in man. // *N. Engl. J. Med.* 1980; 302: 33—5.
120. O'Reilly R.A. Studies on the optical enantiomorphs of warfarin in man. // *Clin. Pharmacol. Ther.* 1974; 16: 348—54.
121. O'Reilly R.A. The Stereoselective interaction of warfarin and metronidazole in man. // *N. Engl. J. Med.* 1976; 295: 354—7.
122. O'Reilly R.A. Warfarin metabolism and drug-drug interactions. // *Adv. Exp. Med. Biol.* 1987; 214: 205—12.
123. Orme L.E., Lewis M., DeSwiet M., et al. May mothers given warfarin breast-feed their infants? // *B.M.J* 1977; I: 1564—5.
124. Overman R.S., Stahmann M.A., Sullivan W.R., Huebner C.F., Campbell H.A., Link K.P. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. VII. The effect of 3,3'-methylenebis(4-hydroxycoumarin) on the prothrombin time of the plasma of various animals // *J. Biol. Chem.* 1942; 142: 941—55.

125. Owen C.A.Jr., Bollman J.L. Prothrombin conversion factor in dicumarol plasma. //Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948; 67: 367—9.
126. Owen C.A.Jr. Studies on the conversion of prothrombin to thrombin: effect of conversion variations on prothrombin tests. //PhD Thesis, University of Minnesota, January 1950. 392 pp.
127. Owren P.A. Parahemophilia: haemorrhagic diathesis due to absence of a previously unrecognized clotting factor. //Lancet 1947; I: 446—8.
128. Palmer R.N., Kessler C.M., Gralnick H.R. Warfarin anticoagulation. Difficulties in interpretation of the prothrombin time. //Thromb. Res. 1982; 25: 125—30.
129. Parrish D.B., Determination of vitamin K in foods: a review. //CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 1980; 13: 337—52.
130. Pedersen F.M., Hamberg O., Hess K., Ovesen L. The effect of dietary vitamin K on warfarin-induced anticoagulation. //J. Intern. Med. 1991; 229: 517—20.
131. Peters R.H.M., van den Besselaar A.M.H.P., Olthuis F.M.F.G. Determination of mean normal prothrombin time for assessment of INR. //Thromb. Haemost. 1991; 66: 442—5.
132. Petersen P., Boysen G., Godtfredsen J., Andersen E.D., Andersen B. Placebo-controlled, randomized trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complications of chronic atrial fibrillation. //Lancet 1989; I: 175—9.
133. Pineo G.F., Hull R.D. Adverse effects of coumarin anticoagulants. //Drug Saf. 1993; 9: 263—71.
134. Piro L.D., Whyte M.P., Murphy W.A., Birge S.J. Normal cortical bone mass in patients after long term coumadin therapy. //J. Clin. Endocrinol. Metab. 1982; 54: 470—3.
135. Poller L., Taberner D.A., Thomson J.M., Morris J., Mibashan R.S., Shinton K. Effect on the choice of WHO International Reference Preparation for thromboplastin on International Normalized Ratios. //J. Clin. Pathol. 1993; 46: 64—6.
136. Poller L., Taberner D.A. Dosage and control of oral anticoagulants: an international survey. //Br. J. Haematol. 1982; 51: 479—85.
137. Poller L., Thomson J.M., Taberner D.A., Clarke D.K. The correction of coagulometer effects on international normalized ratios: a multicentre evaluation. //Br. J. Haematol. 1994; 85: 112—17.
138. Poller L. A national standard for anticoagulant therapy. //Lancet 1967; I: 491—3.
139. Poller L. The prothrombin time test. In: Jespersen J., Bertina R.M., Haverkate F. eds. ECAT assay procedures. //Utrecht Kluwer, 1992; 41—5.
140. Price P.A., Kaneda Y. Vitamin K counteracts the effect of warfarin in liver but not in bone. //Thromb. Res. 1987; 46: 121—31.
141. Price P.A. Role of vitamin K-dependent proteins in bone metabolism. //Annu. Rev. Nutr. 1988; 8: 565—83.
142. Quick A.J. The coagulation defect in sweet clover disease and in the hemorrhagic chick disease of dietary origin: a consideration of the source of prothrombin. //Am. J. Physiol. 1937; 118: 260—71.

143. Qureshi G.D., Reinders T.P., Swint J.J., Slate M.B. Acquired warfarin resistance and weight-reducing diet. //Arch. Intern. Med. 1981; 141: 507—8.
144. Rajah S.M., Sreeharan N., Joseph A., Watson D.A. A prospective trial of dipyridamole and warfarin in heart valve patients. //Acta. Ther. 1980; 6(Suppl 93): 54 (abstract).
145. Rhodes R.S., Rhodes P.J., Klein C., Sintek C.D. A warfarin-piroxicam drug interaction. //DICP 1985; 19: 556—8.
146. Rieklcs P.R., Edwards R.L. Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's syndrome revisited. //Blood 1983; 62: 14 —31.
147. Rocci M.L., Vlasses P.H., Distlerath L.M. et al. Norfloxacin does not alter warfarin's disposition or anticoagulant effect. //J. Clin. Pharmacol. 1990; 30: 728—32.
148. Roderick L.M. A problem in the coagulation of the blood: «sweet clover disease of cattle». //Am. J. Physiol. 1931; 96: 413—25.
149. Roderick L.M. The pathology of sweet clover disease in cattle. //J. Am. Vet. Med. Assoc. 1929; 74: 314—15.
150. Rosove M.H., Brewer P.M. Antiphospholipid thrombosis: clinical course after the first thrombosis event in 70 patients. //Ann. Inter. Med. 1992; 117: 303—8.
151. Rowe H., Carmichael R., Lemberger L. The effect of fluoxetine on warfarin metabolism in the rat and man. //Life Sci. 1978; 23: 807—12.
152. Sadowski J.A., Hood S.J., Dallal G.E., Garry P.J. Phylloquinone in plasma from elderly and young adults: factors influencing its concentration. //Am. J. Clin. Nutr. 1989; 50: 100—8.
153. Sadowski J.A., Suttie J.W. Mechanism of action of coumarins: significance of vitamin K epoxide. //Biochemistry 1974; 13: 3696.
154. Samama M., Horellou M.H., Soria J., Conard J., Nicolas G. Successful progressive anticoagulation in a severe protein C deficiency and previous skin necrosis at the initiation of oral anticoagulant treatment. //Thromb. Haemost. 1984; 51: 132—3.
155. Schofield F.W. Damaged sweet clover. The cause of a new disease in cattle simulating hemorrhagic septicemia and blackleg. //J. Am. Vet. Med. Assoc. 1924; 64: 553—75.
156. Schulman S., Henriksson K. Interaction of ibuprofen and warfarin on primary haemostasis. //Br. J. Rheumatol. 1989; 28: 46—9.
157. Shah D.V., Suttie J.W. Mechanism of action of vitamin K: evidence for the conversion of a precursor protein to prothrombin in the rat. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1971; 68: 1653.
158. Shapiro S., Redish M.H., Campbell H.A. Prothrombin studies. III. Effect of vitamin K upon hypoprothrombinemia induced by dicumarol in man. //Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1943; 52: 12—15.
159. Shearer M.J. Vitamin K metabolism and nutrition. //Blood. Rev. 1992; 6:92—104.
160. Shulman S., Lockner D., Juhlin-Dannfelt A. The duration of oral anticoagulation after deep vein thrombosis: a randomized study. //Acta. Med. Scand. 1985; 217: 547—52.
161. Singleton J.D., Conyers L. Warfarin and azathioprine: an important drug interaction. //Am. J. Med. 1992; 92: 217 (letter).

162. Siverius J., Riekkinen P.J., Smets P., et al. The European Stroke Prevention Study: results by arterial distribution. //Ann. Neurol. 1991; 29: 596—600.
163. Slein P.D., Kantrowitz A. Antithrombotic therapy in mechanical and biological prosthetic heart valves and saphenous vein bypass grafts. //Chest 1989; 95: 1078—178.
164. Smith M.F., Cameron M.D. Warfarin as teratogen. //Lancet 1979; 1: 727.
165. Smith W.K. Failure of alfalfa to prevent the hemorrhagic sweet clover disease. //Science 1938; 87: 419.
166. Snyder D.S. Interaction between cyclosporine and warfarin. //Ann. Intern. Med. 1988; 108: 311 (letter).
167. Sorano G.G., Biondi G., Conti M., Mameli G., Licheri D., Marongiu F. Controlled vitamin K content diet for improving the management of poorly controlled anti-coagulated patients: a clinical practice proposal. //Haemostasis 1993; 23: 77—82.
168. Stein P.D., Alpert J.S., Copeland J., Dalen J.E., Goldman S., Turpie A.G.O. Antithrombotic therapy in patients with mechanical and biological prosthetic heart valves. //Chest 1992; 102: 4458—S58.
169. Stein P.D., Alpert J.S., Copeland J.G., Dalen J.E., Turpie A.G.G. Antithrombotic therapy in patients with mechanical and bioprosthetic heart valves. //Chest 1995; 108: 3718—98.
170. Stenflo J., Fernlund P., Egan W., Roepstroff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1974; 71: 2730.
171. Stenflo J. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. III. Structural comparison of an NH₂ terminal fragment from normal and from dicumarol-induced bovine prothrombin. //J. Biol. Chem. 1973; 248: 6325.
172. Stevenson R.E., Burton M., Fenlanto G.J. Hazards of oral anticoagulants during pregnancy. //JAMA 1980; 243: 1549—51.
173. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Warfarin versus aspirin for prevention of thromboembolism in atrial fibrillation: stroke prevention in atrial fibrillation II study. //Lancet 1994; 343: 87—91.
174. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Warfarin versus aspirin for prevention of thromboembolism in atrial fibrillation. //Lancet 1994; 343: 687—91.
175. Stults B.M., Dere W.H., Caine T.H. Long-term anti-coagulation: indications and management. //West. J. Med. 1989; 151: 414—29.
176. Sutfin T., Balmer K., Bostrom H., Eriksson S., Hoglund P., Paulsen O. Stereoselective interaction of omeprazole with warfarin in healthy men. //Ther. Drug. Monit. 1989; 11: 176—84.
177. Suttie J.W., Mummah-Schenkel L.L., Shah D.V., Lyle B.J., Greger J.L. Vitamin K deficiency from dietary vitamin K restriction in humans. //Am. J. Clin. Nutr. 1988; 47: 475—80.
178. Suttie J.W. The biochemical basis of warfarin therapy. in: Wessler S., Decker C.G., Memerson Y. eds. The new dimensions of warfarin prophylaxis. //New York: Plenum Press, 1987: 17—46.

179. Thomson J.M., Darby K.V., Poller L. Calibration of BCT/441, the ICSH reference preparation for thromboplastin. //Thromb. Haemost. 1986; 55: 379—82.
180. Thomson J.M., Taberner D.A., Poller L. Automation and prothrombin time: a United Kingdom field study of two widely used coagulometers. //J. Clin. Pathol. 1990; 43: 679—84.
181. Tomita A. Post menopausal osteoporosis 47Ca study with vitamin K2. //Clin. Endocrinol. (Tokyo) 1971; 19: 731—6.
182. Toon S., Hopkins K.J., Garstang F.M., Aarons L., Sedman A., Rowland M. Comparative effects of ranitidine and cimetidine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin in man. //Eur. J. Clin. Pharmacol. 1987; 32: 165—72.
183. Turpie A.G.G., Gunstensen J., Hirsh J. Randomized comparison of two intensities of oral anticoagulant therapy after tissue heart valve replacement. //Lancet 1988; I: 1242—5.
184. Udall J.A. Human sources and absorption of vitamin K in relation to anticoagulation stability. //JAMA 1965; 194: 127—9.
185. Udall J.A. Warfarin interactions with chloral hydrate and gluthethimide. //Curr. Ther. Res. Clin. Exp. 1975; 17: 67—74.

Глава VIII.

Нефракционированный и фракционированный (низкомолекулярный) гепарины

1. История вопроса. Открытие гепарина

Первые данные об антикоагулянтных свойствах препарата, названного позднее гепарином, были получены французским ученым Douon в 1904 году в эксперименте из необработанной «пептонами» печени собак. В 1910—1911 годах Douon опубликовал серию работ. Он определил, что печень при $t = 10-12^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов все еще сохраняла способность продуцировать антикоагулянт при добавлении свежей крови из сонной артерии. Даже при удалении печени и ее замораживании углекислым газом она сохраняла способность продуцировать антикоагулянт после оттаивания. Douon доказал, что и «пептон», с которым он экспериментировал вначале, и атропин, и желчь, и желчные кислоты вызывают выброс антикоагулянта нормальной печенью. Он нашел сходство между эффектом гирудина и печеночного антикоагулянта, однако в отличие от гирудина, печеночный антикоагулянт precipitировался уксусной кислотой.

Гепарин как антикоагулянтная субстанция был открыт в 1916 году в лаборатории известного физиолога Howell студентом Jay Mclean, проводившем опыты на собаках с целью идентификации прокоагулянтных субстанций (фосфолипидов). По иронии судьбы случайно студент медицинского факультета университета Jons Hopkins в Балтиморе вместо прокоагулянтной субстанции выделил субстанцию с антикоагулянтными свойствами. Первое время знаменитый Howell весьма скептически отнесся к случайному открытию, и лишь спустя 2 года он вновь проявил интерес к «загадочной» субстанции и экстрагировал ее из печени собаки, дав ему название «гепарин» от греческого слова «Нераг» — печень. Хотя ученый предполагал наличие терапевтических свойств у гепарина, вначале он его использовал лишь в качестве лабораторного реактива, для предотвращения свертывания крови в пробирке.

В 1930 году Charles Best, с именем которого связано открытие инсулина, разработал метод экстракции гепарина из легких крупного рогатого скота. В это время (в 1935 году) шведский ученый Erick Jorges обнаружил, что в состав гепарина входят, по крайней мере, два углеводных компонента — уроновая кислота и гексозамин в молярном соотношении 1 : 1. Окончательно структура гепарина была открыта L. Roden.

Антикоагулянтные свойства гепарина впервые были подтверждены в клинической практике исследователем из Детройта Masson, который в 1924 году, применив экстракт в дозе 5ЕД/мл у волонтера, получил серьезный побочный эффект: время свертывания, которое до назначения гепарина составляло 10 минут, после инъекции гепарина удлинилось до 30 минут в течение 1 часа и укоротилось до 20 минут часом позже.

В 1939—1941 годах канадский хирург Gordon Murray и его шведский коллега Clarence Clafoord независимо друг от друга провели первое клиническое испытание с целью профилактики послеоперационных тромбозов. Спустя более 20 лет после открытия гепарина во время Второй Мировой войны гепарин использовался для предотвращения тромботических проявлений, хотя препарат был все еще не лишен побочных эффектов.

В течение многих лет, вплоть до середины 70-х годов, гепарин назначался только внутривенно, несмотря на исследование Best в 1950 году, который проповедовал теорию терапии «низкими дозами», соответствующими концентрации гепарина в плазме 0,1 ЕД/мл. Только 20 лет спустя, в начале 70-х годов, исследования института Choay во Франции и британского хирурга V.Kakkar подтвердили подход Best. В то же время в лаборатории Choay была получена кальциевая соль гепарина — кальципарин для подкожного введения.

Весьма важным событием в истории клинического применения кальципарина явились многоцентровые исследования, продемонстрировавшие высокую эффективность подкожного применения кальципарина для профилактики ТГВ и ТЭЛА. Начиная с этого периода, режим подкожного введения низких доз гепарина стал золотым стандартом в профилактике венозного тромбоземболизма во всем мире.

Прогресс в области гемостазиологии, связанный с открытием АТ III как ко-фактора гепарина и описание первых случаев генетически обусловленного дефицита АТ III, а также приобретенных форм дефицита АТ III при ДВС-синдроме позволили глубже понять механизмы антикоагулянтного действия гепарина и разработать принципы более эффективного его использования.

В 1976 году Anderson et al. и в 1979 году Thuonberg et al. идентифицировали молекулярные цепи гепарина с высокой аффинностью к АТ III и соответственно с низкой аффинностью. В этот же период они *in vitro* изучали активность фракционированного гепарина.

Jan Choay в 1981 году был первым, кто смог показать значение открытия фракционированного гепарина в клинической практике. В 1981 году был синтезирован низкомолекулярный гепарин. Благодаря открытию функционально важной последовательности в молекуле гепарина, ответственной за антикоагулянтный эффект — гликозаминогликана, — в 1990-х годах в институте Choay был синтезирован пентасахаридный участок, необходимый для осуществления антикоагуляции через связывание с АТ III.

Первым фракционированным (низкомолекулярным) гепарином, примененным с большим успехом в клинической практике с целью профилактики ТГВ, был фраксипарин (Sanofi, France). В настоящее время синтезированы другие НМГ, получившие большое распространение в клинической практике.

Следующим этапом эволюции гепарина стал синтез пентасахарида-Org 315 (Sanofi, France).

Несмотря на разработку новых антитромботических препаратов, гепарин и его производные остаются пока наиболее широко применяемыми антикоагулянтами и, наряду с оральными антикоагулянтами, представляют на сегодняшний день терапию выбора при ведении тромбозов и сердечно-сосудистых заболеваний. Нефракционированный гепарин (НГ) является основным хирургическим антикоагулянтом, без которого немислимы операции на открытом сердце и ангиопластика. Появление же новых модификаций — низкомолекулярных гепаринов — создало новые возможности в профилактике и лечении тромботических и сердечно-сосудистых нарушений. Более того, гепарин и НМГ до сих пор являются препаратами выбора и в акушерстве, поскольку позволяют обеспечить не только эффективную противотромботическую профилактику, но и предотвратить развитие тяжелых осложнений беременности в большинстве случаев (синдром потери плода, связанный с тромбофилией, ПОНП, гестоз). В то же время одним из определяющих факторов применения гепаринов в акушерстве является отсутствие тератогенного и эмбриотоксического эффектов, поскольку они не проникают через плаценту.

1. Химическая структура

Как уже указывалось, гепарин был открыт в 1916 году Mc Lean при исследовании прокоагулянтного действия фосфолипидов. Поскольку гепарин был изолирован с помощью методов выделения фосфолипидов, первое время считали, что по своей структуре он также является фосфолипидом. Однако структура гепарина

далека от таковой фосфолипидов. В настоящее время известно, что гепарин принадлежит к семейству анионных полисахаридов и представляет собой гликозаминогликан, структурно близкий к дерматанам и хондроитинам, и характеризующийся большими колебаниями молекулярной массы (в среднем 15000), поскольку представляет собой не изолированное химическое соединение, а смесь кислых полисахаридных цепей с молекулярной массой от 4500 до 40000.

Цепи анионных полисахаридов, из которых состоит гепарин, составлены из переменных 1—4 связанных и различно сульфатированных остатков уроновой кислоты и D-глюкозамина. Остатки уроновой кислоты — это либо L-идуриновая кислота, либо D-глюкуроновая кислота. Глюкозаминовые остатки — либо N-сульфатированные, либо N-ацетилированные. Химическая структура гепарина представлена на рисунке 67.

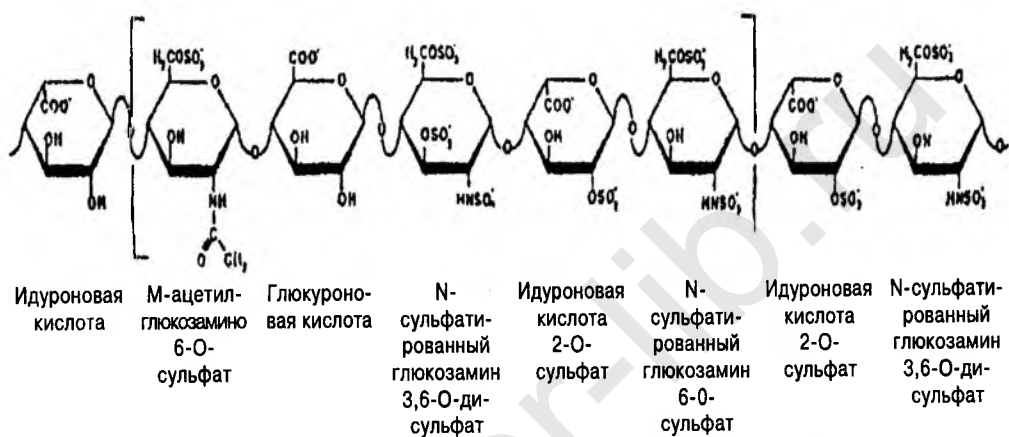


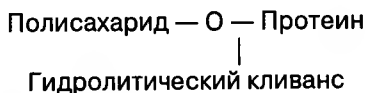
Рис. 67. Молекулярная структура гепарина.

Гепарин входит в состав соединительной ткани и, подобно другим природным гликозаминогликанам, содержится во многих органах (печень, кишечник, легкие, мышцы, стенки артерий). К природным гликозаминогликанам (гликозаминоглюкуронам) относятся:

1. Гепарин
2. Гиалуриновая кислота
3. Хондроитин-сульфаты (А, В, С, D)
4. Гепаритин-сульфат (N-ацетил-гепаран-сульфат)
5. Кератан-сульфат

В организме человека и животных гепарин синтезируется, накапливается и секретируется в тучных клетках (базофильных гранулах). Тучные клетки могут депонировать не только эндогенный гепарин, но и экзогенно вводимый.

В прошлом сложности, связанные с выделением и очисткой гепарина были, в основном, обусловлены тем фактом, что он, как и другие ГАГ млекопитающих в нативном состоянии представлен в форме протеогликана (ковалентно конъюгирован с протеином):



Алкалиновый или энзимный гидролитический кливанс способствует удалению протеиновых участков и образованию гепаринов, используемых в фармакологических целях.

Синтезируясь в тканях как часть высокомолекулярного протеогликана (молекулярная масса от 750 до 1000 кДа), он представлен белковым ядром, содержа-

цим 20—25 остатков глицина и серина, и связанным с 15 полисахаридными цепями с молекулярной массой от 60 до 100 кДа посредством галактозин-гамак-тозин-ксилозин-трисахаридной последовательности.

Биосинтез гепарина многоступенчатый процесс, который включает четыре энзимные модификации полисахаридной основы. I этап подразумевает образование несulfатированного полисахарида, N-ацетилгепаразана, состоящего из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, вслед за чем происходит удаление N-ацетильных групп, которые замещаются N-сульфатными группами. Следующими этапами являются соответственно превращение большей части остатков D-глюкуроновой кислоты в L-идуруновую кислоту и, наконец, O-сульфатирование.

В результате формируется сульфатированный полисахарид линейной структуры, состоящий из гексозамина, индуруновой и глюкуроновой кислот, обладающий антикоагулянтными свойствами (рис. 67). Недавние исследования показали, что элонгация цепи и модификация могут происходить одновременно в процессе синтеза гепарина. Поскольку в процессе модификации не все свободные аминогруппы сульфатируются, это обеспечивает микрогетерогенность гепарина и формирование нефракционированной смеси полисахаридных цепей разной длины с молекулярной массой от 4500 до 40000.

Коммерческие препараты гепарина получают из легких крупного рогатого скота и слизистой кишечника свиней. Однако различные коммерческие гепарины очень отличались друг от друга по антикоагулянтной активности и ряду других свойств (иммуногенность и пр.), поскольку были чрезвычайно гетерогенны по молекулярной массе и химической структуре. Условно были выделены высокомолекулярные гепарины, содержащиеся в основном фракции с молекулярной массой свыше 20000 и с относительно низкой молекулярной массой, содержащей фракции с более низкой массой.

В настоящее время предпочтение отдается гепарину, полученному из слизистой кишечника свиней, поскольку он не содержит большого количества высокомолекулярных фракций в отличие от «обычного» гепарина и соответственно является менее «высокомолекулярным». Однако даже «свиной» гепарин чрезвычайно гетерогенен, и потому возможны различия даже между гепаринами, производимыми одной и той же фирмой, использующей в качестве источника гепарина только слизистую кишечника свиней. Объяснением этому является то, что нефракционированный гепарин — биопрепарат.

Механизм антикоагулянтного действия гепарина

Антитромбин

Гепарин обладает небольшим прямым антикоагулянтным, или антитромботическим, эффектом. В основном, его эффекты опосредуются несколькими протеинами плазмы — серпинами (ингибиторы сериновых протеаз), которые включают антитромбин III, гепарин кофактор II, ингибитор Кунитц типа TFPI (ингибитор внешнего пути свертывания).

В 60-е годы Abildgaard показал, что необходимым кофактором гепарина для проявления его антикоагулянтной активности является антитромбин III.

Антитромбин III — представитель семейства серпинов ($M_r = 58 \text{ kDa}$). Антитромбин III считается первичным ингибитором коагуляции и направлен на большинство протеаз коагуляции, также как и ферменты трипсин, плазмин и калликреин. Ингибция наступает при возникновении стехиометрического комплекса между активным сайтом сериновой протеазы и Arg393-Ser394 связью антитромбина III.

Для эффективной ингибции протеаз антитромбином необходим кофактор — гепарин. Без гепарина уровень ингибции для тромбина и фактора Ха является 1×10^3 и 3×10^3 л/моль/сек, соответственно. В присутствии гепарина эти цифры возрастают до 3×10^7 и 4×10^7 л/моль/сек, соответственно. Связывающий сайт для гепарина расположен на N-терминальном домене молекулы.

Предложено два механизма, согласно которым гепарин катализирует антипротеазное действие антитромбина. Первый — гепарин связывается с антитромбином и вызывает конформационные изменения его активного сайта. Делая, таким образом, антитромбин более реактивным. Второй (шаблонная модель) — гепарин действует каталитически, связывая антитромбин, и сериновую протеазу, таким образом, ограничивая их диффузию. Обе модели могут действовать в зависимости от сериновой протеазы. Спектроскопически определены конформационные изменения антитромбина при связывании с гепарином. Более того, способность пентасахаридной области гепарина содействовать антитромбин-опосредуемой ингибции фактора Ха подтверждает данную модель, а угнетение тромбина лучше объясняет шаблонная модель. Конформационные изменения, вызванные присоединением гепарина, не нарушают реактивность антитромбина относительно тромбина. Кроме того, пентасахариды гепарина не способствуют угнетению тромбина. Для этой цели скорее необходимы цепи более чем с 18 сахарадами. Для ингибции гепарин должен связываться и с тромбином, и с антитромбином, на что указывают кинетические исследования, хотя еще не ясно, важен ли порядок присоединения. Гепарин также опосредует ингибцию других факторов (IXa, VIIa, XIa) антитромбином, но в меньшей степени, чем фактора Ха и тромбина.

Гепариновый кофактор II (HC II)

HC II ($M_r = 62-72$ Kda) подобен антитромбину в том, что активируется гликозаминогликановым связыванием. Существование этого второго ингибитора и кофактора гепарина впервые показал в 1974 году Briginshaw. Если антитромбин обладает выраженной антитромбиновой активностью, а также угнетает фактор Ха, то второй кофактор проявляет меньшую антитромбиновую активность и не угнетает фактор Ха.

Как и антитромбин, гепариновый кофактор II ингибирует протеазы, образуя 1:1 стехиометрический комплекс с энзимом. Протеаза атакует реактивный сайт гепаринового кофактора II, расположенный на С-конце молекулы, образуя ковалентную связь. Гепариновый кофактор II имеет большую протеазную специфичность, чем антитромбин.

Как и в случае антитромбина, ингибция осуществляется посредством гликозаминогликанового связывания. В то время как активация антитромбина зависит от наличия специфической последовательности в цепи гепарина, гепариновый кофактор II может активироваться множеством различных агентов. Гепарины, гепараны и дерматан сульфат — все способствуют ингибции тромбина через гепариновый кофактор II, в то время как относительно низко сульфатированные вещества, как хондроитин 4-О или 6-О сульфат, или гиалуриновая кислота, не активируют гепариновый кофактор II. Гепаран-сульфат, содержащий 0,97 сульфатов на дисахарид является лучшим активатором гепаринового кофактора II, по сравнению с гепаран-сульфатом, содержащим 0,67 сульфатов на дисахарид. Сульфатированные синтетические вещества также способны активировать гепариновый кофактор II. Его активирует как пентозанполисульфат, так и декстран-сульфат.

Ингибитор внешнего пути свертывания (TFPI)

TFPI — один из ингибиторов протеаз, мощный эндогенный антикоагулянт, также известен как липопротеин-ассоциированный коагуляционный ингибитор (LACI) или ингибитор пути тканевого фактора. Этот ингибитор (42 Kda) содержит три Кунитц-домена, tandemно связанных между аминоконцом и карбоксиконцом молекулы. TFPI угнетает коагуляцию, связывая комплексы фVIIa/TF/Ха и непосредственно комплекс фVIIa/TF и фХа (рис. 68).

В нормальной сосудистой ткани TFPI вырабатывается мегакариоцитами и эндотелием. Выделившись, он накапливается в трех пулах: плазме, тромбоцитах и эндотелии. Самый большой пул TFPI связан с поверхностью эндотелия, он содержит 50—90% всего внутрисосудистого TFPI.

Количество TFPI в плазме после приема гепарина зависит от концентрации гепарина. Уровень TFPI после назначения гепарина или НМГ возрастает в 2—10

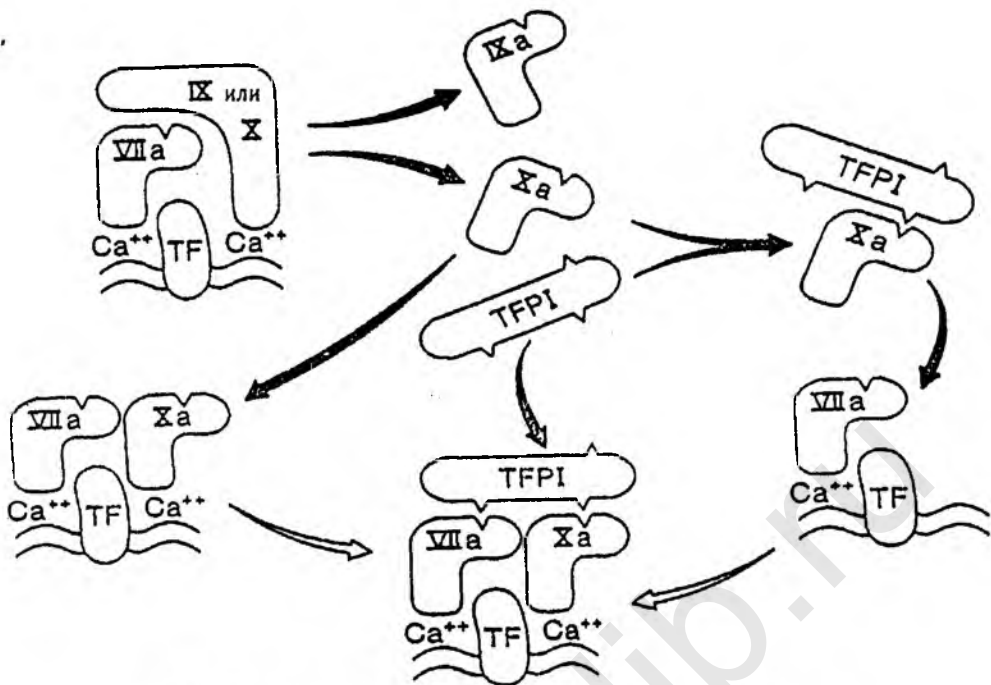


Рис. 68. Механизмы антикоагулянтного действия TPPI.

раз от базального уровня. НМГ в значительно большей степени способствуют высвобождению TFPI. Нейтрализация гепарина протамин-сульфатом или протамин-хлоридом вызывает сильное падение уровня TFPI в плазме.

Фармакокинетика гепарина

Гепарин назначается внутривенно и подкожно. При попадании в кровоток гепарин связывается с белками плазмы, таким образом, снижая их биодоступность и вызывая различные антикоагулянтные эффекты. В число этих протеинов входят гистиidinовый гликопротеин, тромбоцитарный фактор 4, витронектин и фактор фон Виллебранда. Существует два механизма выведения гепарина из организма: 1. быстрая фаза элиминации — рецепторно-опосредованная интернализация гепарина эндотелиальными клетками и макрофагами (клеточная сатурация); 2. медленный механизм — почечный. Между антикоагулянтным эффектом гепарина и дозой нет прямой корреляции. Биологический период полужизни гепарина возрастает от 30 минут после внутривенной инъекции 25 Ед/кг до 150 минут при введении 400 Ед/кг. Биодоступность при подкожном введении ограничена размером молекулы и обычно составляет 20—30%.

Таким образом, количество вводимого гепарина лишь приблизительно определяет его биологический эффект. Этот аспект фармакокинетики гепарина породил в 70-е годы два понятия: химическую гепаринемию и биологическую гепаринемию. Химическая гепаринемия подразумевает концентрацию молекул гепарина в крови, зависящую от объема циркулирующей крови (тромбоциты, эритроциты, лейкоциты), почечной элиминации.

Биологическая гепаринемия подразумевает только ту концентрацию гепарина в крови, которая непосредственно обеспечивает антикоагулянтный эффект, то есть способность молекул гепарина нейтрализовать тромбогенные факторы, что зависит от содержания АТ III и других естественных кофакторов гепарина, фибриногена, температуры, pH и пр.

Следует отметить, что даже в больших дозах гепарин не оказывает угнетающего влияния на основные гомеостатические системы организма: периферическое и коронарное кровоснабжение, дыхание, функцию почек, химические компоненты крови. При введении в организм натриевой соли гепарина последний соединяется с ионами кальция, поэтому появление кальциевой соли гепарина во многом способствовало избавлению от неблагоприятных эффектов декальцинирования.

При продолжительной гепаринотерапии следует помнить о двух моментах: во-первых, в процессе лечения происходит нормализация липидного обмена организма с исчезновением из кровотока тромбогенных липидов — важного фактора тромбофилии; во-вторых, происходит постепенное снижение активности антитромбина III, это вызывает угрозу гиперкоагуляции во время лечения, что диктует необходимость биологического контроля дозы и ее коррекции спустя 3—4 дня после начала лечения гепарином.

Время полураспада гепарина не является постоянным — оно зависит от вводимой дозы препарата. При внутривенном введении гепарината натрия период полураспада составляет 60—90 минут. Через 3—5 часов доза введенного гепарина полностью утилизируется. Большую роль в этом играет фермент гепариназа, находящийся в печени и почках. Около 20% начальной дозы гепарина выделяется с мочой. Необходимо также учитывать, что частично гепарин элиминируется из плазмы путем связывания с рецепторами эндотелиальных клеток и макрофагов. После чего гепарин интернализируется в виде комплекса гепарин-рецептор внутрь цитоплазмы этих клеток, где и расщепляется. Этот процесс ускоряется в острых клинических ситуациях, таких как фебрильная лихорадка, острый тромбоз и пр.

Другие факторы, воздействующие на активность гепарина в плазме:

1. Доза
2. Путь введения: внутривенно или подкожно
3. Источник ткани: слизистая оболочка или легкие
4. Соль: натрий или кальций
5. Молекулярный вес фракции: высокий или низкий
6. Уровень циркулирующего в крови тромбоцитарного фактора 4 (PF4)
7. Метаболический ацидоз
8. Гипер-/ гипотиреоидные состояния
9. Почечная недостаточность
10. Пожилой возраст
11. Гемодиализ
12. Лихорадка.

Следует отметить, что гепарин не проникает через плаценту и не секретируется в грудное молоко; кроме того, частота геморрагических осложнений во время беременности не отличается от таковой у небеременных. Однако гепарин, как и любой другой антитромботический препарат, требует адекватного дозирования и терапевтического мониторинга.

Согласно последним данным экспериментальных исследований, время полувыведения гепарина у пожилых удлиняется.

Время полувыведения гепарина у пациентов с почечной недостаточностью также удлинено, что требует применения более низких доз; кроме того, отмечается и небольшое удлинение времени полувыведения у пациентов при гемодиализе.

Время полувыведения гепарина минимально удлинено у пациентов с заболеваниями печени, поскольку, в основном, в выведении гепарина принимает участие ретикулоэндотелиальная система.

Наиболее серьезной проблемой, связанной с применением гепарина, являются кровотечения. Часто они связаны с одновременным назначением других противотромботических препаратов или препаратов, не относящихся к противотромботическим, но обладающих потенцирующим эффектом.

Несмотря на широкое применение гепарина и, учитывая, что гепарин обладает способностью вытеснять другие препараты из их соединений с альбумином и другими протеинами плазмы, существует немного наблюдений эффектов взаимодействия гепарина с другими препаратами. Наиболее часто отмечается взаимодействие с нитроглицерином, поскольку оба препарата используются вместе при остром коронарном синдроме. Хотя в мировой литературе встречаются противоречивые сообщения о влиянии нитроглицерина на эффект гепарина (от полного отрицания взаимодействия до утверждения о наличии достоверной связи между приемом нитроглицерина и снижении антикоагулянтного эффекта гепарина), последние исследования все же свидетельствуют о взаимодействии этих лекарственных средств. Отмечается значительное снижение АЧТВ-отношения и уровня гепарина в плазме на фоне неизмененных уровней

АТ III и PF4 у пациентов, получающих гепарин, что свидетельствует о том, что нитраты, скорее всего, увеличивают клиренс гепарина. Тем не менее, данный эффект не столь значителен, и доза гепарина может корректироваться с помощью контроля АЧТВ.

К другим препаратам, которые могут снижать антикоагулянтную активность гепарина, относятся антигистамины, препараты наперстянки и другие препараты, обладающие схожим эффектом, а также тетрациклины.

К препаратам, потенцирующим антикоагулянтный эффект гепарина, относятся стрептомицин, полимицин В и М, мономицин, гентамицин, эритромицин, фенилбутазон, индометацин, сульфипиразон, клофибрат, ЭДГА, никотин, пенициллин, хинин и тироксин (табл. 46).

Таблица 46.

Взаимодействие гепарина с лекарствами.

Препараты, снижающие антикоагулянтный эффект гепарина	Препараты, потенцирующие антикоагулянтный эффект гепарина
Нитроглицерин	Другие антикоагулянты
Антигистамины	Фибринолитики
Препараты наперстянки	Антитромбоцитарные препараты
Тетрациклин	Стрептомицин
	Полимицин В
	Полимицин М
	Мономицин
	Гентамицин
	Эритромицин
	Фенилбутазон
	Гендометацин
	Сульфипиразон
	Клофибрат
	ЭДГА
	Никотин
	Пенициллин
	Хинин
	Тироксин

Клиническое применение гепарина

Гепарин по-прежнему остается наиболее универсальным парентеральным антикоагулянтом и в ряде случаев препаратом выбора в процессе профилактики и

лечения венозного и артериального тромбоэмболизма и ряда заболеваний. Популярность его во многом объясняется хорошим антикоагулянтным, противотромботическим и некоторым антитромбоцитарным эффектом, быстрым началом действия при внутривенном введении, возможностью управлять дозой и сравнительно простым методом контроля.

Однако, притом, что гепарин имеет широкие показания, прежде чем перейти к изложению показаний к его применению, следует отметить, что игнорирование противопоказаний может не только дискредитировать гепаринотерапию, но и иметь тяжёлые последствия.

Противопоказанием к гепаринотерапии являются аллергия к препарату, эпизоды ГИТ II в анамнезе, а также наследственные и приобретенные дефекты гемостаза, предрасполагающие к геморрагиям (гемофилии, тромбоцитопении, тромбоцитопатии, гипофибриногемия, гипотромбинемия и пр.), при которых минимальная гепаринемия может спровоцировать опасные для жизни кровотечения или, редко, тромбозы и тромбоэмболии (в случае наличия гепарин-зависимых антител и/или ГИТ II в анамнезе). При этом следует учитывать, что гипотромбинемия, вызванная назначением антагонистов витамина К, является лишь временным противопоказанием к гепаринотерапии — на период действия оральных антикоагулянтов. То же касается протеолиза факторов коагуляции при тромболитической терапии.

В клинических условиях гепарин в основном применяют: 1. в низкой дозировке в виде подкожных инъекций для профилактики венозного тромбоза; 2. внутривенно в стандартной дозе для лечения клинической тромбоэмболии и 3. в качестве общего антикоагулянта для поддержания текучести крови в условиях искусственного кровообращения при коронарной ангиопластике и пр. Гепарин также применяется при лечении нестабильной стенокардии, острого инфаркта миокарда, и, что чрезвычайно важно, является антикоагулянтом выбора при беременности, поскольку не проходит через плаценту и не оказывает тератогенного эффекта на плод, однако может увеличивать риск кровотечений у матери. Важно провести разграничение между целями терапевтического назначения гепарина. В тех случаях, когда гепарин используется для профилактических целей, образование тромбина ограничивается выраженным повышением активности АТ III под действием гепарина. Действие комплекса гепарин-АТ III при подавлении сериновых протеаз на ранних этапах коагуляционного каскада, возможно, является более важным с точки зрения профилактики, чем способность АТ III нейтрализовать непосредственно тромбин, хотя бы потому, что они потенциально более тромбогенны, чем сам тромбин. Однако в случаях тромбоза появляется дополнительная потребность нейтрализации уже образовавшегося тромбина.

Таким образом, применение малых (профилактических) доз гепарина, то есть доз не превышающих 15 000 ЕД в сутки, преследует цель нейтрализовать образующийся в избыточных количествах активированный фактор X, чтобы предупредить образование тромбина, вызывающего выраженную гиперкоагуляцию. Показанием для применения малых доз гепарина являются состояния, когда следует ожидать повышенного образования тромбина. Этот режим показано применять при профилактике тромбозов, при плановой операции кесарева сечения, особенно при осложненном течении беременности, начальных формах послеродового эндометрита и при беременности у женщин, имевших эпизоды тромбозов и тромбоэмболий в анамнезе. В этих случаях гепарин вводится подкожно тонкой иглой в переднюю брюшную стенку по 5000 ЕД с интервалом в 8—12 часов (мы применяем и рекомендуем режим 3-разового применения).

Применение малых доз гепарина, не сопровождаясь увеличением частоты геморрагических осложнений, обеспечивает надёжный противотромботический эффект. В широкой мировой практике малые дозы гепарина применяются без специального лабораторного контроля, поскольку не вызывают выраженной гипокоагуляции и не удлиняют АЧТВ. Однако следует отметить, что даже примене-

ние профилактических доз гепарина может осложниться кровотечением, если не учитывать возможное потенцирование антикоагулянтного эффекта другими одновременно применяемыми лекарственными средствами. Так, следует избегать одновременного применения больших доз гепарина и декстранов, а также антиагрегантов и оральных антикоагулянтов. Исключением является переход с малых доз гепарина на оральные антикоагулянты.

Являясь составной частью инфузионной терапии, декстраны оказывают благоприятное влияние на систему микроциркуляции. На систему гемокоагуляции декстраны оказывают многоплановое действие. Следует помнить, что эти препараты снижают структурную свертываемость, что часто приводит к формированию рыхлого сгустка неправильной структуры, легко поддающегося лизису плазмином. Поэтому сочетание гепарина с декстраном требует от врача мер, предупреждающих геморрагические осложнения, в процессе сочетанной терапии. К таким мерам относятся: во-первых, уменьшение количества вводимого гепарина и декстранов; во-вторых, контроль сочетанной терапии должен включать и оценку структурного аспекта коагуляции (с помощью тромбозластографии).

При выраженном метаболическом ацидозе эффект гепарина снижается, поэтому предшествующая коррекция этого состояния является непременным условием последующей гепаринотерапии. Введение ощелачивающих растворов должно предшествовать назначению гепарина.

Гепаринотерапию желательно проводить одновременно с инфузией глюкозы. За это сочетание говорит анализ следующих теоретических положений:

1. Гепаринотерапия часто показана больным, находящимся в состоянии стресса, у которых в связи с этим отмечается повышение неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК) плазмы крови, как за счет действия гепарина, так и в результате стрессового состояния.
2. Тромбогенность фактора Ха значительно возрастает при гиперлипидемии.
3. Инфузия глюкозы снижает градиент НЭЖК и способствует их быстрой утилизации: прокоагулянтное действие НЭЖК общеизвестно.

При резком снижении антитромбина III лечебный эффект гепарина не проявляется: при этом переливание свежезамороженной плазмы или концентрата АТ III увеличивает эффективность гепаринотерапии.

Назначение лечебных доз гепарина требует обязательного контроля дозы. Выбор метода контроля дозы зависит от режима терапии, который подразумевает дозу препарата и метод введения.

Длительная терапия фармакологически активными дозами гепарина (20 000—80 000 ЕД в сутки) проводится с помощью постоянной внутривенной инфузии, прерывистым внутривенным введением (интервал 2—4 часа) и подкожным прерывистым введением (интервал 4—6 часов).

Об успешном применении гепарина в лечении венозных тромбозов и ТЭЛА отмечал еще в 1939 году Jorpes. По сей день гепарин остается препаратом первого выбора при этих состояниях: он эффективно предотвращает как рецидив тромбоза, так и эмболизацию.

При венозном тромбозе показана начальная терапия гепарином внутривенно, по крайней мере, в течение 5 дней, при этом подразумевается, что ОАК назначаются одновременно с гепарином, и по достижении терапевтических значений МНО гепарин отменяется. Однако предпочтительнее после ударной внутривенной терапии гепарином переход на подкожный путь его введения, после чего, если причина тромбофилии сохраняется (АФС, генетические дефекты гемостаза и пр.) и необходима длительная антикоагулянтная профилактика, назначается варфарин.

В то же время при лечении ТЭЛА подкожный путь введения гепарина не может быть рекомендован, поскольку необходима длительная внутривенная инфузия и постоянный мониторинг АЧТВ с коррекцией дозы в зависимости от результатов АЧТВ. Необходимость внутривенной инфузии объясняется еще и тем, что при суб-

массивной или массивной терапии необходима и альтернативная терапия фибринолитиками, а потому доза гепарина должна легко управляться.

На сегодняшний день основной задачей современного клинического ведения пациентов с высоким риском тромботических осложнений является их профилактика. Многочисленные исследования подтверждают эффективность профилактики венозного тромбоза гепарином.

Однако что касается профилактики у пациентов после хирургических операций на костях малого таза или артропластики нижних конечностей, эффективность гепарина ниже. Согласно обобщенным последним данным мировой литературы, эффективность НМГ в таких ситуациях выше.

Таким образом, низкие (профилактические) дозы подкожно вводимого гепарина эффективны для профилактики ТГВ, однако в группах высокого риска предпочтительнее применение НМГ. В настоящее время гепарин широко стал использоваться при остром коронарном синдроме. Гепарин назначается внутривенно в антикоагулянтных дозах при лечении нестабильной стенокардии и ишемии на 50% сердечной мышцы. Хотя эффективность включения аспирина в терапию острого коронарного синдрома не доказано, тем не менее, аспирин в меньшей степени способствует развитию ребаунд-ишемии, чем гепарин при его отмене.

Продолжительная внутривенная инфузия гепарина при этом предпочтительнее, чем прерывистый режим инфузии, поскольку последний менее эффективен.

При остром инфаркте миокарда роль гепарина менее изучена. Как правило, всем пациентам назначается подкожно гепарин в дозах, которые обычно используются для профилактики венозных тромбозов, в течение 7 дней. Возможно, более высокие дозы гепарина могут значительно уменьшать образование muralных тромбов у пациентов с трансмуральным инфарктом миокарда. Пролонгированное применение гепарина подкожно у постинфарктных пациентов способствует снижению почти на 60% тромботических проявлений в течение первого месяца.

Роль гепарина как дополнительной терапии к тромболитической также весьма интересна. Обычно используемые тромболитические режимы достигают цели у 60—80% пациентов через 90 минут. Однако только у половины восстанавливается нормальный кровоток, а реокклюзия развивается у 10%. Тромбин играет центральную роль в реокклюзии, поэтому понятно, что гепарин должен предотвращать или, по крайней мере, снижать частоту реокклюзии. Гепарин обычно назначается после тромболитиков. Оптимальная продолжительность терапии гепарином после тромболитика, тем не менее, еще не определена.

Однако необходимость профилактики гепарином у пациентов с инфарктом миокарда не вызывает сомнений.

Применение гепарина у онкологических больных — отдельный, большой вопрос. То, что злокачественные новообразования повышают риск развития тромбозов и тромбоземболий, известно достаточно давно.

После первых наблюдений А.Труссо в 1865 году появилось множество исследований, посвященных взаимоотношениям между раком и тромбозом. В настоящее время уже не вызывает сомнений, что у больных онкологическими заболеваниями тромбозы и тромбоземболии возникают значительно чаще, о чем свидетельствуют современные многоцентровые исследования. Риск ранних тромбоземболий при этом в несколько раз выше, чем у здоровых и достигает 35%. Нарушения в системе свертывания крови — основное осложнение при злокачественных новообразованиях. Согласно обобщенным данным мировой литературы, у 15% таких пациентов имеют место либо тромботические, либо геморрагические осложнения и у 30% — нарушения коагуляции протекают клинически бессимптомно. Клинические проявления нарушений в системе свертывания крови — синдром Труссо, ДВС, небактериальный тромботический эндокардит, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура и пр. — могут как осложнять течение известного опухолевого процесса, так и быть первыми симптомами рака.

Еще в 1865 году А.Труссо писал, что мигрирующие тромбофлебиты и флeбoтpомбoзы можно считать первыми симптомами скрыто протекающего и не выявленного роста злокачественной опухоли, на много месяцев опережающими клинические проявления новообразования, причем течение тромбофлебита в этих случаях имеет ряд особенностей — процесс склонен к мигрированию, протекает со слабо выраженной воспалительной реакцией, эффект от применения антикоагулянтов невелик, часты эмболии. Труссо описывал гиперкоагуляцию при раке как возвратный тромбоз поверхностных вен, обычно поражающий верхние конечности. Далее в синдром был включен тромбоз как поверхностных, так и глубоких вен всех сосудов, включая верхнюю и нижнюю полую вены, яремную, подмышечную, бедренную вены и дорсальные вены пениса. Сгустки в поверхностных венах могут сочетаться с тромбозами глубоких вен (ТГВ) и приводить к ЛЭ (легочная эмболия). Тромбоземболии встречаются у 7—9% госпитализированных раковых больных; при аутопсии частота тромбозов и тромбоземболий достигает 28%. Характерно, что связанные с раком тромбозы и тромбоземболии *in situ* хуже поддаются терапии гепарином, чем тромбозы другой локализации. Как выше указывалось, возвратные или упорные тромбозы у пациентов, не знающих о наличии опухоли, могут быть проявлением оккультной опухоли. Prandoni et al. исследовал 250 пациентов с первым проявлением ТГВ нижних конечностей в проспективном исследовании сочетания тромбоза вен и рака. Пациенты разделились по наличию и отсутствию факторов, предрасполагающих к тромбозу (травма нижних конечностей, длительная иммобилизация, дефицит антитромбина III). Частота малигнизации у пациентов без предрасполагающих факторов была 10,5% по сравнению с 1,9% в другой группе. У всех пациентов с оккультными опухолями был поставлен диагноз в течение двух лет после тромбоза, большинство из них (11/15) диагностировано в течение 6 месяцев после проявления ТГВ. Схожие данные у Letai и Martin, которые независимо обнаружили частоту рака у 23% в течение 2 лет после проявления ТГВ.

Самыми частыми неоплазиями у пациентов с ТГВ являются аденокарциномы поджелудочной железы, простаты, желудка, яичников, кишечника. Миелоидные опухоли (чаще острый промиелоцитный лейкоз) встречаются у 9% пациентов с синдромом Труссо. Из вышеуказанного следует, что все больные с идиопатическим ТГВ должны пройти обязательный скрининг на оккультную малигнизацию.

ТГВ при раке половых органов имеет множественный генез. Помимо немолодого возраста пациенток и наличия сопутствующих заболеваний, предрасполагающих к тромбозам, таких как ожирение, гипертензия, метаболические и сердечно-сосудистые заболевания и другие, сама терапия может быть независимым фактором риска ТГВ. Радикальные операции по поводу генитального рака осложняются ТГВ от 6% при раке яичников до 20% при раке шейки матки или эндометрия. Частота ТГВ после операций по поводу рака молочной железы не превышает 3%, пациентки с раком молочной железы имеют частоту ТГВ от 0 до 3,28% по сравнению с общей частотой возникновения ТГВ в год у женщин около 0,3%. Частота ТГВ при радиотерапии особенно во время применения внутриматочного/вагинального радия в течение 12—24 часов, при раке матки составляет от 2,5 до 6,8%. В недавнем посмертном исследовании 966 аутопсий погибших от тромбоза и/или легочной эмболии (ЛЭ) в 56% обнаружен рак. Рак молочной железы (5,7%) и рак шейки матки (2,4%) были в числе первых четырех наиболее частых типов рака и были значительно более репрезентативны по сравнению с контрольной группой 325 аутопсий без ТГВ (3,1% и 0,6%; $p < 0,05\%$).

Несомненно, в основе патогенеза нарушений системы гемостаза при злокачественных опухолях лежит активация как коагуляционного, так и сосудисто-тромбоцитарного и фибринолитического звеньев, что обеспечивается:

1. нарушением структурной целостности и функциональной стабильности сосудистого эндотелия опухолевыми клетками и цитокинами;

2. активацией тромбоцитов опухолевыми клетками, приводящей к их повышенной адгезии и агрегации;
3. синтезом прокоагулянтов и ингибиторов фибринолиза опухолевыми клетками;
4. прокоагулянтной активностью опухоли-ассоциированных макрофагов и активированных моноцитов периферической крови.

Клинически это может выражаться окклюзией сосудов и/или геморрагическим синдромом.

С другой стороны, существует концепция, согласно которой пролиферация раковых клеток на месте и метастазирование тесно связаны и зависят от механизма гемостаза. *In situ* опухоли выделяют факторы, которые повышают проницаемость сосудов для белков плазмы и опосредуют внутрисосудистое образование фибрина. Очевидно, что при развитии стромы опухоли как у животных, так и у человека, происходит FVII—зависимое образование фибрина. Эти же клетки у животных вызывают активацию свертывания и агрегацию тромбоцитов.

Хотя существует мнение, что тромбоциты имеют ограниченное влияние на процессы локального роста солидной опухоли, они играют важную роль в гематогенном метастазировании опухоли. Опухолевые клетки способны вызвать агрегацию тромбоцитов, в частности, Кваап и Кеер указывают на роль тромбоцитов с их факторами роста и ингибиторами фибринолиза в росте опухоли и ее метастазировании. Тромбоциты защищают опухолевые клетки от разрушения, пока они не достигнут места метастазирования. В условиях эксперимента показано образование опухолево-тромбоцитарных эмболов в микрососудистом русле. Диссеминация метастазов, по крайней мере, частично может быть опосредована взаимодействием микроэмболов с нормальным и поврежденным эндотелием в микрососудах.

Участие элементов гемостаза в росте и метастазировании опухоли подтверждено исследованиями эффектов антикоагулянтной и антитромботической терапии на рост опухоли. На различных моделях у животных показана задержка роста и метастазирования опухоли при приеме варфарина, гепарина и простаглицина. Однако до сих пор не ясно, является ли данный эффект следствием их антикоагулянтного действия либо каких-то других биохимических влияний.

Что касается человека, то об этих механизмах можно говорить лишь предположительно. Все зависит от особенности опухоли, состояния и особенностей организма, стадии заболевания и т.д.

Из-за экстраординарных сложных взаимодействий между злокачественными клетками и системой коагуляции не удивительно, что попытки повлиять на прогрессирование опухоли человека с помощью фармакологического воздействия на систему гемостаза имеют смешанные результаты. Хотя некоторые положительные эффекты на выживаемость и прогрессию опухоли описаны у пациентов, получавших терапию варфарином при небольших клеточных карциномах легких, при раке кишечника, при остеосарциноме, другие исследования по варфарину были безуспешными. На сегодняшний день этот вопрос остается открытым для дальнейших исследований.

Тромбофилия, свойственная онкологическим пациентам, имеет сложный патогенез.

Помимо тромбоцитов, макрофаги и моноциты также вносят свой вклад в активацию свертывания крови, обладая прокоагулянтной активностью (рис. 69).

Мононуклеарные фагоциты лимфоретикулярного инфильтрата опухолей могут влиять на гемостаз путем выработки веществ с прокоагулянтной активностью в ответ на различные воздействия, при этом экспрессируемый уровень прокоагулянтной активности существенно выше, чем у периферических мононуклеарных фагоцитов. В частности, при раке активированные моноциты продуцируют тканевый фактор, частично активированный фактор VII, факторы X, IX, II, запуская, таким образом, один из альтернативных путей активации процесса свертывания крови. Особенно велико значение гемокоагуляции

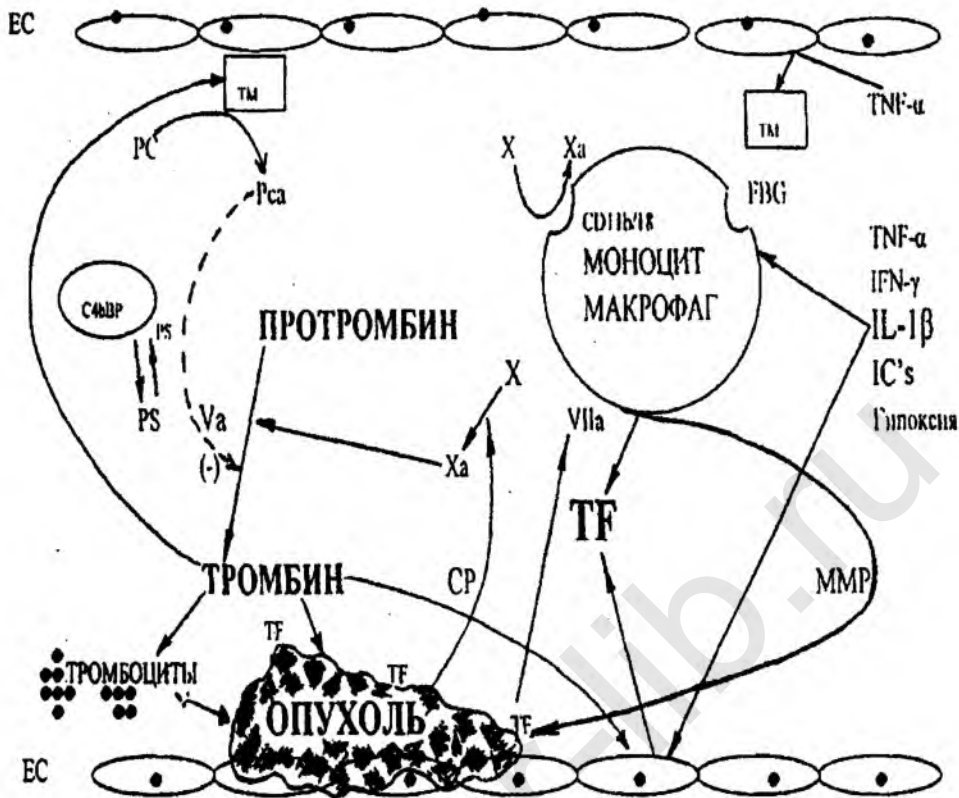


Рис. 69.

Эндотелиальные клетки (ЕС) и моноциты/макрофаги подвергаются стимуляции факторами некроза опухоли (TNF- α), интерфероном (INF- γ), интерлейкином (IL-1 β), иммунными комплексами (IC), или гипоксией, следствием чего является выброс тканевого фактора (TF). Тканевой фактор, в свою очередь ведет к генерации тромбина, активирующего протеин С (РСa) в присутствии тромбомодулина. Стимуляция тромбином тромбоцитов и опухолевых клеток, приводит к их связыванию между собой. Опухолевые клетки способны самостоятельно генерировать тканевой фактор и опухоле-ассоциированную цистеиновую протеазу (СР), которые активируют X фактор независимо от TF и фактора VIIa. Прокоагулянтная функция моноцитов заключается в интеграции CD11b/18, активирующего 10 фактор и связывающего фибриноген (FBG). Активированные моноциты секретируют матричную металлопротеиназу (MMP), которая нарушает субэндотелиальный матрикс и способствует инвазии опухоли. Фактор некроза опухоли опосредует высвобождение тромбомодулина, снижая т.о. активацию протеина С. Антикоагулянтное действие протеина С на Va так же ингибируется секвестрацией его кофактора, протеина S (PS) C4b-связывающим протеином (C4bBP-белок острой фазы, концентрация которого увеличивается при злокачественных процессах и воспалении) (по Kenneth B. с изменениями).

моноклеарного генеза в тканях, где они формируют клеточно-фибриновый вал вокруг очагов воспаления, деструкции или опухолевого роста, что делает указанный барьер менее проницаемым для микроорганизмов и токсинов. Второй такой барьер формируется уже в результате ДВС и блокады микроциркуляции в пораженном участке (локальный ДВС-синдром). Таким образом, злокачественная опухоль, являясь, с одной стороны, источником гиперпродукции тромбопластических веществ, «запускает» ДВС-синдром, а с другой, способствует оседанию «окутанных» фибрином опухолевых клеток в микроциркуляторном русле и возникновению метастазов. И хотя механизмы активации проко-

агулянтных свойств макрофагов не до конца изучены, их влияние на свертывающую систему крови больных злокачественными новообразованиями несомненно.

Сосудистый эндотелий активно регулирует тромбообразование путем секреции и экспрессии ТФ, простагландинов, тромбоцитактивирующего фактора, PAF, фактора фон Виллебранда (ФВ), оксида азота (NO), тромбомодулина, тромбоспондина, ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) и эндотелина (ET). На баланс прокоагулянтной и антикоагулянтной активности влияет тромбин, TNF- α , IL-1 β , INF, концентрации которых увеличиваются у пациентов с раком. Тромбин повышает секрецию прокоагулянтных молекул PAF, ТФ и ФВ, в то же время он индуцирует и синтез антикоагулянтов PGI₂ и активированного протеина С. TNF- α увеличивает экспрессию Е-селектина и межклеточной адгезивной молекулы-1, приводя к усилению адгезии лейкоцитов и ускорению генерации моноцитного ТФ. Кроме того, TNF- α и IL-1 β увеличивают экспрессию ТФ на альбуминной поверхности эндотелиальных клеток, повышают высвобождение тромбомодулина и PAI в плазме крови (снижая функцию этих протеинов на поверхности эндотелиоцитов) и вызывают секрецию PAF. Однако, эти же цитокины индуцируют и синтез антитромботического простагландина PGI₂. Наличие других цитокинов, включая IL-4, может ингибировать эффект TNF- α на ТФ и PAI.

На уровне вазоспастического агента (ET) или вазодилаторного агента (NO) могут воздействовать те же медиаторы. Примечательно, что высокий уровень в плазме ET1 обнаружен у пациентов с ДВС и раком. Предполагается, что этот пептид может вызывать вазоспазм и агравировать ДВС, способствуя образованию внутрисосудистых микротромбов, фактически, приводя к ишемической дисфункции органа. Является ли повышение уровня ET1 причиной ДВС, индуцированного раком, или следствием эндотелиального повреждения не известно. Все это предполагает, что существует весьма сложный регуляторный механизм, который модулирует тромбогенные действия цитокинов и тромбина на уровне эндотелия.

Gordon впервые описал прокоагулянтную активность экстрактов различных солидных опухолей. Эти экстракты ускоряли свертывание плазмы и функционировали независимо от факторов VII, VIII, IX. Исследователи сделали вывод, что при этом фактор X активируется напрямую, минуя как внешний, так и внутренний пути. Дальнейшее определение этой активности выявило протеолитический прокоагулянтный фермент цистеиновую протеиназу с молекулярной массой 68кДа. Этот протеин идентифицирован в различных опухолях, включая опухоли кишечника, яичников, предстательной железы и получил название ракового коагулянта. Наиболее часто он присутствует в муцин-продуцирующих опухолях.

Характерно, что синдром Труссо чрезвычайно чувствителен к антикоагуляции гепарином, и чаще всего, плохо лечится варфарином. При лечении синдрома Труссо необходима длительная терапия гепарином, который обычно назначается подкожно чаще в терапевтических, нежели в профилактических дозах.

Часто необходимы более высокие дозы гепарина — в ситуациях, когда АЧТВ на стандартных дозах не достигает терапевтических значений. К таковым относятся также состояния, когда гепарин применяется для предупреждения тромбообразования при экстракорпоральном кровообращении при обходном кардиопульмональном шунтировании, диализе и инвазивных терапевтических процедурах, таких как ангиопластика. Это, в свою очередь, ставит специальные проблемы, связанные с терапевтическим мониторингом и обратимостью антикоагуляции при возникновении геморрагических осложнений.

В последние годы появились возможности альтернативных методов введения гепарина, к которым относятся гепариновые покрытия искусственных клапанов сердца и артериальных и венозных катетеров, что, по сути, должно снижать фибринообразование в участках контакта крови с искусственными поверхностями.

Обсуждаются вопросы ингаляционного введения гепарина, а также буккального и ректального — в виде суппозиториев.

Однако по сей день не проводились большие исследования, и нет достаточного количества документированных результатов эффективности этих методов.

Особое место занимает гепарин в профилактике венозного тромбоза и нарушений свертывания крови во время беременности. Гестационный процесс сам по себе предрасполагает к развитию тромботических осложнений на фоне свойственных беременности гиперкоагуляции и повышает их риск в 5—6 раз. Присоединение же дополнительных факторов риска, таких как заболевания почек, сахарный диабет, ожирение, гестозы, гнойно-септические процессы, наличие сердечно-сосудистых заболеваний, значительно повышает риск тромботических осложнений и обосновывает гепаринотерапию.

Одним из наиболее ценных свойств гепарина для акушерской практики является отсутствие тератогенного и эмбриотоксического эффектов; он не влияет на систему гемостаза новорожденного при грудном вскармливании. Кроме того, его дозировкой легко управлять. И, наконец, антикоагулянтный эффект может при необходимости быть нейтрализован антидотом (протамин сульфатом и специальными сорбентами).

Гепарин является антикоагулянтом немедленного действия, причем он быстро выводится из организма. Уже через 1 час после внутривенного введения гепарина его содержание уменьшается на 50%, а через 1,5—2 часа — на 75%. В связи с этим, наиболее эффективным является метод непрерывного внутривенного введения препарата, который позволяет поддерживать концентрацию гепарина в крови в течение многих часов (и дней) практически на постоянном уровне. Этот уровень легко контролируется и опасность геморрагий при этом способе введения наименьшая, так как легко удается избежать передозировки. Для этой цели применяется инфузионный насос или система, позволяющая регулировать количество капель в единицу времени.

Гепарин можно вводить методом прерывистых внутривенных инъекций, повторяющихся каждые 2,4 или 6 часов. Как правило, в широкой практике инъекции повторяют не чаще, чем через 4 часа, вводя обычно фиксированную дозу гепарина. При этом способе введения его концентрация через каждые 4 часа оказывается то несколько выше верхней границы «терапевтической области» (сразу после введения), то несколько ниже нижней границы «терапевтической области» (перед каждой следующей инъекцией), что увеличивает опасность геморрагий и тромбоза. Инъекции через каждые 2 часа позволяют уменьшить колебания уровня гепарина до пределов «терапевтической области» (от верхней границы до нижней), но такой режим неудобен из-за необходимости слишком частых внутривенных вмешательств. Следует отметить, что до сих пор нередко гепарин вводят внутривенно через каждые 6 часов. Это приводит к настолько значительным колебаниям содержания гепарина в крови, что возникает реальная опасность кровотечений или рикошетных тромбозов.

Установление роли тромбофилии и ДВС-синдрома в патогенезе основных форм акушерской патологии (синдрома потери плода, гестозов, ПОНРП) значительно расширило показания к антикоагулянтной терапии во время беременности. При этом наиболее предпочтительна длительная профилактика низкими дозами гепарина (10 000—15 000 ЕД в сутки). Более подробно вопросы антикоагулянтной терапии у беременных изложены в последней главе.

Особенность фармакокинетики гепарина диктует необходимость контроля при внутривенном введении спустя 15—30 минут от начала инъекции и спустя 4 часа при подкожном введении.

Наиболее простым и общедоступным методом контроля гепаринотерапии является определение времени свертывания цельной крови по Ли-Уайту, которое чувствительно к антитромбопластическому и антитромбиновому эффекту гепарина. Доза гепарина считается адекватной, если в контрольные сроки время свертывания цельной крови превышает нормальные показатели (8—12 минут) в 2—3 раза. При коагулопатии потребления, вторичном гиперфибринолизе, циркуля-

ции антитромбинов, включая продукты деградации фибрина/фибриногена (ПДФ) в высокой концентрации на этот показатель ориентироваться нельзя, так как кровь плохо свертывается и до начала гепаринотерапии.

Распространенным методом контроля гепаринотерапии остается определение тромбинового времени — времени свертывания плазмы (крови) при добавлении раствора тромбина стандартной активности, которое отражает только антитромбиновый эффект гепарина. В контрольные сроки величина этого показателя должна превышать нормальные значения в 1,5—2,5 раза. При коагулопатии потребления, вторичном фибринолизе тромбиновое время также не может служить методом контроля гепаринотерапии. Эти состояния легко дифференцируются при одновременном определении рептилазного времени свертывания, которое чувствительно к антитромбиновому эффекту ПДФ и содержанию фибриногена, и не чувствительно к гепарину.

Наиболее точными методами контроля гепаринотерапии являются определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и активированного времени рекальцификации (АВР). Их использование имеет надежное теоретическое обоснование, потому что комплекс антиромбина III с гепарином инактивирует факторы свертывания XIIa, XIa, Xa, IXa, VIIIa, IIa (тромбин), уменьшение активности которых удлиняет показатели АЧТВ и АВР. Гепаринотерапия считается адекватной при увеличении показателей АЧТВ и АВР в 1,5—2,5 раза по сравнению с нормальными значениями.

Контроль терапии с помощью АЧТВ представляется наиболее воспроизводимым тестом в связи со стандартизацией активации факторов контакта и содержания фосфолипидов. Кроме того, учитывая его диагностическую значимость как показателя, характеризующего суммарную активность абсолютного большинства плазменных факторов крови, использование его в качестве метода контроля гепаринотерапии обеспечивает биологическую преемственность и последовательность интерпретации результатов.

Показатель хронометрической коагуляции «r+k» тромбоэластограммы отражает антиромболопастическое и антиромбиновое действие гепарина, а показатель индекса тромбодинамического потенциала (ИТП) — его влияние на структурные свойства сгустка. Гепаринотерапия считается адекватной, если в установленные сроки величина показателя «r+k» превышает нормальное значение (19—25 мм) в 1,5—2,5 раза, а ИТП падает до 3—5.

При лечении гепарином заболеваний, сопровождающихся ДВС в стадии коагулопатии потребления, такие методы контроля гепаринотерапии, как активированное частичное тромбопластиновое время, тромбиновое время, активированное время свертывания и обычная тромбоэластография, дают искаженные результаты. Это связано с «потреблением» тех факторов, на которые воздействует гепарин, и наличием в плазме ПДФ (продуктов деградации фибрина/фибриногена), обладающих антиромбиновым действием.

В таких случаях единственным методом контроля является «проба переноса» (по Раби), которая заключается в определении с помощью тромбоэластографа времени «r» нормальной плазмы и смеси плазм здорового и больного. Если в плазме больного присутствует гепарин, то время «r» смеси будет больше времени «r» здорового человека. Гепаринотерапия считается адекватной, если время «r» смеси примерно в 1,5—2 раза выше времени «r» плазмы здорового человека, то есть если $r\text{-смеси}/r\text{-контроля} > = 1,5$.

Помимо биологических методов контроля гепаринотерапии в клинической практике используется прямое определение концентрации гепарина в крови. Доза гепарина считается адекватной при гепаринемии равной 0,2—0,5 ЕД/мл.

Подкожное применение малых доз гепарина не требует определения прямого антиромболопастического и антиромбинового эффектов, учитывая, что в основе его действия лежит потенцирование активности антиромбина III.

Оценить лабораторно эффект малых доз гепарина можно с помощью определения активности антитромбина III, которая при этом увеличивается до 150—200% при норме (70—100%). Малые дозы гепарина оказывают прямой ингибиторный эффект на фактор Ха. Наибольшей чувствительностью к гепарину отличается метод определения его ингибиторной активности по отношению к фактору Ха, образование которого предшествует появлению в кровотоке активного тромбина. На этом и основан принцип профилактического до-, интра- и послеоперационного применения малых доз гепарина с целью профилактики тромбозов и тромбоэмболий.

Наряду с прямыми методами контроля гепаринотерапии важное значение для оценки эффективности и своевременного выявления угрозы побочных реакций при лечении гепарином имеют динамический контроль за концентрацией ПДФ, количеством тромбоцитов и выявление эритроцитов в анализах мочи.

При заболеваниях, протекающих с синдромом ДВС, признаком эффективности гепаринотерапии является уменьшение концентрации ПДФ и нормализация количества тромбоцитов; стойкая тромбоцитопения и высокие уровни ПДФ свидетельствуют о неэффективности лечения.

В клинической практике при лечении терапевтическими дозами гепарина (30—40 тыс. ЕД в сутки) у некоторых больных может отмечаться гепаринорезистентность, которая проявляется отсутствием удлинения АЧТВ в 1,5 раза и больше. Такая резистентность к гепарину чаще всего вызвана нейтрализацией гепарина за счет связывания с белками плазмы. Большинство этих белков являются реактантами острой фазы, и их концентрация обычно повышена при острых процессах (воспаление, свежий тромбоз и пр.). Другой причиной нормального АЧТВ при терапии гепарином может быть повышенная концентрация в плазме фактора VIII. Последние исследования показали, что такая «лабораторная гепаринорезистентность» не сопровождается снижением антитромботического эффекта, если уровень гепарина в плазме достигает 0,3—0,7 ЕД/мл, что подтверждается и измерением анти-Ха-активности.

Важной причиной гепаринорезистентности может быть реальный или относительный дефицит АТ III (как в результате наследственного дефекта гемостаза, так и приобретенного характера ДВС), нефротический синдром, энтеропатии. Кроме того, гепаринорезистентность может быть связана с активным связыванием гепарина с продуктами деградации тромбоцитов.

В процессе контроля эффективности антикоагуляции гепарином крайне важно не забывать и о контроле безопасности, что подразумевает прогнозирование риска не только геморрагических, но и гепарин-индуцированной тромбоцитопении типа II и связанных с ней тромбозов.

Избежать последнего позволит:

- а) подробный анамнез (исключить идиосинкразию к гепарину в анамнезе);
- б) подсчет количества тромбоцитов до назначения гепарина и в процессе гепаринотерапии (5, 7, 10-й день).

Осложнения гепаринотерапии

Наиболее характерными осложнениями гепаринотерапии являются кровотечения (табл. 47). В среднем геморрагические осложнения развиваются у 5% пациентов, получающих терапевтические дозы гепарина. Фатальные геморрагические осложнения составляют 7 на 1000 курсов терапии. Результаты мета-анализов свидетельствуют, что развитие кровотечений в большей степени зависит от общей суточной дозы, чем от метода введения гепарина, что объясняет более частое развитие геморрагий при прерывистом внутривенном введении гепарина, так как для достижения терапевтического уровня антикоагуляции необходимы более высокие суточные дозы.

Осложнения гепаринотерапии.

Проявления	Возможные механизмы
Кровотечение	Дозо-зависимый антикоагулянтный эффект
Аллергические реакции: — крапивница — астма — ринит	Дозо-независимые эффекты, связанные с дегрануляцией тучных клеток при контакте с гепарином
Тромбоцитопения	Дозо-независимый эффект, формирование антител к PF4, NAP-2 или IL-8
Остеопороз	Дозо-зависимая ингибция остеобластов
Артериальные тромбозы	Агрегация тромбоцитов («белый сгусток» при ГИТ II)
Гипонатриемия	Ингибция высвобождения альдостерона
Гепаринорезистентность	Повышение уровня PF4, реактантов острой фазы, снижение уровня АЕ III
Боли в груди	Возможно Ig E, иммуно-обусловленная реакция анафилактического типа

Риск геморрагий повышается и при одновременном назначении антитромбоцитарных препаратов, тромболитиков и других препаратов, потенцирующих антикоагулянтный эффект гепарина.

Риск геморрагических осложнений повышается и при ряде клинических состояний, таких как почечная недостаточность, пептическая язва, открытая раневая поверхность, пожилой возраст (старше 60 лет).

Одними из возможных осложнений являются ГИТ I и ГИТ II.

Остеопороз развивается обычно при длительной терапии гепарином (более 3—5 месяцев), что важно учитывать при ведении беременных, которым, в ряде случаев показана перманентная антикоагуляция в течение всего гестационного процесса, часто в условиях гипокальциемии, свойственной беременности. Однако чаще остеопороз развивается при назначении терапевтических доз (обычно >15 000 ЕД в сутки). Механизмы развития остеопороза до сих пор не ясны. Возможно, гепарин прямо активирует остеокласты, снижая активность остеобластов, потенцирует активность коллагеназы и/или возможно нарушает метаболизм витамина Д. Известно, что гепарин не оказывает действие на функцию паратгормона.

Возможными осложнениями гепаринотерапии являются гипоальдостеронизм и, как следствие, натриурия и гиперкалиемия. Часто это связано с супрессией альдостерона и, отчасти, со снижением количества и аффинности рецепторов ангиотензина I. Частота этого осложнения — 5—7%, однако (редко) возможны клинические проявления при наличии сопутствующих состояний — нарушении функции почек, сахарном диабете или применении калий-сберегающих диуретиков.

Реакции гиперчувствительности редки и обычно развиваются у пациентов, ранее получавших гепарин. В основном, эти реакции связаны с недостаточной «очисткой» различных коммерческих гепаринов.

Повышение уровня печеночных трансаминаз крайне редко наблюдается при гепаринотерапии, есть данные об одновременном развитии тромбоцитопении. Хотя механизм этого феномена не ясен, существует клиническое сходство с HELLP-синдромом у беременных.

Низкомолекулярный гепарин

Несмотря на множество плюсов применения обычного, нефракционированного или, иначе, высокомолекулярного гепарина, он обладает рядом нежелательных побочных эффектов, которые, в основном, предопределены его структурой. Нефракционированный гепарин (НГ) представляет собой, как уже указывалось, смесь кислых макромолекулярных цепей сульфатированных анионов мукополисахаридов с высоковариабельной молекулярной массой от 4000 до 40000Да.

Основные эффекты НГ — антитромбиновый и анти-Ха. Он является катализатором образования комплексов АТ III с тромбином, а также НС II-тромбин и комплексов АТ III с рядом факторов свертывания (Ха, XIIa, XIa, IXa). Кроме того, характерна высокая аффинность к фактору фон Виллебранда. Для ингибирования тромбина необходимо, как минимум, наличие не менее 18 сахарных остатков в молекуле гепарина, что имеет место при молекулярной массе не менее 5400Да. Соотношение у НГ активности анти IIa/антиХа составляет 1:1.

Вследствие гетерогенности структуры НГ имеет низкую биодоступность (30%), так как связывается с множеством белков, клеток (макрофаги, клетки эндотелия и т.д.). Кроме того, НГ подвержен влиянию антигепаринового фактора тромбоцитов (фактор 4), образуя комплекс «гепарин-фактор 4». Это чревато возникновением гепариновой иммунной тромбоцитопении вследствие образования антител к этому комплексу. Такая тромбоцитопения часто осложняется тромбозами.

Одним из нежелательных эффектов гепарина является также его способность уменьшать уровень АТ III при использовании больших доз, что также может вызвать состояние гиперкоагуляции и стать причиной тромбоза. Понятно, что увеличение дозы гепарина в такой ситуации не приводит к антикоагулянтному эффекту.

При внутривенном введении время полужизни гепарина 2 часа, что требует частого его введения; при подкожном введении время полужизни НГ увеличивается за счет длительного всасывания из подкожного депо: в этом случае возможно применение НГ 2 раза в сутки через 12 часов. Терапия НГ требует регулярного лабораторного контроля в связи с опасностью развития геморрагий, являющихся основным побочным эффектом НГ.

К другим побочным эффектам НГ относится остеопороз, алопеция, некроз кожи; возможно проявление реакции гиперчувствительности.

В результате исследований проводимых последние 20 лет, посвященных поиску форм гепарина, которые бы наилучшим образом отвечали соотношению структура-активность, был синтезирован низкомолекулярный гепарин, который включал фракции с более короткими молекулярными цепями с лучшим антитромботическим эффектом.

НМГ получают путем деполимеризации НГ, молекулярная масса их колеблется в пределах от 4 до 8кДа. Деполимеризация может быть осуществлена химическим, энзиматическим и физическим методом (излучение). На сегодняшний день существует множество НМГ, производимых разными странами и различными методами, что обуславливает и некоторые отличия в биологической активности этих препаратов (табл. 48).

Таблица 48.

Основные виды НМГ.

Торговые названия	Методы получения НМГ
Фраксипарин	Фракционирование, деполимеризация азотной кислотой
Тропарин	Деполимеризация азотной кислотой
Эноксапарин, Клексан, Лоленокс	Бензилирование в результате алкалинного гидролиза

Торговые названия	Методы получения НМГ
Фрагмин/Дальтепарин	Деполимеризация азотной кислотой
Логипарин	Деполимеризация гепариназой
Ревипарин, Кливарин	Деполимеризация азотной кислотой
Альдепарин, Нормильфо	Пероксидазная деполимеризация
Меркле НМГ	Пероксидазная деполимеризация
Флюксум	Пероксидазная деполимеризация
Боксал	В — элиминация или расщепление азотной кислотой
Минипарин	Деполимеризация азотной кислотой

Изменение структуры молекулы гепарина, то есть уменьшение молекулярной массы почти в 3 раза, повлекло за собой и изменения в фармакодинамике и фармакокинетике. Для НМГ характерны более высокая биодоступность, чем у НГ, — почти 100%, больший период полужизни; они меньше связываются с различными белками, клетками; проявляют меньшую аффинность к фактору фон Виллебранда; почечный клиренс намного превалирует над клеточным (что важно учитывать у больных с почечной недостаточностью); намного меньше, чем НГ, связывается с клетками эндотелия, что также обеспечивает длительную циркуляцию в плазме (в 2—4 раза больше).

Основное отличие механизма действия НМГ на систему гемостаза от НГ состоит в том, что НМГ обладают, в основном, анти Ха-активностью, то есть антитромбиновой (табл. 49).

Антикоагулянтный эффект НГ, как известно, зависит от уникального пентасахарида, который связываясь с АТ III, потенцирует ингибицию тромбина и фактора Ха антитромбином. Однако только около 1/3 всех молекул гепарина содержит эту уникальную пентасахаридную последовательность. Именно пентасахаридная последовательность обуславливает высокую аффинность к АТ III. Таким образом, почти 2/3 гепарина обладает минимальной антикоагулянтной активностью при терапевтических концентрациях, которые применяются клинически. Для ингибиции тромбина гепарин должен формировать «мост», соединяющий АТ III и тромбин, однако для ингибиции FXa такое взаимодействие не требуется. Молекулы гепарина с количеством сахаридных единиц менее 18, неспособны одновременно связывать тромбин и АТ III и в результате не могут катализировать ингибицию тромбина. Фракции гепарина, содержащие меньшее количество сахаридов способны катализировать ингибицию фактора Ха, при этом АТ III обеспечивает высокую аффинность пентасахаридной последовательности. Поскольку молекулы НМГ в большем количестве содержат фракции с массой менее 5000Да, они, в основном, обладают анти-Ха-активностью.

Таблица 49.

Сравнительная характеристика НГ и НМГ.

	Нефракционированный гепарин НГ	Низкомолекулярный гепарин НМГ
Молекулярная масса	В среднем 15—20 тыс. Да	В среднем 5400 Да
Биодоступность	30%	100%
Элиминация из организма	Клеточная сатурация	В основном, почки
Способность связываться с эндотелиальными клетками	+	-

	Нефракционированный гепарин НГ	Низкомолекулярный гепарин НМГ
Противотромбоэмболический эффект обусловлен	В основном антитромбиновой активностью	На 30% — антиХа-активность, 70% — через высвобождение ТР
Гипокоагуляция	Вызывает	Не вызывает
АЧТВ	Удлиняет	В профилактических дозах не удлиняет; в терапевтических — незначительно
Рикошетные тромбозы	+	—
Аутоиммунная тромбоцитопения	+	—
Необходимость лабораторного контроля	+	—
Трансплацентарный переход	—	—
Осложнения терапии: геморагии, алопеция, остеопороз	+	—
Повышение проницаемости сосудистой стенки	+	—
Дозо-зависимый клиренс	+	—
Ингибция связывания фактора Ха с тромбоцитами	—	+
Ингибция функции тромбоцитов	++	++++
Количество сахаридных единиц	40—50	13—22

Однако если в состав НМГ входят фракции, имеющие массу более 5400Да, что эквивалентно наличию более 18 дисахаридных остатков, то также проявляется анти-IIa-активность. Так, для одного из наиболее первых НМГ, фраксипарина, молекулярная масса которого в среднем 4500Да, благодаря наличию фракций с молекулярной массой больше 5400Да, характерно соотношение активностей анти-IIa — анти-Ха = 1:4.

Характерно также, что нефракционированный гепарин не способен ингибировать фактор Ха, связанный с тромбоцитами, в отличие от НМГ.

НМГ способствуют также активации фибринолиза путем освобождения из эндотелия тканевого активатора плазминогена t-РА; кроме того, они меньше подвержены действию антигепаринового фактора 4 тромбоцитов и, соответственно, реже вызывают гепариновую иммунную тромбоцитопению.

Долгое время противотромботический эффект НМГ связывали исключительно с анти-Ха активностью, пока не выяснилось, что только 30% активности НМГ осуществляется через АТ III и 70% — через так называемый ингибитор внешнего пути свертывания TFPI и другие фармакологические эффекты (табл. 50), как высвобождение из эндотелия антиагрегантных субстанций (простаглицлин) и пр. Это объясняет, почему у пациентов сохраняется «антитромботическое состояние» после подкожного введения профилактической дозы НМГ. (фраксипарина) в

течение 24 часов, несмотря на то, что уже через 12 часов после инъекции анти-Ха-активность не обнаруживается.

Таблица 50.

Эффекты НМГ, не связанные с взаимодействием с АТ III.

1. Высвобождение TFPI.
2. Взаимодействие с гепарин-кофактором II.
3. Ингибция прокоагулянтного действия лейкоцитов.
4. Активация фибринолиза.
5. Связывание с белками.
6. Модуляция сосудистого эндотелия (рецепторно- и нерепторно-обусловленная)

Благодаря успехам в области исследования системы гемостаза на сегодняшний день известно, что в генезе большинства тромботических проявлений огромную роль играет активация внешнего пути свертывания и выделение в кровь тканевого фактора ТФ. Этот механизм является доминирующим во время беременности, в перинатальном и послеоперационном периодах, при гнойно-септических заболеваниях, АФС, ожирении, онкологических заболеваниях, множестве сердечно-сосудистых заболеваний и ряде связанных с ним состояний (пороки сердца, нестабильная стенокардия, атеросклероз, искусственные клапаны сердца, кава-фильтр, чрезкожная транслюминальная коронарная ангиопластика), а также при ряде тяжелых состояний: ТЭЛА, дистресс-синдром легких, отслойка плаценты, эмболия околоплодными водами и др.

TFPI-фактор или LACI-фактор (липопротеин-ассоциированный ингибитор коагуляции) является мощным естественным ингибитором внешнего пути свертывания. НМГ значительно повышают его уровень в крови. Он контролирует обусловленный фактором Ха отрицательный feed-back-механизм и ингибирует комплексы TF/VII/ФЛ и TF/VIIa/Фл/Ха, которые через образование протромбиназы ведут к генерации тромбина и затем фибрина. Для TFPI характерны и другие потенциально анти тромботические фармакологические свойства:

1. Ингибитор образования протеаз.
2. Прямой ингибитор фактора Ха и эластазы.
3. Ингибитор обусловленной тканевым фактором активации тромбоцитов и макрофагов.
4. Взаимодействие и липопротеинами низкой плотности с изменением их патологической роли (особенно при атеросклерозе).
5. Взаимодействие с сосудистым эндотелием.
6. Модуляция эндогенных гликозаминогликанов.
7. Нейтрализация эндогенно образующегося тканевого фактора.
8. Регуляторная функция?

В нормальных физиологических условиях TFPI первично синтезируется в микроваскулярном эндотелии и в небольших количествах мегакариоцитами и макрофагами и не синтезируются нормальными гепатоцитами или эндотелием крупных сосудов (большого калибра); незначительные количества TFPI исходят из фибробластов, однако при активации этих клеток уровень TFPI увеличивается в 6—8 раз.

Таким образом, *in vivo* существует 3 пула TFPI: 80—85% связано с гликозаминогликанами эндотелиоцитов, 10% связано с липопротеинами в плазме и 3% представлено в тромбоцитах. TFPI имеет молекулярную массу 42000Да и включает в себя 3 участка с ингибиторной активностью.

Ингибция каталитической активности комплекса TF/FVIIa/ФЛ/Ха осуществляется в 2 этапа:

1. средний домен TFPI связывает фактор Ха;
2. 1 домен TFPI связывает фактор VIIa в комплексе TF/VII/ФЛ.

Функция III домена не совсем ясна, хотя известно, что благодаря наличию С-терминального катионного «хвоста» TFPI может связываться с гликозаминогликанами на поверхности клеток.

В экспериментальных условиях при применении синтетических TFPI (синтезирован как TFPI с I и II доменами, так и TFPI, включающий все 3 домена) была установлена их протекторная роль в возникновении тромбозов и ДВС-синдрома, обусловленных введением тканевого тромбопластина и эндотоксина. Кроме того, был изучен эффект TFPI на рестеноз после повреждения интимы на модели животных. TFPI значительно снижал частоту возникновения рестенозов, обусловленных гиперплазией интимы после артериальных вмешательств. Это свидетельствует об особой роли TFPI при множестве сердечно-сосудистых заболеваний и состояний, протекающих с TF-индуцированной гиперкоагуляцией, таких как нестабильная стенокардия, атеросклероз, искусственные клапаны сердца, кава-фильтр, чрезкожная транслюминальная ангиопластика и прочие состояния, обусловленные артериальной интервенцией.

Возвращаясь к эффектам НМГ, следует отметить, что независимо от патогенетического механизма тромбозов, общим для них является активация тромбинового пути, и преимуществом НМГ является их способность препятствовать образованию тромбина различными путями. Если же учесть меньшую зависимость противотромботического эффекта НМГ от уровня АТ III, чем у НГ, то можно думать о более успешном применении НМГ у больных с дефицитом АТ III.

Так в чем же основные преимущества НМГ перед НГ? Благодаря меньшей молекулярной массе и большей биодоступности они дольше циркулируют в крови и обеспечивают продолжительный противотромботический эффект в значительно меньших суточных дозах. Поэтому возможно однократное подкожное введение препарата в сутки; препараты (в частности, фраксипарин) не вызывают образование гематом в области инъекций.

Важнейшим преимуществом НМГ по сравнению с НГ является, безусловно, более предсказуемый антикоагулянтный эффект, что связано с большей биодоступностью.

Одно из важнейших качественных отличий НМГ от НГ — способность существенно не удлиннять такие показатели, как АЧТВ, ТВ и др., что связано преимущественно с воздействием на фактор Ха и ингибцией внешнего пути свертывания.

НМГ в гораздо меньшей мере подвержены влиянию антигепаринового фактора 4 тромбоцитов, соответственно крайне редко вызывают тромбоцитопению и не вызывают гепарин-индуцированные тромбозы.

Учитывая механизмы действия НМГ и результаты применения их в широкой клинической практике, большинство исследователей склоняются к мысли, что нет необходимости в лабораторном контроле при использовании НМГ в терапевтических и, тем более, в профилактических целях. Тем не менее, оценку их антикоагулянтного эффекта можно проводить по определению анти-Ха-активности (эффект предотвращения образования Ха-фактора). С ним сопрягается и другой чрезвычайно важный эффект ингибиции внешнего пути свертывания, опосредованный высвобождением TFPI. Наиболее чувствительные методы определения TFPI в настоящее время разрабатываются, а некоторые из них уже используются.

Характеристика биологических методов контроля терапии стандартным гепарином и НМГ с учетом механизмов их действия на различные компоненты системы гемостаза представлена в таблице 51.

Методы контроля при лечении НГ-гепарином и НМГ.

Методы контроля	Характеристика и значение метода	НГ	НМГ
АЧТВ	Характеризует активацию внутреннего пути свертывания крови. Учитывает влияние комплекса гепарин-АТ III на факторы: Ха, XIIa, XIa, IXa, IIa, т.е. антитромбопластический эффект гепарина	+	-
АВР	—	+	-
г+к	Характеризует контактную фазу активации и учитывает также антитромботический эффект гепарина	+	-
ИТП — индекс тромбодинамического потенциала	Учитывает влияние гепарина и НМГ на структурные свойства сгустка крови	+	±
Анти-Ха	Характеризует антиХа-активность	±	+
Количество тромбоцитов	Учитывает побочные эффекты гепаринотерапии — иммунную тромбоцитопению и, как следствие, высокий риск тромбоза.	+	±

Следует отметить, что до появления НМГ контроль дозы НГ преследовал цель обеспечение адекватной дозировки во избежание опасных геморрагических осложнений. НМГ практически сняли проблему контроля неблагоприятных гипокоагуляционных эффектов. Однако так же, как и при терапии НГ, весьма актуальным является контроль эффективности терапии. Для этой цели могут быть использованы такие маркеры внутрисосудистого свертывания крови, как комплекс тромбин-антитромбин ТАТ, фрагменты 1+2 протромбина и особенно продукты деградации фибрина/фибриногена (табл. 52).

Таблица 52.

Контроль эффективности терапии НМГ и НГ.

Методы контроля эффективности гепаринотерапии	Характеристика и значение метода
Комплекс тромбин — анти-тромбин (ТАТ)	Количество ТАТ-комплексов пропорционально количеству тромбина, образующегося ранний маркер тромбофилического состояния и начала внутрисосудистого свертывания крови. Снижение его уровня свидетельствует об эффективности терапии
1+2 фрагменты протромбина	Образуются при протеолитическом расщеплении протромбина, активированного Ха-фактором. Косвенный маркер образования тромбина; позволяет судить о наличии ДВС-синдрома и тромбофилии. При эффективной терапии гепаринами количество их уменьшается или исчезает
Продукты деградации фибрина/фибриногена ПДФ	Образуются в результате гипертромбинемии и репаративного фибринолиза. Маркер текущего ДВС или тромбофилии. При гепаринотерапии уровень снижается или исчезает

Методы контроля эффективности гепаринотерапии	Характеристика и значение метода
Д-димер	Характеризует перекрестную полимеризацию фибрина в процессе внутрисосудистого свертывания крови. Является одним из наиболее специфических тестов диагностики ДВС-синдрома, тромбофилии и тромбоза. Его уменьшение или исчезновение свидетельствует об эффективности терапии гепаринами

В настоящее время НМГ широко применяется в клинической практике для профилактики венозных тромбозов, тромбозмболий и в лечении их.

Профилактика фатальной ТЭЛА подразумевает: а) вторичную профилактику, что включает раннее выявление и лечение субклинических венозных тромбозов; б) первичную профилактику тромбоза глубоких вен.

Конечно, первичная профилактика является наиболее предпочтительной и в первую очередь должна осуществляться в ситуациях высокого риска развития ТГВ.

Идеальный тромбопрофилактический препарат должен эффективно предотвращать развитие тромбоза, не иметь серьезных побочных эффектов, быть достаточно простым в применении и не требовать лабораторного мониторинга. НМГ обладает многими качествами из перечисленных выше.

Поскольку НМГ лишен большинства побочных эффектов, свойственных НГ, а также его антикоагулянтный эффект в ответ на фиксированную дозу более предсказуем, без сомнения НМГ является препаратом выбора при профилактике ТГВ — как послеоперационных, так и в случаях повышенного риска развития ТГВ, не связанного с хирургическим вмешательством (АФС, беременность, злокачественные опухоли и пр.).

При этом профилактические дозы НМГ обычно не превышают 3400 анти-Ха МЕ и вводятся подкожно один раз в сутки. Длительность профилактики в разных клинических ситуациях различная, и, прежде всего, зависит от причины, повышенного риска тромбоза. В настоящее время ведутся интенсивные исследования, посвященные разработке оптимальных режимов профилактики НМГ при различных клинических состояниях.

Большим преимуществом профилактики НМГ является также то, что пациенты самостоятельно могут осуществить ее дома, поскольку в отличие от НГ, нет необходимости контроля дозы.

Традиционно группу высокого риска развития ТГВ и ТЭЛА составляют пациенты ортопедической хирургии, пациенты с онкологическими заболеваниями и предстоящим оперативным вмешательством в связи с основным заболеванием, а также другие категории, как то пациенты с кардиоваскулярными заболеваниями (в частности фибрилляция предсердий, ИКС) и беременные с ИКС, генетическими формами тромбофилии и/или АФС и рецидивирующими тромбозами и пр.

Согласно результатам мета-анализа, НМГ значительно более эффективны в профилактике ТГВ по сравнению с НГ после артропластики тазобедренного сустава, что подтверждается флебографически.

Кроме того, НМГ более эффективны, чем ОАК для профилактики ТГВ и гораздо реже вызывают геморрагические осложнения в послеоперационном периоде.

У онкологических больных эффективна длительная (не менее 1—3 месяцев) профилактика ТГВ низкомолекулярным гепарином, поскольку тромбофилическое состояние после хирургического вмешательства у них сохраняется дольше, что связано не только с выбросом большого количества тромбопластических субстанций в кровь во время операции, но и характером основного заболевания. В на-

стоящее время интенсивно исследуются возможности постоянной антикоагуляции у пациентов со злокачественными опухолями, однако поскольку профилактика НМГ подразумевает определенный временной отрезок, речь идет о возможности в дальнейшем перманентной пожизненной антикоагуляции варфарином в так называемых мини-дозах (менее 2,5мг).

В случаях среднего и низкого риска ТГВ НМГ назначаются, по крайней мере, в течение 10 дней после операции.

Таким образом, НМГ эффективно снижают частоту послеоперационных тромбозов (почти на 70%) и не повышают риск серьезных геморрагических осложнений при преоперативном назначении. В случаях, когда НМГ назначаются в послеоперационном периоде, они не повышают риск геморрагий.

Большинство исследований свидетельствует, что НМГ почти на 50% эффективнее снижают риск развития ТГВ у пациентов общей хирургии, чем НГ.

Роль НМГ в лечении клинических состояний, не связанных с оперативным вмешательством, в настоящее время интенсивно изучается. К таким состояниям относятся нестабильная стенокардия, острый инфаркт миокарда, ишемический инсульт, заболевания периферических сосудов, гемодиализ и пр.

Так, в острую фазу нестабильной стенокардии подкожное введение фраксипарина дважды в сутки в фиксированной дозе в зависимости от массы тела (214 анти-Ха I СИ/кг или ~80 анти-Ха МЕ/кг) в сочетании с аспирином (200мг/сутки) более эффективно, чем лечение только аспирином или НГ в сочетании с внутривенным гепарином.

Интенсивно изучаются возможности оптимизации исходов коронарной ангиопластики, установки эндоваскулярных стентов, гемодиализа с помощью антикоагуляции НМГ.

Применение НМГ при ишемических инсультах, остром инфаркте миокарда находится в стадии клинического изучения.

Вторичная профилактика ТЭЛА, как ранее указывалось, подразумевает лечение ТГВ. Мета-анализ проведенных исследований свидетельствует, что НМГ достоверно лучше предотвращают рост тромба и более безопасны как с точки зрения геморрагических осложнений, так и развития ГИТ II. Кроме того, в ряде исследований отмечается меньшая смертность на фоне лечения ТГВ НМГ (фраксипарин, фрагмин).

Так, European Collaborative Study (1991) фраксипарин был признан более эффективным в лечении проксимального ТГВ, чем внутривенно вводимый НГ. При этом режим введения НМГ — подкожный, дважды в день в дозах, зависящих от массы тела.

В большинстве стран пациенты с ТГВ лечатся дома, самостоятельно применяя НМГ в подкожном режиме. Таким образом, преимущества НМГ в лечении проксимального ТГВ несомненны.

Конечно же, следует сделать оговорку относительно пациентов с коморбидными состояниями и высоким риском геморрагических осложнений, которые должны получать терапию в лечебном учреждении.

В лечении ТЭЛА НМГ демонстрирует, по крайней мере, такую же, если не большую, эффективность и безопасность, чем НГ. Наш опыт применения НМГ у беременных с тромбофилией мелких ветвей легочной артерии свидетельствует также о высокой эффективности НМГ (фраксипарин).

Долгое время вопрос трансплацентарного перехода НМГ оставался открытым. Однако в настоящее время уже известно, что НМГ не проникают через плаценту. Благодаря этому появилась возможность широкого применения НМГ в акушерской практике, в особенности у беременных с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, с антифосфолипидным синдромом и при целом ряде состояний, сопровождающихся тромбофилией и внутрисосудистым свертыванием крови. Учитывая эффекты НМГ на внешний путь свертывания крови и эндотелий, появляется заманчивая перспектива использования НМГ с целью профилактики эндотелиальных изменений, свойственных гестозам.

Согласно нашему опыту применения первого и наиболее изученного НМГ фраксипарина, НМГ является препаратом выбора при профилактике тромбозомболических осложнений у беременных с искусственными клапанами сердца, так как эта группа больных требует длительного (на протяжении всей беременности, родов) применения антикоагулянтов. Кроме того, мы применяли фраксипарин при гестозах, протекающих с хроническим ДВС-синдромом; при АФС и синдроме потери плода, у больных с тромбозом в анамнезе и генетическими формами тромбофилии, а также для профилактики тромбозомболических осложнений после операции кесарева сечения у беременных с высоким риском этих осложнений. Согласно нашим исследованиям НМГ (фраксипарин) является высокоэффективным и безопасным противотромботическим препаратом.

Положительный эффект наблюдался и у женщин с привычным невынашиванием и АФС. Во всех случаях благодаря применению фраксипарина с ранних сроков беременности удалось пролонгировать беременность и своевременно родоразрешить пациенток с АФС.

В качестве контроля противотромботического эффекта фраксипарина мы использовали такие показатели внутрисосудистого свертывания, как Р-стафилококковый клампинг-тест, Д-димер и функцию тромбоцитов.

Анти-Ха-активность фраксипарина чаще измеряется в анти-Ха единицах Института ШОЭ. 1 единица института ШОЭ (ICU) соответствует 0,41 международной единице (IU) анти-Ха.

В качестве профилактической мы использовали дозу 150 ICU/кг; при искусственных клапанах сердца — 250 ICU/кг 1 раз в сутки, подкожно.

Для практических целей можно использовать следующие режимы применения фраксипарина:

Профилактические дозы в зависимости от массы тела:

меньше 50кг — 0,3мл

50—70кг — 0,4мл

больше 70кг — 0,6мл

При искусственных клапанах сердца: 0,1 мл/кг веса.

Длительность применения фраксипарина в профилактических целях:

1. Хронический ДВС-синдром — в среднем 30 дней, а также в зависимости от купирования признаков внутрисосудистого свертывания крови.

2. АФС — практически всю беременность и послеродовый период.

3. Искусственные клапаны сердца — вся беременность и послеродовый период с переходом в дальнейшем на варфарин.

4. Операция кесарева сечения — 1-я инъекция за 12 часов до операции, 2-я инъекция — через 8 часов после операции, затем 1 раз в сутки в течение 10 дней.

Критерии безопасности НМГ

НМГ, применяемые в качестве профилактики ТГВ в фиксированных дозах (эквивалентных 0,1—0,2 МЕ/мл анти-Ха-активности) в подкожном режиме, крайне редко являются причиной геморрагических осложнений в послеоперационном периоде.

В случаях, когда уровень НМГ составляет более 1,0 МЕ/мл анти-Ха-активности, риск геморрагий повышается, однако такой уровень достигается лишь при использовании высоких терапевтических доз. Однако по сравнению с НГ, НМГ реже вызывают геморрагические осложнения при использовании высоких терапевтических доз. Как правило, риск геморрагических осложнений повышен в ситуациях, когда необходима периоперативная профилактика у пациентов с высоким риском тромботических осложнений (операции на костях таза, артропластика тазобедренного сустава, кардиохирургия и пр.).

При периоперативной профилактике НМГ следует учитывать следующие составляющие повышенного риска интра- и послеоперационных геморрагических осложнений: препарат, операция, пациент. Характеристики препарата включа-

ют вид НМГ, дозу, антикоагулянтный ответ, время назначения и метод введения. Важное значение имеют тип хирургической операции, ее травматичность и длительность.

Со стороны пациента играют важную роль такие факторы как возраст, применение нестероидных противовоспалительных препаратов незадолго до операции или других препаратов, potenziрующих эффект НМГ, и наличие злокачественной опухоли.

Наиболее высок риск геморрагических осложнений у онкологических больных и больных, получающих НПВС или другие potenziрующие эффект НМГ препараты.

Только учет всех вышеперечисленных факторов может способствовать снижению риска периперативных геморрагических осложнений.

Безопасность применения НМГ в акушерстве связана не только с меньшим риском геморрагических осложнений НМГ, но и с меньшим риском других осложнений при длительной профилактике (ГИТ II, остеопороз). Важным аспектом безопасности применения НМГ у беременных является отсутствие трансплацентарного проникновения НМГ.

Что же касается периперативной профилактики, то здесь следует учитывать факторы, которые выше уже излагались. Поскольку накануне родоразрешения или операции кесарева сечения у беременной может иметь место подострая форма ДВС-синдрома, необходимо еще до родоразрешения выявлять возможные нарушения в системе гемостаза, поскольку в случае подострых форм ДВС-синдрома дополнительное назначение НМГ может стать причиной кровотечения.

Список литературы

1. Казакова Л.А. Оценка специфической фармакологической активности и оптимизация действия гепарина при акушерском ДВС-синдроме. // Автореф. дисс... канд. биол. наук. — М., 1990. — 20 с.
2. Кондрашевская М.В., Ляпина Л.А. Тромботический и антиромботический эффекты комплексного соединения низкомолекулярного гепарина с серотонином. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 1996. — т.122. — №11. — с. 530—532.
3. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. — Н.Новгород: НГМА, 1998. — 191 с.
4. Профилактика тромбозов. Под ред. В.П.Балуды. // Саратов, изд-во Саратовского ун-та, 1992. — 175 с.
5. Bergqvist D., Venoni G., Bjorgell O., et al. Low-molecular weight heparin (enoxaparin) as prophylaxis against venous thromboembolism after total hip replacement. // N. Engl. J. Med., 1996; 335: 696—700.
6. Bergqvist D., Linblad B., Matzch T. Risk of combining low molecular weight heparin for thromboprophylaxis and epidural or spinal anesthesia. // Semin. Thromb. Hemost., 1993; 19: 147—151.
7. Campbell N.R., Hull R.D., Brant R., Hogan D.B., Pineo G.F., Raskob G.E. Aging and heparin-related bleeding. // Arch. Intern. Med., 1996; 156: 857—860.
8. Clagett G.P., Anderson F.A., Geerts W.H., et al. Prevention of venous thromboembolism. // Ctef., 1998; 114: 531S—560S.
9. Columbus Investigators. Low-molecular-weight heparin in the treatment of patients with venous thromboembolism. //N. Engl. J. Med., 1997; 337: 657—662.
10. Crowther M.A., Ginsberg J.B., Kearon C., et al. A randomized trial comparing 5-mg and 10-mg warfarin loading doses. // Arch. Intern. Med., 1999; 159: 46—48.
11. Dahlman T.C. Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. //Am. J. Obstet. Gynecol., 1993; 168: 1265—1270.

12. de Valk H.W., Banga J.D., Wester J.W.J., et al. Comparing subcutaneous danaparoid with intravenous unfractionated heparin for the treatment of venous thromboembolism: a randomized controlled trial. // *Ann. Intern. Med.*, 1995; 123: 1—9.
13. Doyon M. Modification des proprietes anticoagulants du foie excise et conserve. // *C. R. Soc. Biol.*, 1910; 69: 395—396, Nov 12.
14. Dulitzki M., Pauzner R., Langevitz P., et al. Low-molecular-weight heparin during pregnancy and delivery: preliminary experience with 41 pregnancies. // *Obstet. Gynecol.*, 1996; 87: 380—383.
15. Duroux P. A collaborative European multicentre study: a randomized trial of subcutaneous LMWH (CY 216) compared with intravenous unfractionated heparin in the treatment of deep vein thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 65: 251—256.
16. Geerts W.H., Jay R.M., Code K.L., et al. A comparison of low-dose heparin with low-molecular-weight heparin as prophylaxis against venous thromboembolism after major trauma. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 701—707.
17. Goran B., Aberg W., Johansson M., Tornebohm E., Granqvist S., Lockner D. Two daily subcutaneous injections of fragmin compared with intravenous standard heparin in the treatment of deep venous thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1990; 64: 506—510.
18. Gould H.K., Dembitzer A.D., Sanders G.O., Garber A.M. Low-molecular-weight heparins compared with unfractionated heparin for treatment of acute venous thrombosis: a meta-analysis of randomized, controlled, trials. // *Ann. Intern. Med.*, 1999; 130: 789—799.
19. Green D., Hull R.D., Brant R., Pineo G.F. Lower mortality in cancer patients treated with low-molecular-weight versus standard heparin. // *Lancet*, 1992; 339: 1476.
20. Hirsh J., Arkin T.E., Raschke R., et al. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. // *Chest*, 1998; 114: 489S—510S.
21. Hirsh J., Raschke R., Warkentin T.E., Dalen J.E., Deykin D., Roller L. Heparin: mechanism of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. // *Chest*, 1995; 108(Suppl. 4): 258S—275S.
22. Hirsh J., Kearon C. Duration of anticoagulant therapy after first episode of venous thrombosis in patients with inherited thrombophilia. // *Arch. Intern. Med.*, 1997; 157: 2174—2176.
23. Hirsh J., Warkentin T.E., Raschke R., et al. Heparin and low-molecular weight heparin: mechanism of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. // *Chest*, 1998 114: 489S—510S.
24. Holliday D.M., Watling S.M., Yanos J. Heparin dosing in the morbidly obese patient. // *Ann. Pharmacother.*, 1994; 28: 1110—1111.
25. Howard P.A. Dabigatran: a low-molecular weight heparin. // *Ann. Pharmacother.*, 1997; 31: 192—203.
26. Hunt B.J., Doughty H.A., Majumdar G., et al. Thromboprophylaxis with low molecular weight heparin (Fragmin) in high risk pregnancies. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 39—41.
27. Hyers T.M., Agnelli G., Hull R.D., et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. // *Chest*, 1998; 114: 561S—578S.
28. Kearon C., Hirsh J. Management of anticoagulation before and after elective surgery. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 1506—1511.
29. Koopman M.M., Prandoni P., Piovella F., et al. Treatment of venous thromboembolism with intravenous unfractionated heparin administered in the hospital as

- compared with subcutaneous low-molecular-weight heparin administered at home. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334: 682—687.
30. Lensing A.W., Prins M.H., Davidson B.L., Hirsh J. Treatment of deep venous thrombosis with low molecular weight heparins. A meta-analysis. // *Arch. Intern. Med.*, 1995; 155: 601—607.
 31. Levine M., Gent M., Hirsh J., et al. A comparison of low molecular weight heparin administered primarily at home with unfractionated heparin administered in the hospital for proximal deep vein thrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334: 677—681.
 32. Levine M., Gent M., Hirsh J., et al. A comparison of low-molecular-weight heparin administered primarily at home with unfractionated heparin administered in the hospital for proximal deep-vein thrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334: 677—681.
 33. Levine M.N., Raskob G., Landefeld S., Kearon C. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. // *Chest*, 1998; 114: 511S—523S.
 34. Liezorovicz A., Simonneau G., Decousus H., Boissel J.P. Comparison of efficacy and safe) of low molecular weight heparins and unfractionated heparin in initial treatment of deep venous thrombosis: a meta-analysis. // *BMJ*, 1994; 309: 299—304.
 35. Micol P. A comparison of six weeks with six months of oral anticoagulant therapy after a first episode of venous thromboembolism. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 332: 1661—1665.
 36. Nelson-Piercy C., Letsky E.A., De Swiet M. Low molecular weight heparin for obstetric thromboprophylaxis: experience of sixty nine pregnancies in sixty women at high risk. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1997; 176: 1062—1068.
 37. Nemeth J.S., Marxen T.L., Piltz G.W. Weight-based protocol for improving heparin therapy. // *Am. J. Health-Syst. Pharm.*, 1996; 53: 1164—1166.
 38. Nurmohamed M.T., ten Cate H., ten Cate J.W. Low molecular weight heparin(oid)s. Clinical investigations and practical recommendations. // *Drugs*, 1997; 53: 736—751.
 39. Pini M. Prevention of recurrences after deep venous thrombosis: role of low-molecular-weight heparins. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1997; 23: 51—54.
 40. Rasmussen C., Wadt J., Jacobsen B. Thromboembolic prophylaxis with LMWH during pregnancy. // *Int. J. Gynecol. Obstet.*, 1994; 47: 121—125.
 41. Simmoneau G., Sors H., Charbonnier B., et al. A comparison of low-molecular-weight heparin with unfractionated heparin for acute pulmonary embolism. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 663—669.
 42. Simonneau G., Charbonnier B., Decousus H., Planchon B., Ninet J., Sie P. Subcutaneous low-molecular-weight heparin compared with continuous intravenous unfractionated heparin in the treatment of proximal deep vein thrombosis. // *Arch. Intern. Med.*, 1993; 153: 1541—1546.
 43. Skoutakis V.A. Danaparoid in the prevention of thromboembolic complications. // *Ann. Pharmacother.*, 1997; 31: 876—887.
 44. The Publications Committee for the Trial of ORG 10172 in Acute Stroke Treatment (TOAST) Investigators. Low molecular weight heparinoid, ORG 10172 (danaparoid), a outcome after acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. // *JAMA*, 1998; 275: 1265—1272.
 45. Tryba M., Wedel D.J. Central neuraxial block and low molecular weight heparin (enoxaparine): lessons learned from different dosage regimes in two continents. // *Acto. Anaesth. Scand.*, 1997; 111: 100—104.
 46. Valentine K.A., Hull R.D., Pineo G.F. Low-molecular-weight heparin therapy and mortality. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1997; 23: 173—178.

47. van den Belt A.G., Bossuyt P.M., Prins M.H., et al. Replacing inpatient care by outpatient care in the treatment of deep venous thrombosis — an economic evaluation. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 259—263.
48. Warkentin T.E., Levine M.N., Hirsh J., et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular weight heparin or unfractionated heparin. / / *N. Engl. J. Med.*, 1995; 332: 1330—1335.
49. Weitz J.I. Low-molecular-weight heparins. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 688—698.
50. Wilde M.L., Markham A. Danaparoid: a review of its pharmacology and clinical use in the management of heparin-induced thrombocytopenia. // *Drugs*, 1997; 54: 903—924.

akusher-lib.ru

Глава IX. Производные гепарина и гепариноиды

Синтетический пентасахарид гепарина

Биохимические исследования НГ и НМГ послужили основой гипотезы, согласно которой минимально необходимой структурой для связывания с антитромбином и обеспечения высокого анти Ха-эффекта является гексасахарид. Дальнейшие исследования показали, что такой «минимальной» последовательностью является пентасахарид, расположенный внутри гексасахариды.

Первоначально натуральная пентасахаридная последовательность была идентифицирована из натурального гепарина путем фракционирования. Специфический пентасахарид (молекулярный вес 1714) был впоследствии синтезирован с помощью глюкозаминогликанового синтеза. Синтетическая структура пентасахариды состоит из регулярного участка (единицы G и H) и нерегулярного участка гепарина (единицы D, E и F) (рис. 70). Синтетический пентасахарид проявлял высокое сродство к антитромбину.

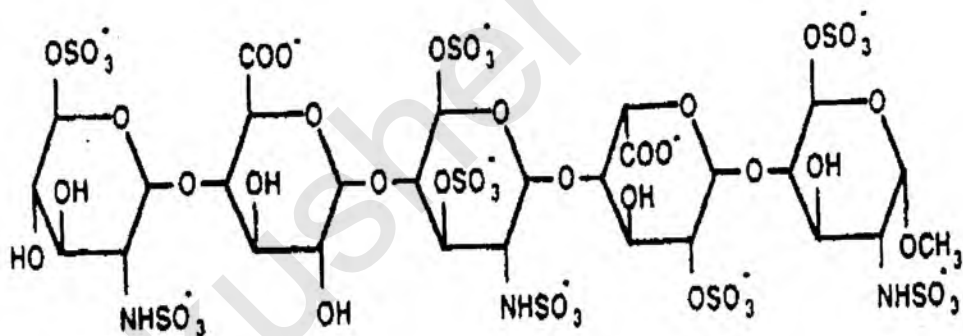


Рис. 70. Структура пентасахариды.

4 специфические сульфатные группы оказались критическими для оптимального связывания: 6-О сульфат на D единице, 3-О сульфат на F единице, и два N-сульфата на F и H единицах пентасахариды. В частности, на нерегулярном участке гепарина, важном для связывания с антитромбином, 25—30% глюкозаминовых остатков содержали одинаковую 3-О сульфатную группу. Позиции сульфатированных моносахаридов также оказались критически важными.

Первым синтетическим пентасахаридом, представляющим новый класс антитромботических препаратов, является Org 31540/SR90107A (Org315) — селективный ингибитор фактора Ха. Эмпирическая формула Org315 содержит единственный связующий сайт для АТ III, благодаря своей уникальной структуре, не встречающейся в природе. В отличие от НМГ, которые получают из НГ путем фракционирования, пентасахарид синтезируют из глюкозы, глюкозамина и целлюлозы. Молекулярная масса НМГ также выше, чем у пентасахариды. В отличие

от Org315, НМГ имеет несколько мишеней и обладает множественным механизмом действия. Поскольку НМГ содержит высокосульфатированные олигосахариды, то может взаимодействовать с АТ III, однако благодаря наличию большого количества других олигосахаридов он взаимодействует и с другими протеинами, помимо АТ III. Поэтому АТ III-опосредованные эффекты Org315 и НМГ не сопоставимы в связи с различием их структуры. В то время как НМГ ингибируют различные сериновые протеазы (факторы Ха, IXa, IIa) через АТ III, пентасахарид селективно ингибирует фактор Ха без ингибции других факторов. Это обеспечивает линейный дозо-зависимый антикоагулянтный эффект пентасахаридов. Кроме того, в отличие от НМГ, Org315 не обладает другими биологическими эффектами: он не модулирует эффект TFPI и не связывается с другими неспецифическими протеинами плазмы (табл. 53).

Таблица 53.

Сравнительная оценка физических, биохимических и фармакокинетических свойств пентасахаридов Org315 и НМГ.

	Пентасахарид Org315	НМГ
Молекулярная масса	1728 кДа	Средняя Mr 4000—5000 Да. Колебания от 2000 до 10 000 Да.
Источник	Химический синтез. Отсутствие потенциальной контаминации патогенными агентами.	Экстрактируется из слизистой кишечника свиней.
Дискретность	Гомогенный — однородная химическая структура.	Гетерогенные — смесь полисахаридов.
Мишени	Единственная мишень. Ингибция фактора Ха (не влияет на др. сериновые протеазы).	Множество мишеней. Ингибция нескольких факторов (Ха, IIa, IXa).
Фармакологические эффекты	Активность проявляется в зависимости от грамматрических показателей: мкг или мкмоль	Активность в зависимости от МЕ (антиХа или анти IIa).
ГИТ	Не связывается с PF4. ГИТ не вызывает.	Связывается с PF4. Перекрестно реагирует, если в плазме присутствуют антитела к комплексу PF4.
Тромбоциты	Не влияет ни на количество, ни на функцию тромбоцитов	Значительный эффект на функцию тромбоцитов и агрегацию тромбоцитов.
Биодоступность (подкожный путь)	100%	100%
Время полужизни	15—20 часов после однократной инъекции.	4 часа; по показаниям может быть необходима 2-разовая инъекция в день

Высокая аффинность пентасахаридов к антитромбину ведет к образованию прочной нековалентной и обратимой связи одной молекулы пентасахаридов с одной молекулой АТ III.

Такое связывание вызывает перманентное конформационное изменение в молекуле АТ III, в результате чего формируется комплекс АТ III-фактор Ха. Пентасаха-

рид потенцирует ингибиторный эффект АТ III в отношении фактора Ха более чем в 500 раз. К окончанию реакции взаимодействия, пентасахарид в неизмененном виде высвобождается из комплекса с АТ III и свободен для связывания с другой молекулой АТ III. Таким образом, селективно ингибируя фактор Ха, образующийся как в результате активации как внутреннего, так и внешнего путей свертывания, пентасахарид препятствует генерации тромбина.

Экспериментальные данные, а также данные клинических исследований показали высокую антитромботическую активность пентасахаридов при меньшем риске побочных явлений, свойственных НГ и НМГ (кровотечения, гепарин-индуцированные тромбоцитопения и тромбоз /ГИТ/). Так, перекрестная реакция (агрегация тромбоцитов) наблюдается в 100% образцов плазмы от больных с ГИТ в присутствии НГ, в 76% — в присутствии НМГ и агрегация отсутствует (0%) в присутствии Org315 [84]. Это весьма заманчивая перспектива применения Org315 при лечении ГИТ. ELISA-исследования также подтвердили, что пентасахарид не обладает эффектом перекрестного реагирования с антителами, связанными с мультимолекулярными комплексами PF4-гепарин.

Фармакокинетика Org315 (табл. 54), хорошо предсказуемый и воспроизводимый эффект, а также удобство применения (1 раз в сутки п/к) предопределяют клинический успех этого нового антитромботического агента. После однократного введения дозы пентасахаридов, уровень его в плазме поддерживается в течение 24 часов. Так же как НМГ, пентасахарид не вызывает изменения АЧТВ и АВР, и контроль эффективности осуществляется путем определения динамики маркеров тромбинемии и тромбофилии — комплексов ТАТ и F1+2 протромбина.

Таблица 54.

Фармакокинетика Org315.

- 100% биодоступность при подкожном введении.
- Не образует метаболитов
- Выводится в основном почками
- Линейная дозо-зависимая кинетика
- Пиковые концентрации достигаются через 1—3 часа.
- Время полужизни 15—20 часов.

На последнем XIX Всемирном конгрессе по гемостазу в Бирмингеме (июль 2003г.) были представлены результаты клинических исследований первого синтетического пентасахаридов фондапаринукс-натрия (Арикстра, Sanofi-Syntelabo, Франция).

Проведенные многоцентровые клинические исследования фазы IIb (рандомизированное, двойное слепое, параллельно-групповое с ранисированием дозы) продемонстрировали, что подкожное введение фондапаринукс-натрия в дозе 1,5—3 мг обладает оптимальным профилем эффективности и безопасности при применении для профилактики венозного тромбоза в ортопедической хирургии.

В многоцентровых клинических исследованиях III фазы фондапаринукс-натрий значительно снижал частоту возникновения венозного тромбоза (на 55,2% по сравнению с эноксапарином) после больших ортопедических операций.

Помимо этого, была продемонстрирована хорошая переносимость препарата, при частоте геморрагических осложнений сходной с таковой для эноксапарина. Не было ни одного случая тромбоцитопении, индуцированной антителами на фоне терапии.

Фондапаринукс-натрий показал большую эффективность, чем эноксапарин, и сопоставимую с ним переносимость по данным полностью опубликованных результатов исследований III фазы, и был одобрен в США для профилактики тромбоза после операций по поводу перелома бедра, протезирования тазобедренного и коленного суставов. В странах ЕС Комитет по патентованным ле-

карственным изделиям одобрил применение фондапаринукс-натрий по тем же показаниям. В продолжающихся исследованиях изучаются другие возможные показания к применению фондапаринукс-натрия: Исследовательская группа Rembrandt изучила фондапаринукс-натрий в лечении ТГВ с клиническими симптомами как альтернативу НМГ в исследовании II фазы. Разрабатывается большая программа III фазы по лечению ТГВ и ТЭЛА. Несколько исследований III фазы по профилактике тромбообразования у пациентов с высоким риском ВТЭ, продолжаются по настоящее время, включая пациентов, которым проводятся абдоминальные операций (исследования PEGASUS и APOLLO) и исследование пациентов терапевтического профиля с повышенным риском ТГВ (исследование ARTEMIS). Кроме того, в предварительных исследованиях изучена эффективность и переносимость фондапаринукс-натрия в лечении острого инфаркта миокарда. [Пентасахарид как дополнение к фибринолизу при остром инфаркте миокарда с подъемом ST-сегмента (исследование PENTALYSE)] и нестабильной стенокардии [Пентасахарид при нестабильной стенокардии (исследование PENTUA)], а также при коронарной ангиопластике.

Гепаран-сульфат, протеогликан и дерматан-сульфат являются эндогенными гепариноподобными молекулами с антитромботической активностью. В организме они продуцируются разными клетками, включая эндотелиальные клетки и фибробласты. Гепаран-сульфат ингибирует сериновые протеазы, катализируя образование ковалентных комплексов факторов коагуляции, таких как тромбин, с АТ III или гепарин-кофактором II. Дерматан-сульфат специфически катализирует образование комплекса тромбин-гепарин-кофактор II и, в отличие от гепарина, не действует через АТ III.

Разработка эндогенных антикоагулянтных гликозаминогликанов как антитромботических агентов продолжается в настоящее время. Обычно их получают из остаточных продуктов при выделении гепарина из тканей млекопитающих: кожи, кишечника, поджелудочной железы, селезенки или почек. Как и коммерческие гепарины, эти гликозаминогликаны (ГАГ) гетерогенны по своему составу. Одним из таких препаратов является ORG10172 (ломопаран), который представляет собой смесь гепарина, гепаранов, дерматанов и хондроитин-сульфата.

Пентозан-полисульфат (также известный как PPS, SP-54, PZ-68 и гемоклар) является полусинтетическим препаратом. К препаратам, состоящим в основном из дерматан-сульфатов, относятся MF701 (Opocrin Laboratories, Corlo, Italy) и OP370 (десмин). Большинство этих препаратов проходят клинические испытания и, вероятно, в скором будущем будут использоваться в качестве антитромботических препаратов в клинической практике.

Пентозаны (сульфатированные ксиланы)

Пентозан-полисульфат (PPS; SP-54; PZ-68; гемоклар) является одним из наиболее эффективных препаратов среди гепариноидов. Он представляет собой, как уже указывалось, полусинтетический высоко сульфатированный ксилан, получаемый из опилок бука и березы.

В природе ксиланы являются важной составляющей структуры клеток растений. Ксилан модифицируется в процессе химической реакции при взаимодействии с хлоро-серной кислотой, в результате чего происходит полисульфатирование органической кислоты ксилана.

Механизм действия пентозан-полисульфата еще не до конца изучен, однако известно, что он связывается как с АТ III, так и с HC II. Образующиеся при этом комплексы ингибируют FXa. Значительного антитромбинового эффекта пентозан-полисульфат не проявляет. Тем не менее, было показано, что пентозан может ингибировать тромбин и удлинять АЧТВ в плазме, дефицитарной по АТ III и HC II, что указывает на некоторый прямой эффект на тромбин. Кроме того, пентозан проявляет свойство активировать эндогенный фибринолиз.

Пентозан-полисульфат более эффективен, чем гепарин в качестве активатора ли-полиза. Известно, что ряд липидов и липопротеинов, в особенности липопротеин (а), могут выступать в роли ингибиторов плазмينا; соответственно элиминация таких липидов плазмы под действием пентозана может усиливать эндогенный фибринолиз.

Пентозан-полисульфат, кроме того, как в условиях эксперимента, так и у добровольцев демонстрирует повышение высвобождения активатора плазминогена.

Для достижения терапевтического противотромботического эффекта, пентозан-полисульфат обычно назначается внутривенно, хотя при длительном лечении возможен внутримышечный путь введения. Абсорбция в желудочно-кишечном тракте при исследовании с меченым препаратом также имеет место.

Применяющийся в Западной Европе пентозан-полисульфат обычно назначается 1 раз в день внутримышечно, пациенты могут получать эту терапию на дому.

Пентозан-полисульфат применяется в качестве антикоагулянта в Европе и Южной Африке более 30 лет, в том числе для местного лечения тромбозов.

Ранние исследования (70-е годы XX века) показали эффективность пентозан-полисульфата в профилактике послеоперационных венозных тромбозов.

Интересно, что пентозан-полисульфат обладает и другими терапевтическими эффектами, помимо противотромботических, в частности его недавно FDA рекомендовала для лечения интерстициального цистита, хотя механизм действия при этом не связан с противотромботическим эффектом.

Мониторинг терапии пентозаном не уточнен. В литературе встречаются данные, согласно которым антикоагулянтный эффект 50 мг пентозан полисульфата эквивалентен 5000МЕ гепарина. При использовании более высоких доз АЧТВ и время свертывания удлиняются. Учитывая, что в основном противотромботический эффект обусловлен ингибцией фактора Ха, вполне логичным представляется исследование активности фактора X для более точного измерения антитромботического эффекта. Тем не менее, существует парадокс: при исследовании с помощью хромогенных субстратов антиХа-активность пентозан-полисульфата не определяется. Какого-либо объяснения этому парадоксу еще нет.

К основным побочным эффектам пентозан-полисульфата относятся тромбоцитопения, повышение уровня печеночных трансаминаз и, редко, кровотечения.

Подобно гепарину, пентозан-полисульфат может вызывать иммунную тромбоцитопению и тромбоз, что еще раз подтверждает, что антитела специфичны не к гепарину, а к определенной сахаридной последовательности и в большой степени зависят от высокой плотности отрицательного заряда у этих сахаридов.

Тем не менее, тромбоцитопения в большинстве случаев носит обратимый характер.

В клинической практике открылись новые возможности применения пентозан-полисульфата, в частности для профилактики нефролитиаза, ингибции репликации вируса иммунодефицита человека и, возможно, для лечения остеоартрита.

Крайне интересно, что, в отличие от гепарина, он не обладает риском трансмиссии вирусов животных, поскольку не производится из органов животных. Более того, пентозан-полисульфат блокирует взаимодействие прионов с эндогенными гликозаминогликанами, что, в свою очередь, предотвращает аккумуляцию резистентного к протеазам, прион-индуцированного амилоида.

Что же касается применения пентозан-полисульфата в условиях тромбоза, то в эксперименте на животных он демонстрирует значительный эффект на разрешение тромботического процесса (в моделях венозного тромбоза) при комбинации с низкими дозами гепарина.

Дерматан-сульфат

Дерматан-сульфат является гликозаминогликаном, присутствующим в основном в экстрацеллюлярном матриксе и на поверхности клеток — эукариотов. Он в настоящее время интенсивно изучается.

Дерматан-сульфат получают из слизистой кишечника рогатого скота или свиней, а также из свиной кожи. Нефракционированные формы его имеют молекулярную массу от 15000 до 48000 Да (в среднем 28000). Наибольший клинический интерес представляет деполимеризованный низкомолекулярный дерматан-сульфат с молекулярной массой от 1000 до 6000 Да. Молекулярная структура такого дерматан-сульфата содержит повторяющиеся единицы L-идуроновой кислоты, сульфатированные в области C2, которые связаны (с 1 по 4-ую) с N-ацетил-D-галактозамином, сульфитированных в порциях C4 и C6.

Дерматан-сульфат проявляет не прямое антитромботическое действие через потенциацию HC II, который затем ингибирует тромбин. Как ранее указывалось, HC II является уникальным ингибитором протеаз, поскольку его активный сайт содержит лейцит в пептидной связи с серином в позиции 444—445, в то время как более типичным обычно является наличие аргинина (у других ингибиторов протеаз). Это объясняет, почему HC II ингибирует только тромбин, а не другие активированные факторы свертывания. Дерматан-сульфатные молекулы, связываясь с HC II, вызывают такие структурные изменения, которые позволяют HC II связываться с фибриноген-распознающим сайтом тромбина почти в 1000 раз более эффективно. Недавно было показано, что активные сайты дерматан-сульфата присутствуют в основном в деполимеризованных формах, или низкомолекулярном, дерматан-сульфате и именно они обеспечивают антитромботическую активность в присутствии более высокомолекулярных фракций гепариноида. Хотя дерматан-сульфат не обладает прямым эффектом на тромбоциты, косвенно он может ингибировать их функцию через ингибицию формирования протромбиназного комплекса и, соответственно, через снижение уровня тромбина — одного из эндогенных индукторов агрегации тромбоцитов.

Фармакокинетика дерматан-сульфат в настоящее время интенсивно изучается. Известно, что время полужизни при внутривенном введении составляет 35—45 мин и увеличивается при увеличении дозы, что свидетельствует о сатурационном механизме клиренса. Биодоступность при внутримышечном введении составляет около 25%, а время полужизни — около 6 часов. При подкожном введении биодоступность — 12% и время полужизни около 7 часов.

Преимущество низкомолекулярного дерматан-сульфата по сравнению с высокомолекулярным, вероятно заключается в большей эффективности при внутримышечном и подкожном путях введения.

Одним из минусов мониторинга терапии дерматан-сульфатом является то, что в большинстве клинических исследований эффект дерматан-сульфата на взаимодействие HC II-тромбин доза препарата оценивается в миллиграммах, но не единицах активности.

Дерматан-сульфат пока находится в стадии клинического изучения. Его эффективность как антитромботического препарата подтверждена на модели венозных тромбозов у крыс. Клинические исследования свидетельствуют, что дерматан-сульфат значительно безопаснее других гепариноидов. Однако слабая абсорбция при в/м и подкожном введении свидетельствуют, что инициальная доза должна вводиться в/в.

Большие надежды возлагаются на дерматан-сульфат в качестве эффективного и безопасного антитромботика при гемодиализе и кардиопульмональном обходном шунтировании.

Появились и первые, пока немногочисленные результаты успешного применения при коагулопатии потребления и острой лейкемии. Однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения возможности рутинного применения дерматан-сульфата при этих состояниях.

Сулодексид

Сулодексид является смесью различных гликозаминогликанов, получаемых из слизистой оболочки свиного кишечника. Его преимущества в основном связаны с возможностью перорального приема.

После очищения в процессе получения сулодексида из слизистой кишечника, образуются два основных компонента гликозаминогликановой смеси. Двадцать процентов составляет дерматан-сульфат и 80% — гликозаминогликановые цепи. Состоящие из повторяющихся идуронил-гликозаминогликан-сульфатных единиц.

Сулодексид обладает множеством эффектов *in vitro* и *in vivo*. *In vivo* сулодексид осуществляет противотромботическое действие через ингибцию активированного фактора X. Этот эффект достигается через идуронил-гликозаминогликановый компонент, который повышает каталитическую функцию антитромбина III. Хотя этот механизм не «обеспечивает» ингибции тромбина, в высоких дозах сулодексид, благодаря дерматан-сульфатному компоненту ингибирует и тромбин через HC II. При этом эффект ингибции тромбина может быть весьма значительным.

В этой связи следует отметить, что согласно ряду экспериментальных данных, препараты, усиливающие ингибцию тромбина как через AT III, так и через HC II, имеют лучшее соотношение антитромботического и антикоагулянтного эффектов.

Сулодексид способен ингибировать агрегацию тромбоцитов, индуцированную тромбином и катепсином G, путем заряд-зависимого связывания с рецепторами на поверхности тромбоцитов (с участием N-сульфатирования). Кроме того, сулодексид индуцирует профибринолитическую активность через снижение концентрации PAI-1 и вязкости плазмы и сыворотки.

In vivo сулодексид обладает и гиполипидемической активностью со снижением уровня ЛПН. Снижение уровня липидов связано с высвобождением липопротеин-липазы и более быстрым клиренсом ЛНП и ЛОНП печенью.

Одним из эффектов сулодексида является и снижение уровня пролиферации гладкомышечных клеток.

Сулодексид может назначаться как парентерально, так и перорально (1 раз в день внутримышечно или 2 раза — перорально). Поскольку при пероральном приеме терапевтический эффект развивается отсрочено, обычно терапию начинают с парентерального введения (в течение 1—2 дней).

Большинство исследований, посвященных длительному применению сулодексида, свидетельствуют о потенцировании фибринолитической системы через снижение уровней PAI-1 и фибриногена. Соответственно и время полужизни в плазме может не коррелировать с клиническими эффектами.

В отличие от многих других гепариноидов, мониторинг терапии сулодексидом осуществляется не в миллиграммах, а в единицах высвобождения липопротеин-липазы (LRU, lipoprotein-lipase releasing units).

Ежедневная доза обычно составляет 600 LRU в/м или 1000 LRU перорально. Хотя оптимальный метод контроля за терапией сулодексидом еще не известен, тем не менее, имеет смысл определение активности FX при парентеральном применении и вязкость плазмы или уровень фибриногена при пероральном применении.

В клинической практике сулодексид применяется у пациентов с заболеваниями периферических сосудов, когда снижение вязкости плазмы, уровня ЛНП и противотромботический эффект — основные компоненты успешной терапии у этих больных.

В больших мультицентровых исследованиях была подтверждена эффективность сулодексида в профилактике смерти, тромбозов и образования левожелудочковых muralных тромбов у пациентов, перенесших инфаркт миокарда.

Возможно, препарат будет эффективным для длительной антикоагулянтной профилактики у пожилых пациентов с АФС (вместо применения варфарина), поскольку сулодексид не снижает уровень протеина С, в отличие от варфарина, в условиях угнетения системы протеина С у пациентов с АФС.

Что касается побочных эффектов сулодексида — изучены они недостаточно, однако по предварительным данным они развиваются в среднем у 1% пациентов и проявляются в форме гематом в местах инъекций, кожных реакций и желудочно-кишечных проявлений.

Хотя место сулодексида в противотромботической терапии еще изучается, потенциальный успех его применения у постинфарктных пациентов уже подтвержден. Кроме того, сейчас изучается эффективность сулодексида в предотвращении рестеноза (учитывая не только антикоагулянтный, но и антиатерогенный его эффект). Однако, по-видимому, не следует ожидать в этом плане необыкновенных результатов, поскольку и гепарин, и НМГ не достаточно предотвращают рестеноз, несмотря на ингибицию пролиферативного процесса *in vitro*.

Данапароид (Organon 10172)

Данапароид натрий является смесью сульфатированных гликозаминогликанов, получаемых из слизистой кишечника свиней после отделения фракций гепарина. Она на 83% представлена гепаран-сульфатом, на 12% — дерматан-сульфатом и на 5% — хондроитин-сульфатом. При этом только 55% гепаран-сульфата обладает аффинитетом к АТ III и только 4% гепаран-сульфата обладает «критической» пентасахаридной последовательностью. Средняя молекулярная масса данапароида составляет 5500 Да.

Механизм действия данапароида, в первую очередь, связана с ингибированием фактора Ха, хотя возможны и другие эффекты. Не совсем понятно, каким образом обеспечивает противотромботический эффект присутствующий в большей пропорции гепаран-сульфат, обладающий низким аффинитетом к АТ III. Основной механизм действия дерматан-сульфата — другого компонента данапароида (выше уже описывался) также не связан с потенцированием эффектов АТ III в отношении FXa. В то же время не понятно, почему же данапароид обладает выраженным антиХа эффектом (НС II, потенцируемый дерматан-сульфатом не обладает выраженным ингибиторным эффектом в отношении FXa). При исследованиях на животных, соотношение ингибиции FXa к ингибиции тромбина составляет около 20 : 1.

Данапароид практически не влияет на функцию тромбоцитов.

Как при в/в, так и при п/к введении данапароид обладает высокой биодоступностью. Время полужизни его при осуществлении анти-Ха эффекта составляет около 18 часов и при осуществлении антитромбинового эффекта — 90 мин. Клиренс препарата осуществляется в основном, почками, ретикулоэндотелиальная система при этом участвует минимально. Единицы дозирования выражаются в анти-Ха единицах: каждые 0,6 мл содержат 750 анти-Ха единиц.

Данапароид изучается как в плане лечения, так и в плане профилактики венозного тромбоза. Он показал эффективность в профилактике ТГВ у пациентов с тромбозом с инсультами, переломами бедра и при элективных операциях на бедре. Кроме того, данапароид натрий впервые был успешно применен для лечения ГИТ II (см. главу XVI). Рекомендуемая доза обычно составляет 750 анти-Ха Ед подкожно дважды в день.

Подобно многим другим противотромботическим препаратам, наиболее важным побочным эффектом данапароида являются кровотечения, в особенности у хирургических пациентов.

Поскольку данапароид имеет природное происхождение, он может вызывать анафилаксию.

К недостаткам данапароида относится практическое отсутствие антидота (протамин-сульфат малоэффективен).

Список литературы

1. Балуда В.П., Деянов И.И., Балуда М.В. и др. Под редакцией Балуда В.П. Профилактика тромбозов. Саратов, изд-во Саратовского ун-та, 1992. — 175с.
2. Баркаган З.С. и др. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. М., Ньюдиамед, 2000. — 148с.

3. Бокарев И.Н. Современные достижения и проблемы противотромботической терапии. // Тер. архив, 1993. — т.65. — №10. — с.101—105.
4. Agnelli G., Damiani M., Veschi K., et al. A double blind randomized trial on Orgaran versus unfractionated heparin in the prevention of deep vein thrombosis after elective hip replacement [Abstract]. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 73: 1103.
5. Bergqvist D, Kettunen K, Fredin H, et al. Thromboprophylaxis in patients with hip fractures: a prospective, randomized, comparative study between ORG 10172 and dextran 70. // *Surgery*, 1991; 109: 617—622.
6. Chong B.H., Magnani H.N. Orgaran in heparin-induced thrombocytopenia. // *Haemostasis*, 1992; 22: 85—91.
7. De Boer A., Stiekema J.C.J., Danhof M., Breimer D.D. An interaction study of Org 10172 (Lomoparan) and digoxin in six healthy male volunteers. // *Eur. J. Clin. Pharmacol*, 1991; 41: 245—250.
8. De Boer A., Stiekema J.C.J., Danhof M., Breimer D.D. The influence of chlortalidone on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of Org 10172 (Lomoparan) on low molecular weight heparinoid in healthy volunteers. // *J. Clin. Pharmacol*, 1991; 31: 611—617.
9. De Boer A., Stiekema J.C.J., Danhof M., et al. Interaction of a low molecular weight heparinoid (Org 10172) with cloxacillin and ticarcillin in healthy male volunteers. // *Antimicrob. Agents Chemoter.*, 1991; 35: 110—2115.
10. de Valk H.W., Banga J.D., Wester J.W.J., et al. Comparing subcutaneous Danaparoid with intravenous unfractionated heparin for the treatment of venous thromboembolism. // *Ann. Intern. Med.*, 1995; 123: 1—9.
11. Dumas R., Woitinas F., Kulmnsky M., et al. A multicenter, double-blind, randomized study to compare the safety and efficacy of once-daily ORG 10172 and twice-daily low-dose heparin in preventing deep vein thrombosis in patients with acute ischemic stroke. // *Age Ageing*, 1994; 23: 512—516.
12. Gent M., Hirsh J., Ginsberg J.S., et al. Low-molecular-weight heparinoid Orgaran is more effective than aspirin in the prevention of venous thromboembolism after surgery for hip fracture. // *Circulation*, 1996; 93: 80—84.
13. Gerhart T.N., Yett H.S., Robertson L.K., Lee M.A., Smith M., Salzman EW. Low-molecular-weight heparinoid compared with warfarin for prophylaxis of deep vein thrombosis in patients who are operated on for fracture of the hip. // *J. Bone Joint Surg.*, 1991; 73: 494—502.
14. Hoek J.A., Nurmohamed M.T., Hamelynk K.J., et al. Prevention of deep vein thrombosis following total hip replacement by low molecular weight heparinoid. // *Thromb. Haemost.*, 1992; 67: 28—32.
15. Leyvraz P., Bachmann F., Bohnel J., et al. Thromboembolic prophylaxis in total hip replacement: a comparison between the low molecular weight heparinoid Lomoparan and heparin dihydroergotamine. // *Br. J. Surg.*, 1992; 79: 911—914.
16. Stiekema J.C.J., Wijnand H.P., Ten Cate H, et al. Partial in vivo neutralisation of plasma anticoagulant effects of Lomoparan (Org 10172) by protamine chloride. // *Thromb. Res.* 1991; 63: 157—167.
17. Turpie A.G.G., Gent M., Cote R., et al. A low-molecular-weight heparinoid compared with unfractionated heparin in the prevention of deep vein thrombosis in patients with acute ischemic stroke. // *Ann. Intern. Med.*, 1992; 117: 353—357.

Глава X. Прямые ингибиторы тромбина

С античных времен известно, что медицинские пиявки (*Hirudo medicinalis*) могут препятствовать свертыванию крови. После того, как пиявка отпадала, оставленная ею рана продолжала кровоточить. Значительно позже, в 1884 году, John B. Haycraft, сотрудник фармакологической лаборатории Smiedeberg в Страсбурге впервые продемонстрировал, что медицинские пиявки содержат специфическую субстанцию с антикоагулянтными свойствами, которая необходима пиявкам для поддержания жидкого состояния крови. В 1904—1905 гг. был получен активный экстракт из голов пиявок, который получил название «гирудин». Следует отметить, что до открытия гепарина это был единственный препарат для предупреждения свертывания крови. Полученный из пиявок экстракт содержал минимальное количество активной субстанции, а химическая природа субстанции все еще была не ясна, существующие же концепции антикоагулянтного механизма были ошибочными. Попытки изолировать антикоагулянтный агент и охарактеризовать точку его приложения увенчались успехом только благодаря достижениям в области биохимии свертывания крови. В 1950 г из слюны пиявок *Hirudo medicinalis* впервые был изолирована антикоагулянтная субстанция — гирудин — из перифарингиальных желез. Она была охарактеризована как специфический ингибитор тромбина с полипептидной структурой из 65 аминокислот и молекулярным весом около 7000 Да. С этого момента стали возможными дальнейшие исследования по применению препарата. Гирудин стал использоваться для диагностики целей в гемостазиологии. В последующие годы процедура выделения и очищения гирудина была модифицирована, в результате был проведен полный анализ аминокислот, составляющих гирудин. Исследования Markwards et al. показали, что вследствие отчетливо выраженного и специфического антитромботического эффекта гирудин является препаратом высокого качества, кроме того, он фармакологически инертен и хорошо переносится (высокая толерантность). Позднее были изучены вторичная и третичная структуры гирудина. Исследования кристаллографической структуры гирудин-тромбинового комплекса выявили энзим-ингибиторное взаимодействие на молекулярном уровне и подтвердили высокую аффинность и специфичность ингибитора. Молекулярная структура гирудина и его физико-химические характеристики были открыты в 1986 году Harwey et al. Характерной особенностью нативного гирудина является наличие трех дисульфидных мостиков в структуре полипептидной цепи. Несмотря на небольшие отличия в аминокислотной последовательности изоформ нативного гирудина, все они обладают схожей антикоагулянтной активностью.

С момента выделения нативного гирудина из пиявок появился и ряд сложностей. Во-первых, пиявки существуют в природе в ограниченном количестве, а для выделения достаточных количеств гирудина необходимы большие количества сырья. Следовательно, получить гирудин для терапевтических нужд не представлялось возможным, в связи с этим препараты нативного гирудина должны были иметь и высокую стоимость. Учитывая изложенные выше обстоятельства, возникла необходимость разработки синтетических аналогов гирудина.

Поскольку гирудин имеет довольно простую протеиновую природу, создание рекомбинантного синтетического гирудина не представило особой трудности. Ре-

комбинантный продукт проявил физико-химические и биохимические свойства, идентичные таковым нативного гирудина. Его структура отличается от структуры нативного гирудина отсутствием сульфатной группы у тирозина 63. Аффинность рекомбинантного гирудина к тромбину в 10 раз меньше, чем у нативной молекулы.

Гирудин специфически и обратимо связывается с тромбином, образуя 1:1 молярный комплекс, и нейтрализует его энзиматическую активность.

После внутривенной инъекции гирудин проявляет немедленный антикоагулянтный эффект, что отражается на значениях АЧТВ и ТВ в виде их удлинения. В основном гирудин экскретируется через почки в неизменной форме; время его полувыведения составляет 60—100 мин и зависит от почечного клиренса. Время полужизни может значительно удлиниться при конъюгации гирудина с молекулами с большой молекулярной массой, такими как полиэтилен-гликоль (PEG). PEG-гирудин имеет время полужизни 5—9 часов. Другой синтетический гирудин, гирулог, имеет более короткое время полужизни (около 36 минут), и его клиренс зависит от метаболизма в печени.

Целый ряд свойств гирудина предопределили дальнейшую разработку его синтетических аналогов:

1. Гирудин прямо ингибирует тромбин, то есть без взаимодействия с кофактором.
2. Он практически не иммуногенен.
3. Он не нейтрализуется другими физиологическими ингибиторами.
4. В отличие от гепарина, он ингибирует тромбин в составе сгустка, что чрезвычайно важно при терапии тромбоза.

Учитывая перечисленные выше свойства гирудина, следует отметить и отличия его от НМГ (табл. 55). В отличие от гепарина и НМГ, он не нуждается в присутствии кофактора АТ III. Гепарин и НМГ иммуногенны, так как могут образовывать комплексы с PF4 и быть причиной ГИТ II. Кроме того, в отличие от НГ и НМГ, гирудин способен ингибировать, как уже указывалось, связанный со сгустком тромбин. К специфическим «недостаткам» гирудина относится потенциальная предрасположенность к геморрагиям из-за способности прямо ингибировать тромбин, и тем самым, тромбин-индуцированную активацию тромбоцитов. К практическим недостаткам относится и отсутствие антидота.

Таблица 55.

Сравнительная оценка антитромботического/геморрагического эффектов прямых и непрямых ингибиторов тромбина.

Нефракционированный гепарин (НГ)	НМГ	Прямые ингибиторы тромбина
Ингибирует в одинаковой степени тромбин и FVII, в меньшей степени FIX и FXI	Ингибирует в основном FXa, в некоторой степени тромбин	Специфические эффективные ингибиторы тромбина
АТ III зависимый	АТ III зависимы	АТ III независимы
Нейтрализуется гепариназой, различными белками плазмы, PF4 и эндотелием.	Нейтрализуется гепариназой, слабое связывание с эндотелием	Нейтрализуются гепариназой, эндотелием, макрофагами, фибрин-мономерами и протеинами плазмы
Не инактивирует связанный со сгустком тромбин и FVII.	Не инактивируют связанный со сгустком тромбин и FVII.	Инактивируют связанный со сгустком тромбин.
Ингибирует функцию тромбоцитов.	Ингибирует функцию тромбоцитов.	Предотвращают тромбин-индуцированную агрегацию, но не влияют на другие тромбоцитарные агонисты.

Нефракционированный гепарин (НГ)	НМГ	Прямые ингибиторы тромбина
Индукцированная тромбоцитопения нередка.	Может индуцировать тромбоцитопению (редко).	Не индуцируют тромбоцитопению.
Биодоступность после п/к инъекций 30%	Биодоступность после п/к инъекции >90%.	Биодоступность после п/к инъекции 85%.
Плохой доза-эффект ответ.	Хороший доза-эффект ответ.	Хороший доза-эффект ответ.
Транзиторное увеличение энзимов печени характерно. Увеличивает сосудистую проницаемость	Возможно транзиторное увеличение энзимов печени. Не увеличивают сосудистую проницаемость.	Не токсичны для печени. Не увеличивают сосудистую проницаемость.

Гирудин фармакологически инертен и хорошо переносится *in vivo*.

По последним данным гирудин не пересекает гематоэнцефалический барьер, но обнаружен слабый переход через плаценту.

Как показали многочисленные исследования, фармакологические способности рекомбинантного гирудина весьма схожи с таковыми нативного гирудина. Это относится и к фармакодинамике, и к фармакокинетике.

Помимо выраженного антикоагулянтного эффекта, как уже указывалось, гирудин является фармакологически инертным и хорошо переносится. Эффект ингибиторов тромбина зависит *in vivo* от их уровня в крови, поскольку кровь не только является пассивным переносчиком, но и основным местом действия. Исследования фармакокинетики гирудина показали, что гирудин распространяется в экстрацеллюлярное пространство. При подкожном назначении пиковые уровни в плазме достигаются через 1—2 часа, период полувыведения 6—8 часов. Уровень абсорбции составляет 75%. После назначения терапевтических доз гирудина с интервалом 8 часов, кумулятивный эффект не наблюдается.

Большая часть препарата выводится из организма в неизменной форме через почки благодаря клубочковой фильтрации, что доказывает стабильность гирудина в крови и отсутствие его метаболизма в организме. У пациентов с почечной недостаточностью фазы выведения пролонгируются. Почечный клиренс гирудина значительно и линейно коррелирует с клиренсом креатинина. При двусторонней нефрэктомии время полувыведения гирудина удлиняется до 10 дней.

Как уже указывалось, антикоагулянтный механизм действия гирудина связан с прямым ингибированием тромбина (в том числе в составе сгустка), при этом энзиматическая активность тромбина подавляется. Таким образом, гирудин не только предотвращает образование фибриногена и, соответственно, формирование фибринового сгустка, но также тормозит другие катализируемые тромбином гемостатические реакции (рис. 71), такие как активация факторов свертывания V, VIII и XIII, тромбин-индуцированная агрегация тромбоцитов и реакция высвобождения. Поэтому мгновенная ингибция даже начальных малых количеств тромбина, образующегося в результате активации системы коагуляции, прерывает положительную обратную связь активации протромбина, что в нормальных условиях способствует акцелерации тромбина, и, тем самым, значительно замедляет тромбинообразование. Более того, важным эффектом является и то, что тромбин в комплексе с гирудином не способен связываться с АТ III, что можно отнести к «щадящему» в отношении важнейшего естественного антикоагулянта эффекту гирудина.

В зависимости от концентрации гирудина в крови коагуляция замедляется или полностью ингибируется. Влияние гирудина на глобальные общеоценочные ла-

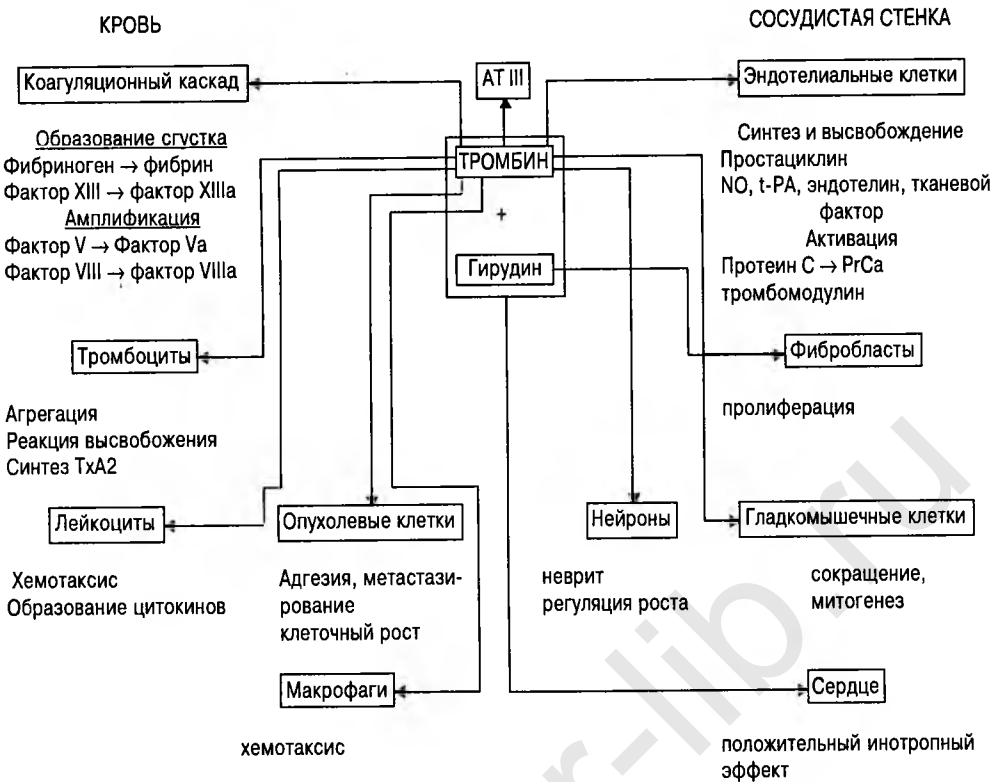


Рис. 71. Ингибирование гемостатических и негемостатических эффектов тромбина гирудином.

бораторные тесты не зависит от того, какой коагуляционный механизм преобладает: активация внутреннего пути (АЧТВ), внешнего пути (ПВ) или прямая активация тромбина (ТВ).

Важно отметить также, что после связывания с гирудином тромбин теряет свое «активирующее» действие на тромбоциты, тем самым на фоне терапии гирудином предотвращается тромбин-индуцированная агрегация тромбоцитов и реакция высвобождения и выброса частиц с высокой прокоагулянтной активностью. Более того, гирудин ингибирует тромбин-индуцированную стабилизацию тромбоцитарных агрегатов в процессе фибринообразования и перекрестного связывания фибрина.

Поскольку аффинность тромбина к своим рецепторам на поверхности мембран тромбоцитов выше, чем к субстрату — фибриногену — то, соответственно, и для ингибиции активации тромбоцитов необходимы большие концентрации гирудина, чем ингибиция свертывания.

Интересно отметить, что реакции тромбоцитов на агрегирующие субстанции (агонисты) различаются в гирудинизированной и цитратной плазме, особенно в отношении высвобождения серотонина и тромбоксана.

Особый интерес представляет влияние гирудина на взаимодействие тромбина и эндотелия. Гирудин ингибирует тромбин-индуцированный синтез и высвобождение некоторых медиаторов. При этом возможно снижение активации протеина С, поскольку тромбин, связывается с тромбомодулином.

Тромбин является агонистом различных проявлений клеточной активности. После комплексообразования с гирудином, тромбин лишается своих клеточных «негемостатических» эффектов, также как пролиферация фибробластов, сокращение и митогенез гладкомышечных и нервных клеток. Гирудин способен ингибиро-

вать вазоконстрикторное действие тромбина в деэндотелизированных сосудах и может, тем самым, ингибировать тромбогенез.

Клиническая привлекательность рекомбинантного гирудина обусловлена целым рядом факторов, связываемых с его фармакодинамикой и фармакокинетикой:

1. Высокоэффективный антикоагулянт, не требующий наличия эндогенного кофактора.
2. Фармакодинамически инертен, не действует на тромбоциты, протеины плазмы или ферменты, единственная мишень — тромбин.
3. Высокая биодоступность при подкожном введении, дозозависимый относительно длительный период полувыведения.
4. Не подвергается эндогенной модификации, не метаболизируется в печени. В активной форме выводится с мочой, не кумулируется в органах.
5. Не вызывает клинически выраженных нарушений свертывания (кровоточивости) в антитромботически активных дозировках.
6. Слабо иммуногенен.
7. Эффективен у пациентов с дефицитом АТ III. Может применяться у пациентов с тромбоцитопатией или тромбоцитопенией.
8. Легко воспроизводимые методы контроля терапии — АЧТВ или тромбиновое время.

Согласно последним клиническим исследованиям, гирудин и его аналоги вызывают геморрагические осложнения только при передозировке, то есть при назначении больших доз, чем требуется для достижения антитромботического эффекта. Это отличает гирудин от гепарина, который может индуцировать геморрагические осложнения параллельно с антитромботическим эффектом. Причиной является то, что гирудин и его аналоги не влияют на АДФ- и коллаген-индуцированный ответ тромбоцитов и не предотвращают адгезию тромбоцитов к субэндотелию в отличие от гепарина. Тем не менее, необходимы дальнейшие исследования, направленные на поиск эффективных и безопасных антидотов гирудина.

Препараты, рутинно применяемые для нейтрализации антикоагулянтного/геморрагического эффекта гепарина, не оказывают влияния на гирудин (табл. 56).

Таблица 56.

Антагонисты/антидоты гирудина и гепарина.

Вещество	Гепарин	Гирудин
Протамин-сульфат	+++	—
Фактор 4 тромбоцитов	+++	—
Полилизин	+++	—
γ-тромбин	—	+
Комплекс тромбин-α2-макроглобулин	—	+
Меизотромбин	—	++
Ацилированный тромбин	—	++

Основной подход в разработке оптимального антидота гирудина фокусируется на нейтрализации (связывании) молекул гирудина. Некоагулянтные формы тромбина-γ-тромбин, комплекс тромбин-α2-макроглобулин и меизотромбин, которые подвергаются быстрой аутокаталитической конверсии в тромбин, в некоторой степени нейтрализуют гирудин. Экспериментальные исследования де-

монстрируют, что для образования гирудин-тромбинового комплекса в этих ситуациях нет необходимости в наличии каталитических сайтов различных форм «некоагулянтного» тромбина: гирудин способен связываться с «сайт-блокированным» тромбином. В настоящее время рассматриваются возможности применения моно/поликлональных антител к гирудину в качестве антидотов. Однако в широкой практике, помимо указанных выше антидотов, чаще могут применяться дополнительные методы нейтрализации гирудина (табл. 57).

Таблица 57.

Дополнительные методы нейтрализации гирудина в крови.

Метод	Принцип метода
Гемодиализ Гемоперфузия	Выведение гирудина при перфузии
Гемосорбция Иммунсорбция	Адсорбция гирудина на иммобилизованном тромбине или антигирудиновых антителах
Обменная трансфузия	Снижение концентрации гирудина
Плазмаферез Заместительная терапия	Удаление плазмы, содержащей гирудин
Концентрат активированного протромбинового комплекса Рекомбинантный фактор VII	Нейтрализация гирудина генерируемым тромбином

Следует отметить, что, учитывая быстрый клиренс гирудина через почки, часто специальный антидот не требуется. В случаях нарушения выведения (почечная недостаточность) можно применять такие методы, как гемодиализ.

Внедрение гирудина и его аналогов в клиническую практику сопряжено с рядом проблем, и дальнейшие клинические исследования должны определить специфические показания для назначения гирудина и его аналогов и их дозировки. В настоящее время показаниями к применению этих ингибиторов тромбина являются:

1. Кратковременная профилактика послеоперационных тромбозов.
2. Купирование ДВС.
3. В качестве дополнительного антикоагулянта при тромболизисе.
4. Профилактика ретромбозов после тромболизиса или чрескожной транслюминальной коронарной ангиопластики (ЧТКА).
5. Антикоагуляция при гемодиализе и экстракорпоральной циркуляции крови.
6. Гепарин-индуцированные тромбоцитопения и тромбоз (ГИТ II).

Кроме того, возможно, гирудин будет препаратом выбора при кардиохирургических вмешательствах, в том числе при обходном шунтировании и трансплантации сердца. Дополнительно гирудин может использоваться для расширения антитромботических возможностей других антикоагулянтов или тромболитиков, особенно при тромболитической терапии инфарктов миокарда. Главная цель, которая при этом преследуется, ингибция тромбина, который выделяется из фибриновой сети при тромболизисе, так как выделение энзиматически активного тромбина под действием тромболитиков обуславливает раннюю реокклюзию коронарных сосудов после первично успешного их применения. Другой областью применения гирудина может стать производство катетеров, гемодиализных единиц и пр. с атромбогенной поверхностью. Это чрезвычайно важно, особенно для пациентов с ГИТ II в анамнезе.

Перспективным является и применение рекомбинантного гирудина (в частности «Рефлюдан») при терапии ГИТ II. Успешно применяется с этой целью и аргатробан, который уже разрешен для клинического использования в Японии.

Тем не менее, следует отметить, что после отмены гирудина и его аналогов может иметь место протромботический ребаунд-эффект, который проявляется резким повышением в плазме комплексов ТАТ и F1+2 протромбина, а в ряде случаев — тромбозами. Ребаунд-эффект может быть связан с резким повышением уровня предшественников тромбина — факторов свертывания, поскольку гирудин ингибирует исключительно тромбин. После же отмены прямого ингибитора тромбина начинается образование больших количеств тромбина из предшественников. Однако ребаунд-эффект чаще имеет место после применения больших доз гирудина и его аналогов. Поэтому применение прямых ингибиторов тромбина — гирудина и его аналогов требует контроля эффективности и безопасности (АЧТВ, ТВ, ТАТ, F1+2, D-димер).

Современная классификация прямых ингибиторов тромбина

Синтезированные на сегодняшний день прямые ингибиторы тромбина классифицированы на 3 группы:

I — бивалентные прямые ингибиторы тромбина (гирудин, гирулог).

II — обратимые ингибиторы тромбина (аргатробан, напсагатран, иногатран).

III — ковалентные ингибиторы тромбина (эфегатран, Corvas: cvs 1123, Du Pont Merck: Du P 714).

Бивалентные прямые ингибиторы тромбина

1. Гирудин.

Как выше уже указывалось, механизм антикоагулянтного действия гирудина заключается в образовании 1:1 нековалентного комплекса путем связывания с активным сайтом и фибриноген — связывающим сайтами тромбина.

Поскольку гирудин является полипептидом, он назначается парентерально: внутривенно, внутримышечно или подкожно.

Клинические исследования гирудина не показали его преимуществ в качестве адьювантной терапии при тромболитическом t-РА или стрептокиназой, по сравнению с гепарином (TIMI9B — Thrombolysis In Myocardial Infarction). Исследование НГТ III (Hirudin for Improvement of Thrombolysis), в котором использовался рекомбинантный гирудин Hoechst/Behringwerke было досрочно прервано из-за геморрагических осложнений в процессе тромболитического t-РА или стрептокиназой. Возможно, повышение частоты геморрагических осложнений было связано с неадекватно высокой дозировкой гирудина.

2. Гирулог.

Гирулог-1 является бивалентным пептидным ингибитором тромбина с меньшей молекулярной массой, чем гирудин. D-Phe-Pro-Arg N-конец гирудина связывает активный сайт, а гирудино—подобный C — конец (Asn-Gly-Asp-Phe-Glu-Glu-Ile-Pro-Glu-Glu-Tyr-Leu) связывает положительно заряженный анион-связывающий сайт тромбина.

Подобно гирудину, гирулог эффективен в экспериментальной модели тромбоза у животных и обладает сходными физическими и фармакокинетическими свойствами. По данным Cannon et al. (1993), гирулог проявил себя эффективным и безопасным антикоагулянтом у пациентов с болезнью коронарных сосудов, подвергшихся катетеризации сосудов сердца. В пилотном исследовании 20 пациентов с нестабильной стенокардией гирулог удлинял АЧТВ без развития геморрагических или иных осложнений в процессе 5-дневной инфузии препарата.

Клинические исследования II фазы, посвященные изучению заболеваемости ТГВ у ортопедических пациентов после больших операций на бедре, продемонстрировали значительное снижение частоты развития ТГВ у пациентов, получавших гирулог в дозе 1,0 мг/кг. При этом не отмечалось больших геморрагий. Кроме того,

гирулог показал себя эффективным и безопасным у пациентов, подвергшихся коронарной ангиопластике, а также в качестве препарата адьювантной терапии при лечении стрептокиназой пациентов с острым инфарктом миокарда.

Обратимые ингибиторы тромбина

Ингибиторы активного сайта, которые нековалентно связываются с энзимом, имеют преимущества перед бивалентными ингибиторами, заключающиеся в большей селективности и отсутствии зависимости эффекта от времени. Тем не менее, известные на сегодняшний день обратимые ингибиторы имеют короткое время полувыведения и плохую биодоступность при пероральном введении.

1. Аргатробан.

Впервые публикации о детальной структуре и активности деривата аргинина — аргатробана и его аналогов появились в 1970 году. Препарат был разработан исследователями Mitsubishi (Okamoto, Kikumoto et al.). Аргатробан является высокоселективным и обратимым ингибитором активного сайта тромбина; путь введения — парентеральный.

В эксперименте на животных аргатробан показал высокую эффективность при венозных и артериальных тромбозах, а также в сочетании с аспирином — при коронарном тромболлизисе: препарат предотвращал реокклюзию с минимальными геморрагическими осложнениями. Аргатробан, как и гирудин, эффективно блокирует тромбин в составе сгустка.

Аргатробан разрешен к применению в Японии, где выпускается под названиями «Novastan» и «Slonnon» компаниями Mitsubishi Kasei и Daiichi. Аргатробан лицензирован и в Европе компанией Synthelabo и находится в стадии клинического исследования при остром инфаркте миокарда, нестабильной стенокардии и коронарной ангиопластике. В США Novastan находится в фазе III клинического исследования, проводимого Texas Biotechnology у пациентов с ГИТ II. Хотя аргатробан демонстрирует высокую антикоагулянтную активность при внутривенном введении в сочетании с тромболитиками при ОИМ и повышает коронарную реперфузию на 52%, он также как и гирудин не лишен прокоагулянтного ребаунд-эффекта.

2. Напсагатран.

Исходя из наблюдений, что 1-амидинопиперидин обладает тромбин-ингибиторной активностью, исследователями компании Roche был создан другой селективный обратимый ингибитор тромбина напсагатран. Он находится в фазе II клинического исследования эффективности и безопасности в профилактике послеоперационных тромбозов и лечения тромбозов.

Напсагатран по сравнению с г-гирудином более эффективно блокирует коагуляцию через внутренний или внешний путь и значительно удлиняет время пикового уровня тромбина. Это может свидетельствовать, что этот ингибитор, представляющий собой небольшую молекулу, может быть эффективным в условиях повышенной вязкости крови и тромбинообразования. В отличие от г-гирудина или гепарина, напсагатран более селективен в отношении тромбина в составе сгустка, чем в отношении тромбина в жидкой фазе.

Учитывая вышеизложенное, следует ожидать, что обратимые ингибиторы тромбина, такие как напсагатран, могут быть более эффективны в клинических условиях, когда имеет место ускорение формирования тромбина и/или связанный с фибрином тромбин в составе сгустка, как при артериальном тромбозе или тромболлизисе.

Однако подобно аргатробану напсагатран также имеет низкую биодоступность при пероральном применении, хотя фармакокинетика и биодоступность напсагатрана при пероральном введении у человека ещё недостаточно изучены.

3. Иногатран.

Иногатран был разработан учеными и исследователями компании Astra путем алкилирования D-Phe-Pro-Agmatine концевго атома азота ацетатом, что вызывало изменения как структуры, так и функций молекулы. Иногатран является эффективным и обратимым ингибитором тромбина, который не метаболизируется и имеет время полувыведения около 1 часа у человека.

Тем не менее, клинические исследования II фазы по сравнению иногатрана и гепарина при нестабильной стенокардии показали меньшую активность иногатрана в снижении ишемических коронарных проявлений, в частности при терапии в течение 3 дней. Кроме того, отмена гепарина и иногатрана вызывала тромбоцитический ребаунд-эффект.

В преclinical исследованиях иногатран эффективно ингибировал венозный и артериальный тромбоз у крыс. Кроме того, иногатран не ингибировал фибринолиз в концентрациях > 40 М. В отличие от этого, электрофильческий боронат DuP 714 значительно ингибировал эндогенный фибринолиз в низких концентрациях, что иллюстрировало, возможно, разницу между двумя классами ингибиторов тромбина.

Биодоступность иногатрана при пероральном пути введения составляет 32—51% у крыс и 34—44% у собак. По предварительным данным, время полувыведения составляет около 2 часов у крыс и 1 час у собак, у человека также отмечено короткое время полувыведения.

Ковалентные ингибиторы тромбина

Электрофильческие ингибиторы тромбина представляют собой класс ингибиторов, не лишенных проблем токсичности. Кроме того, они недостаточно селективны и соответственно, возможно, недостаточно эффективны. Эти препараты химически лабильны и более селективно ингибируют трипсин по сравнению с тромбином.

1. Эфегатран.

Одним из наиболее изученных ковалентных ингибиторов тромбина является трипептидный альдегид эфегатран. Серия Д — фенилаланиновых трипептидных альдегидов была открыта Bajusz (Gedeon Richter) и в дальнейшем развита компанией Lilly. Трипептидный альдегид эфегатран значительно отличается по своим свойствам от обратимого ингибитора аргатробана относительно низкой селективностью по отношению к тромбину, по сравнению с другими сериновыми протеазами (трипсин, t-РА и пр.). Кроме того, эфегатран обладает фибринолитическим эффектом, что, возможно, в некоторой степени объясняет его эффективность при тромболизисе. Эфегатран дозо-зависимым способом удлиняет АЧТВ, ТВ и время свертывания цельной крови (ВСЦК). В модели венозного тромбоза эфегатран был в 5 раз менее эффективен, чем г-гирудин, и более эффективен, чем гепарин в модели артериального тромбоза. Биодоступность при пероральном введении эфегатрана у крыс и собак составляет 2,6 % и 30 % соответственно, время полувыведения при внутривенном введении — 13 и 35 мин. После подкожного введения время полувыведения у обезьян составляет 55 мин. Биодоступность при пероральном применении и время полувыведения у человека ещё не установлено.

Фаза II клинических исследований применения эфегатрана у пациентов с нестабильной стенокардией продемонстрировала быстрое дозо-зависимое удлинение АЧТВ при внутривенной инфузии, которое быстро возвращалось к исходному значению после отмены препарата. При инфузии как эфегатрана, так и гепарина наблюдалось развитие рекуррентной ишемии, также не отмечалось снижение частоты ишемических эпизодов. Дополнительные сообщения о возникновении тромбофлебита в связи с дозой не исключает возможность ребаунд-эффекта.

2. Корвас: cvs 1123.

Корвас получают из различных трипептидных альдегидных ингибиторов, содержащих Asp-Pro-Arg-H. cvs 1123 является эффективным ингибитором тромбина, содержащим липофильный C8 N — концевой амид, связывающийся с тромбином в области Д-фенилаланина. Подобно эфегатрану cvs 1123 является низкомолекулярным и «медленным» ингибитором; а также ингибитором тромбин — индуцированной агрегации тромбоцитов *in vitro* в высоких концентрациях. Препарат эффективен при коронарном тромбозе с удлинением АЧТВ в 1,5 — 2 раза. Фармакокинетика cvs 1123 у человека еще недостаточно изучена.

3. Du Pont Merck: Du P 714.

Du P 714 является бороаргининовым ингибитором тромбина, взаимодействующим с Ser 195 активного сайта тромбина, образуя ковалентный тетраэдрический комплекс. Препарат интенсивно изучается *in vitro* и *in vivo*. Электрофилический боронат обладает потенциальным фибринолитическим агентом, что может быть важно в ситуациях, когда активность плазмина критическая, например, при тромболлизе. Кроме того, гуанидин — содержащие боронаты являются «медленными» ингибиторами и тесно связываются тромбином, что создает известные проблемы эффективности.

В настоящее время разрабатывается аналог Du P 714.

Список литературы

1. Aoyagi T., Umezawa H. Structures and activities of protease inhibitors of microbial origin. In: Reich E, Rifkin DB, Shaw E, eds. *Proteases and Biological Control*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory, 1975:429—454.
2. Bagdy D., Szabo G., Barabas E., Bajusz S. Inhibition by D-MePhe-Pro-Arg-H (GYKI-14766) of thrombus growth in experimental models of thrombosis. // *Thromb. Haemost.* 1992; 68: 125—129.
3. Bajusz S., Barabis E., Fauszt I., et al. Active site-directed thrombin inhibitors: a-hydroxyacyl-prolyl-arginals. New orally active stable analogs of D-Phe-Pro-Arg-H. // *Bioorg. Med. Chem.* 1995; 3: 1079—1089.
4. Balasubramanian N., St. Laurent D.R., Federici M.E., et al. Active site-directed synthetic thrombin inhibitors: synthesis, *in vitro* and *in vivo* activity profile of BMY 44621 and analogs. An examination of the role of the amino group in the D-Phe-Pro-Arg-H series. // *J. Med. Chem.* 1993; 36: 300—303.
5. Banner D.W., Hadvary P. Crystallographic analysis at 3.0-Å resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. // *J. Biol. Chem.* 1991; 266: 20085—20093.
6. Bertina R.M., Koeleman B.P.C., Koster T., et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. // *Nature* 1994; 369:64—67.
7. Bode W., Turk D., Karshikov A. The refined 1.9-Å x-ray crystal structure of D-Phe-Pro-Arg chloro-methylketone-inhibited human α -thrombin: structure analysis, overall structure, electrostatic properties, detailed active-site geometry, and structure-function relationships. // *Protein Sci.* 1992; 1:426—471.
8. Brady S.F., Lewis S.D., Colton C.D., et al. Development of highly potent and selective α -keto-carbonyl inhibitors of thrombin with novel P₁ side chains. Synthesis and biological profile of L-370,518. In: Kaumaya PTP, Hodges RS, eds. *Peptides: Chem Bio Proc Am Pept Symp 14th*. Leiden, Netherlands, 1996:331—333.
9. Brady S.F., Sisko J.T., Stauffer K.J., et al. Amide and α -keto carbonyl inhibitors of thrombin based on arginine and lysine: synthesis, stability and biological characterization. // *Bioorg. Med. Chem.* 1995; 3: 1063—1078.

10. Cast A., Tschopp T.B., Schmid G., Hilpert K., Ackermann J. Inhibition of clot-bound and free (fluid-phase thrombin) by a novel synthetic thrombin inhibitor (Ro 46-6240), recombinant hirudin and heparin in human plasma. //Blood Coagul. Fibrin. 1994; 5: 879—887.
11. Cheng L., Goodwin C., Scully M.F., Kakkar V.V., Claeson G. Syntheses of substrate-related peptidyl phosphonate diphenyl esters as a new type of thrombin inhibitors. //Proceedings of 12th American Peptide Symposium on Peptides: Chemistry Biology, 1991, 822—823.
12. Cheng L., Goodwin C.A., Scully M.F., Kakkar V.V., Claeson G. Substrate-related phosphonopeptides, a new class of thrombin inhibitors. //Tetrahedron Lett. 1991; 32: 7333—7336.
13. Claeson G., Philipp M., Agner E., et al. Benzoyloxycarbonyl-D-Phe-Pro-methoxypropylboroglycine: a novel inhibitor of thrombin with high selectivity containing a neutral side chain at the P1 position. //Biochem. J. 1993; 290:309—312.
14. Dahlback B., Carlsson M., Svensson P.J. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993; 90:1004—1008.
15. De Nanteuil G., Gloanec P., Lila C., et al. New tripeptidic thrombin inhibitors. Influence of P2 and P3 residues on activity and selectivity. //Bioorg. Med. Chem. 1995; 3:1019—1024.
16. Eriksson B.I., Ekman S., Kalebo P., Zachrisson B., Bach D., Close P. Prevention of deep-vein thrombosis after total hip replacement: direct thrombin inhibition with recombinant hirudin, CGP 39393. //Lancet 1996; 347: 635—639.
17. Esmon N.L., Owen W.G., Esmon C.T. Isolation of a membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. //J. Biol. Chem. 1982; 257:859—864.
18. Gelb M.H., Abeles R.H. Substituted isatoic anhydrides: selective inactivators of trypsin-like serine proteases. //J. Med. Chem. 1986; 29:585—589.
19. Ginsberg J.S., Nurmohamed M.T., Gent M., et al. Use of hirulog in the prevention of venous thrombosis after major hip or knee surgery. //Circulation 1994; 90:2385—2389.
20. Gold H.K., Torres F.W., Garabedian H.D., et al. Evidence for a rebound coagulation phenomenon after cessation of a 4-hour infusion of a specific thrombin inhibitor in patients with unstable angina pectoris. //J. Am. Coll. Cardiol. 1993; 21: 1039—1047.
21. Håkansson K., Tulinsky A., Abelman M.M., et al. Crystallographic structure of a peptidyl keto acid inhibitor and human α -thrombin. //Bioorg. Med. Chem. 1995; 3: 1009—1017.
22. Han W.T., Trehan A.K., Wright J.J.K., Federici M.E., Seiler S.M., Meanwell N.A. Azetidin-2-one derivatives as inhibitors of thrombin. //Bioorg. Med. Chem. 1995; 3:1123—1143.
23. Hanson S.R., Marker L.A. Interruption of acute platelet-dependent thrombosis by the synthetic anti-thrombin D-phenylalanyl-L-prolyl-L-arginyl chloromethyl ketone. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1988; 85: 3184—3188.
24. Hilpert K., Ackermann J., Banner D.W., et al. Design and synthesis of potent and highly selective thrombin inhibitors. //J. Med. Chem. 1994; 37: 3889—3901.
25. Hogg P.J., Jackson C.M. Fibrin monomer protects thrombin from inactivation by heparin-antithrombin III: implications for heparin efficacy. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989; 86: 3619—3623.
26. Hogg P.J., Jackson C.M. Heparin promotes the binding of thrombin to fibrin polymer. Quantitative characterization of a thrombin-fibrin polymer-heparin ternary complex. //J. Biol. Chem. 1990; 265: 241—247.

27. Hotchkiss K.A., Chesterman C.N., Hogg P.J.. Inhibition of heparin activity in plasma by soluble fibrin: evidence for ternary thrombin-fibrin-heparin complex formation. // *Blood* 1994; 84: 498—503.
28. Iwanowicz E.J., Lau W.F., Lin J., Roberts D.G.M., Seiler S.M. Retro-binding tripeptide thrombin active-site inhibitors: discovery, synthesis, and molecular modeling. // *J. Med. Chem.* 1994; 37: 2122—2124.
29. Jackson C.V., Crowe V.G., Frank J.D., et al. Pharmacological assessment of the antithrombotic activity of the peptide thrombin inhibitor, D-methylphenylalanyl-prolyl-arginal (GYKI-14766), in a canine model of coronary artery thrombosis. // *J. Pharm. Exp. Therapeut.* 1992; 261: 546—552.
30. Jackson C.V., Wilson H.C., Grove V.G., Shuman R.T., Gesellchen P.D. Reversible tripeptide thrombin inhibitors as adjunctive agents to coronary thrombolysis: a comparison with heparin in a canine model of coronary artery thrombosis. // *J. Cardiovasc. Pharm.* 1993; 21: 587—594.
31. Jesty J. The kinetics of inhibition of a-thrombin in human plasma. // *J. Biol. Chem.* 1986; 261: 10313—10318.
32. Jetten M., Peters Co.A.M., Visser A., Grootenhuis P.D.J., van Nispen J.W., Ottenheijm H.C.J. Peptide-derived transition state analogue inhibitors of thrombin; synthesis, activity and selectivity. // *Bioorg. Med. Chem.* 1995; 3: 1099—1114.
33. Jones D.M., Atrash B., Ryder H., Teger-Nilsson A-C., Gyzander E., Szelke M. Thrombin inhibitors based on ketone derivatives of arginine and lysine. // *J. Enzyme Inh.* 1995; 9: 43—60.
34. Kaiser B., Hauptmann J., Weiss A., Markwardt F. Pharmacological characterization of a new highly effective synthetic thrombin inhibitor. // *Biomed. Biochim. Acta.* 1985; 44: 1201—1210.
35. Kam C-M., Fujikawa K., Powers J.C. Mechanism-based isocoumarin inhibitors for trypsin and blood coagulation serine proteases: new anticoagulants. // *Biochemistry* 1988; 27: 2547—2557.
36. Kam C-M., Gopher J.C., Powers J.C. Mechanism-based isocoumarin inhibitors for trypsin-like serine proteases involved in blood coagulation. // *J. Am. Chem. Soc.* 1987; 109: 5044—5045.
37. Kettner C., Mersinger L., Knabb R. The selective inhibition of thrombin by peptides of boroarginine. // *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 18289—18297.
38. Kettner C., Shaw E. D-PHE-PRO-ARGCH₂C₁-A selective affinity label for thrombin. // *Thromb. Res.* 1979; 14: 969—973.
39. Kettner C., Shaw E. Inactivation of trypsin-like enzymes with peptides of arginine chloromethyl ketone. In: Lorand L, ed. *Methods in Enzymology*, Vol. 80. Proteolytic Enzymes, Part C. New York: Academic Press, 1981: 826—842.
40. Lau H.K., Rosenberg R.D. The isolation and characterization of a specific antibody population directed against the thrombin-antithrombin complex. // *J. Biol. Chem.* 1980; 255: 5885—5893.
41. Lau W.F., Tabernero L., Sack J.S., Iwanowicz E.J. Molecular modeling studies of novel retro-binding tripeptide active-site inhibitors of thrombin. // *Bioorg. Med. Chem.* 1995; 3: 1039—1048.
42. Lewis S.D., Ng A.S., Baldwin J.J., Fusetani N., Naylor A.M., Shafer J.A. Inhibition of thrombin and other trypsin-like serine proteinases by cyclotheonamide A. // *Thromb. Res.* 1993; 70: 173—190.
43. Lewis S.D., Ng A.S., Lyle E.A., et al. Inhibition of thrombin by peptides containing lysyl-a-keto carbonyl derivatives. // *Thromb. Haemost.* 1995; 74: 1107—1112.

44. Maryanoff B.E., Qiu X., Padmanabhan K.P., et al. Molecular basis for the inhibition of human a-thrombin by the macrocyclic peptide cyclotheonamide A. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993; 90: 8048—8052.
45. Naski M.C., Fenton II J.W., Maraganore J.M., Olson S.T., Shafer J.A. The COOH-terminal domain of hirudin: an exosite-directed competitive inhibitor of the action of a-thrombin on fibrinogen. //J. Biol. Chem. 1990; 265: 13484—13489.
46. Naski M.C., Lorand L., Shafer J/A. Characterization of the kinetic pathway for fibrin promotion of a-thrombin-catalyzed activation of plasma factor XIII. //Biochemistry 1991; 30: 934—941.
47. Naski M.C., Shafer J.A. A kinetic model for the a-thrombin-catalyzed conversion of plasma levels of fibrinogen to fibrin in the presence of antithrombin complex. // J. Biol. Chem. 1991; 266:13003—13010.
48. Naski M.C., Shafer J.A. 6-Thrombin-catalyzed hydrolysis of fibrin I. Alternative binding modes and the accessibility of the active site in fibrin I-bound a-thrombin. //J. Biol. Chem. 1990; 265: 1401—1407.
49. Neises B., Broersma R.J., Tamus C., et al. Synthesis and comparison of tripeptidylfluoroalkane thrombin inhibitors. //Bioorg Med. Chem. 1995; 3: 1049—1061.
50. Owen W.G., Esmon C.T. Functional properties of an endothelial cell cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C. //J. Biol. Chem. 1981; 256:5532—5535.
51. Rai R., Katzenellenbogen J.A. Guanidinophenyl-substituted enol lactones as selective, mechanism-based inhibitors of trypsin-like serine proteases. //J. Med. Chem. 1992; 35:4150—4159.
52. Rees D.C., Cox M., Clegg J.B. World distribution of factor V Leiden. //Lancet 1995; 346: 1133—1134.
53. Ridker P.M., Hennekens C.H., Lindpaintner K., Stampfer M.J., Eisenberg P.R., Miletich J.P. Mutation in the gene coding for coagulation factor V and the risk of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis in apparently healthy men. // N. Engl. J. Med. 1995; 332:912—917.
54. Sail D.J., Kaiser Jr R.E. Characterization of the interaction between human a-thrombin and methyl 3-(2-methyl-1-oxoproxy)[1]benzothieno[3,2-fc]furan-2-carboxylate (LY806303) using electrospray mass spectrometry and tandem mass spectrometry. //J. Med. Chem. 1993; 36:2350—2355.
55. Shaw E. Synthetic protease inhibitors acting by affinity labeling. In: Proteases and Biological Control, Cold Spring Harbor Conferences on Cell Proliferation, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1975:455—465.
56. Shuman R.T., Rothenberger R.B., Campbell C.S., Smith G.F., Gifford-More D.S., Gesellchen P.D. Highly selective tripeptide thrombin inhibitors. //J. Med. Chem. 1993; 36: 314—319.
57. Simoons M., Lenderink T., Scheffer M., et al. Efgatran, a new direct thrombin inhibitor: safety and dose response in patients with unstable angina. //Circulation 1994; 4(Pt 2): 1—231.
58. Sims P.J., Wiedmer T., Esmon C.T., Weiss H.J., Shattil S.J. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane. Studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. // J. Biol. Chem. 1989; 264:17049—17057.
59. Størzebecher J., Markwardt F., Voight B., Wagner G., Walsmann P. Cyclic amides of Na-arylsulfonyl-aminoacylated 4-amidinophenylalanine—tight binding inhibitors of thrombin. //Thromb. Res. 1983; 29: 635—642.
60. Suzuki K., Stenflo J., DahlbSck B., Teodorsson B. Inactivation of human coagulation factor V by activated protein C. //J. Biol. Chem. 1983; 258:1914—1920.

61. Tabernero L., Chang C.Y.Y., Ohringer S.L., et al. Structure of a retro-binding peptide inhibitor complexed with human α -thrombin. //J. Mol. Biol. 1995; 246:14—20.
62. Tapparelli C., Metternich R., Ehrhardt C., Cook N.S.. Synthetic low-molecular weight thrombin inhibitors: molecular design and pharmacological profile. //TIPS 1993; 14:366—376.
63. Teger-Nilsson A-C., Eriksson U., Gustafsson D., Bylund R., Fager G., Held P. Phase I studies on inogatran, a new selective thrombin inhibitor //J. Am. Coll. Cardiol. 1995; February Special Issue: 117A, 931—935.
64. Theroux P., Waters D., Lam J., Juneau M., McCans J.. Reactivation of unstable angina after the discontinuation of heparin. //N. Engl. J. Med. 1992; 327: 141—145.
65. Topol E.J., Bonan R., Jewitt O., et al. Use of a direct antithrombin, hirulog, in place of heparin during coronary angioplasty. //Circulation 1993; 87:1622—1629.
66. Topol E.J., Puster V., Harrington R.A., et al. Recombinant hirudin for unstable angina pectoris. //Circulation 1994; 89: 1557—1566.
67. van den Bos A.A., Deckers J.W., Heyndrickx G.R., et al. Safety and efficacy of recombinant hirudin (COP 39 393) versus heparin in patients with stable angina undergoing coronary angioplasty. //Circulation 1993; 88: 2058—2066.
68. Vehar G.A., Davie E.W. Preparation and properties of bovine factor VIII (anti-hemophilic factor). //Biochemistry 1980; 19:401—410.
69. Wakselman M., Mazaleyrat J.P., Lin R.C., et al. Design, synthesis and study of a selective cyclopeptidic mechanism-based inhibitor of human thrombin. In: Hodges RS, Smith JA, eds. Peptides: Chemistry, Structure and Biology. Leiden: Escom, 1994:646—648.
70. Walker F.J., Sexton P.W., Esmon C.T. The inhibition of blood coagulation by activated protein C through the selective inactivation of activated factor V. // Biochim. Biophys. Acta. 1979; 571: 333—342.
71. Wang C-L.J., Taylor T.L., Mical A.J., Spitz S., Reilly T.M. Synthesis of phosphonopeptides as thrombin inhibitors. //Tetrahedron Lett. 1992; 33:7667—7670.
72. Weber P.C., Lee S-L., Lewandowski F.A., Schadt M.C., Chang C-H., Kettner C.A. Kinetic and crystallo-graphic studies of thrombin with Ac-(D)Phe-Pro-boroArg-OH and its lysine, amidine, homolysine, and omithine analogs. //Biochemistry 1995; 34: 3750—3757.
73. Wiley M.R., Chirgadze N.Y., Clawson D.K., et al. Serine protease selectivity of the thrombin inhibitor D-phe-pro-argmatine and its homologs. //Bioorg. Med. Chem. 1995; 5: 2835—2840.
74. Willerson J.T., Casscells W. Thrombin inhibitors in unstable angina: rebound or continuation of angina after argatroban withdrawal? //J. Am. Coll. Cardiol. 1993; 21: 1048—1051.

Глава XI. Ингибиторы функции тромбоцитов

История открытия и применения антитромбоцитарных препаратов, как и множества других противотромботических препаратов, включает «эмпирический» этап и «научный», когда впервые была синтезирована салициловая кислота.

Применяемый вначале как эффективный анальгетик, антипиретик и противовоспалительный агент, аспирин широко используется на сегодняшний день в лечении острого инфаркта миокарда для профилактики кардиоваскулярных и цереброваскулярных заболеваний.

Еще 3500 лет назад египетские врачи применяли примочки, приготовленные из сухих миртовых листьев для лечения абдоминальных болей. Тысячу лет назад Гиппократ назначал экстракт из коры ивы для лечения лихорадки и обезболивания родов. Американские индейцы также применяли кору ивы в качестве анальгетика. В Европе интерес к экстрактам ивовой коры стал интенсивно проявляться с 1800 года, что, в конце концов, привело к синтезу активного вещества — салициловой кислоты.

Хотя в литературе имеются указания, что впервые аспирин (ацетилсалициловая кислота, ASA) был синтезирован в 1853 году, принято считать, что все же впервые его синтезировал немецкий химик Felix Hoffmann (компания Bayer AG). Felix Hoffmann работал в лаборатории «Friedrich Bayer and Company» в Вупперталь (Германия), и мотивацией синтеза активного вещества коры ивового дерева — ацетилсалициловой кислоты — отчасти явилось желание найти лучше переносимый заменитель салициловой кислоте для его отца, который страдал жесточайшими болями из-за деформирующего артрита и больше не мог принимать салициловую кислоту вследствие выраженного побочного эффекта — рвоты.

В течение многих лет аспириновый порошок и таблетки оставались наиболее часто прописываемыми и наиболее продаваемыми лекарствами в Европе и США. Чтобы подчеркнуть, что препарат не имеет побочных эффектов на сердце, Bayer в свое время провозгласил: «Препарат не влияет на сердце». Сегодня можно опровергнуть эти слова: препарат «влияет на сердце», оказывая положительный эффект в лечении кардиоваскулярных заболеваний.

Несмотря на огромные исследовательские работы по улучшению антитромбоцитарной терапии, аспирин все еще остается препаратом выбора в клинической практике. Его клиническая эффективность, в частности в предотвращении артериального тромбоза (АТ), отсутствие больших побочных эффектов и низкая стоимость делают его «золотым стандартом», с которым сравниваются новые препараты. За последние десятилетия только несколько препаратов можно считать потенциальной альтернативой аспирину — тиклопидин и простаглицлин. Однако даже здесь есть свои минусы: тиклопидин имеет серьезный побочный эффект (гранулоцитопения), а длительное применение простаглицлина ограничивается из-за короткого периода полувыведения, высокой стоимости и побочных эффектов.

Ингибция тромбогенной активности тромбоцитов может быть достигнута путем:

1. ингибции адгезии тромбоцитов к субэндотелию;
2. ингибции взаимодействия тромбоцит-тромбоцит через адгезивные протеины (в частности фибриноген);

3. ингибции тромбоксанового пути в тромбоцитах;
4. ингибции специфических рецепторов тромбоцитов (рис. 72);
5. ингибции тромбина.

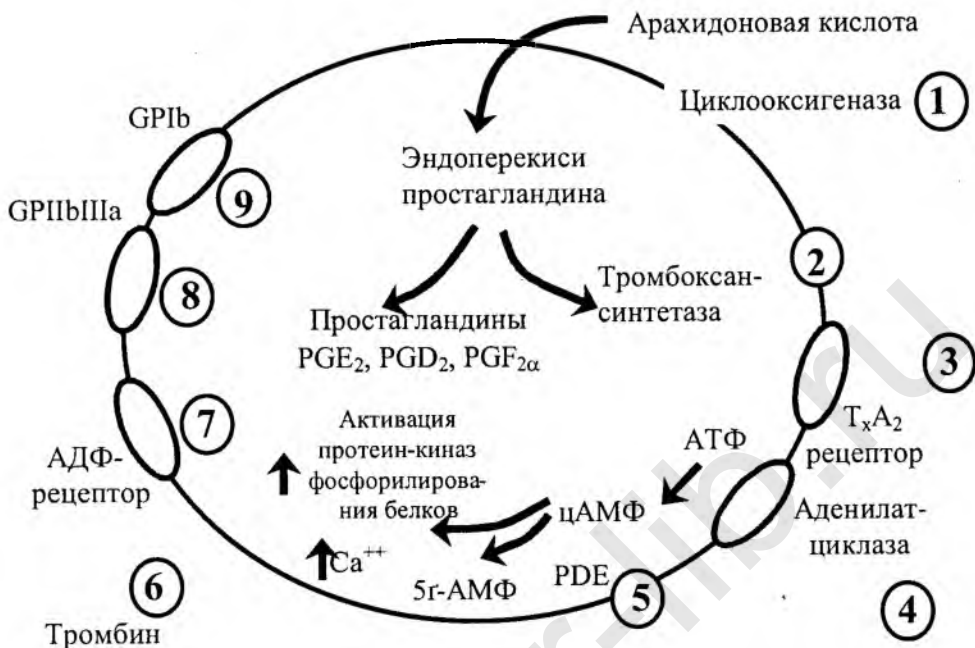


Рис. 72. Основные мишени антитромбоцитарных препаратов.

1. Аспирин и нестероидные противовоспалительные препараты.
2. Дезоксиген и аналоги имидазола.
3. ВМ 13177.
4. PGE1 или аналоги простаглицлина.
5. Дипиридабол.
6. Ингибиторы тромбина (гепарин, гирудин, антиромбин).
7. Тиклопидин.
8. Моноклональные антитела или пептиды, непосредственно действующие против GPIIb/IIIa.
9. Ингибиторы рецепторов ФВ (GPIb).

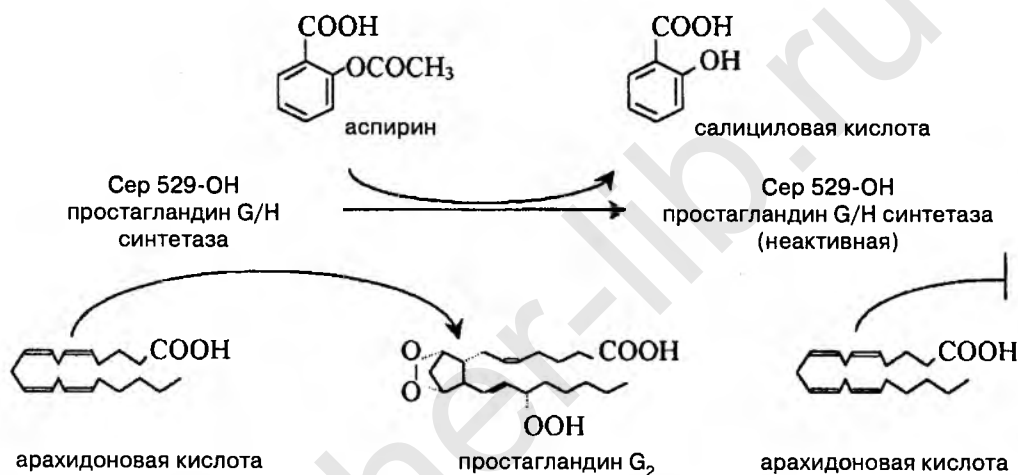
Ингибиторы циклооксигеназы тромбоцитов

В медицинскую практику аспирин был внедрен в 1899 году. Препарат проявлял различные эффекты в зависимости от дозы: анальгезирующий, жаропонижающий, противовоспалительный и антиромбоцитарный. Позднее стало известно, что антиромбоцитарный эффект проявляется при дозе 30—75 мг, анальгезирующий и жаропонижающий — при 300 мг, а противовоспалительный — при 2000 мг и более (4000—5000 мг). Более того, эти эффекты различаются и по длительности действия — от нескольких часов до нескольких дней. От этого зависит частота приема: раз в день — для антиромбоцитарного эффекта и 4—6 раз — для анальгезирующего или противовоспалительного. Во многом указанный феномен аспирина связан с уникальным механизмом действия аспирина и периодом жизни в организме.

Аспирин вызывает длительный функциональный дефект тромбоцитов, который клинически проявляется удлинением времени кровотечения. Это происходит в первую, если не в исключительную очередь, из-за временной инактивации ас-

пирином ключевого фермента арахидонового метаболизма в тромбоцитах — простагландин H-синтетазы (ПГ-H), которая ответственна за образование ПГ-H2 — предшественника тромбоксана A2 (ТХА2). В тромбоцитах ТХА2 обеспечивает усиление активизирующего сигнала, так как синтезируется и высвобождается в ответ на различные агонисты тромбоцитов (коллаген, аденозин дифосфат (АДФ), тромбоцит-активирующий фактор, тромбин), что в свою очередь вызывает необратимую агрегацию.

Аспирин селективно ацетилирует гидроксильную группу одного серинового остатка в позиции 529 (Сер529) внутри полипептидной цепи тромбоцитарной ПГ-H-синтетазы (рис. 73). Этот энзим проявляет 2 различные каталитические активности: циклооксигеназную (СОХ-1), участвующую в образовании ПГГ2 и гидропероксидазную, участвующую в связывании 2 электронов 15-гидропероксильной группы PGG-2, в результате чего формируется ПГ-H2 (СОХ-2). Через О-ацетилирование Сер529 с помощью аспирина утрачивается циклооксигеназная активность, в то время как гидропероксидазная активность не нарушается.



Аспирин ацетилирует гидроксильные группы серина в позиции 529 в полипептидной цепи тромбоцитарной простагландин G-H-синтетазы. В результате инактивируется ее циклооксигеназная каталитическая активность. Результатом аспирина-индуцированной блокады синтеза простагландина G-2 является уменьшение биосинтеза простагландина H-2 и тромбоксана A-2.

Рис. 73. Механизм антитромбоцитарного действия аспирина.

Поскольку из-за образования ковалентной связи циклооксигеназа необратимо инактивируется, антитромбоцитарный эффект аспирина «держится» еще в среднем 10 дней после его отмены, пока в циркуляции не появляются новые, «неаспиринизированные» тромбоциты. Как уже указывалось, недавно была идентифицирована новая «индуцируемая» форма ПГ-H-синтетазы — ПГ-H2 или СОХ-2. Для угнетения циклооксигеназной активности СОХ-2 необходимы более высокие концентрации аспирина, чем для ингибции СОХ-1. Возможно, отчасти этим обстоятельством объясняется различие в требуемых дозах для анальгезирующего и противовоспалительного эффектов по сравнению с антитромбоцитарным эффектом препарата.

Снижение же образования различных эйкозаноидов (ТХА-2, ПГ-E2, ПГ-I2) в различных тканях, возможно, объясняет и варибельность фармакологических эффектов аспирина, и формирует основу как терапевтических эффектов, так и токсичности. Поскольку инактивация аспирином ПГH-синтетазы необратима, синтез фермента *de novo* требует восстановления образования эйкозаноидов. Данный процесс может происходить в течение нескольких часов в ядерных клетках (например, эндотелиоцитах), но не в тромбоцитах, которые произошли в

результате фрагментации мегакариоцитов и способность к синтезу белков у них минимальна. Таким образом, длительность различных эффектов (тромбоцитарных и нетромбоцитарных) значительно варьирует — от нескольких часов до нескольких дней.

Существует мнение, что помимо антитромбоцитарного эффекта, аспирин обладает и другими механизмами противотромботического действия. Так, он может ацетилировать другие протеины, включая лизиновые остатки фибриногена, хотя в больших концентрациях и в течение более длительного периода времени, чем это требуется для ацетилирования COX-1. N-ацетилированный фибриноген облегчает активацию плазминогена и менее эффективен в поддержании агрегации тромбоцитов, чем неизмененный фибриноген. Однако следует еще установить необходимую для такого ответа дозу и клиническую приемлемость дополнительных эффектов аспирина. Высокие концентрации ($>0,1$ mM) аспирина и салицилата натрия могут проявлять и другие эффекты *in vitro*, включая угнетение синтеза ДНК и индуцированную оксидом азота (NO) транскрипцию в фибробластах, роль этих процессов *in vivo* еще не совсем ясна.

При применении аспирина *per os*, он быстро всасывается частично уже в желудке, но в основном — в верхнем отделе тонкого кишечника. Недиссоциированный жирорастворимый аспирин всасывается путем пассивной диффузии. Кроме того, он гидролизуется желудочными и тощейкишечными эстеразами и потому частично всасывается как салицилат. Такой метаболизм обуславливает различную биодоступность, которая зависит от приема жидкости и пищи. Системная биодоступность при регулярном приеме таблетированного аспирина — 40—50% при дозировке от 20 до 1300 мг. Таблетки с энтеральным покрытием и микроинкапсулированные препараты имеют биодоступность значительно ниже. Таким образом, различные фармакологические формы могут доставлять небольшие концентрации или вообще не доставлять аспирин в системную циркуляцию. Однако так как ацетилирование тромбоцитарной циклооксигеназы происходит в пресистемной циркуляции, антитромбоцитарный эффект практически не зависит от системной биодоступности. Как инкапсулированные, постепенно высвобождаемые формы, так и трансдермальные формы аспирина с очень низкой системной биодоступностью разработаны для достижения селективного угнетения продукции TxA₂ без подавления системного синтеза PGI₂ (простациклина).

Всасываясь в виде сложного эфира, аспирин быстро гидролизуется в салицилат в плазме, печени, легких и эритроцитах. Период полувыведения салицилата зависит от дозы и колеблется от 2 до 12 часов.

Далее салицилат в основном метаболизируется в салицилмочевую кислоту (глициновый конъюгат), в простой эфир или феноловый глюкуронид, и в сложный эфир или ацилглюкуронид. Экскретируются салицилаты почками.

При пероральном приеме аспирин угнетает продукцию TxA₂ и TxA₂-зависимую функцию тромбоцитов дозо- и время-зависимым способом. Прямое угнетение активности циклооксигеназы происходит уже после приема однократной дозы в 10—100 мг. Этот ответ обнаруживается не только у здоровых волонтеров, но и у больных атеросклерозом.

Уровень TxB₂ в сыворотке значительно снижается уже через 5 минут после перорального приема. Так как в течение этого времени аспирин еще не определяется в периферической венозной крови, ацетилирование циклооксигеназы в течение этих 5 минут, возможно, происходит в пресистемной циркуляции. Уровень TxB₂ в сыворотке максимален между 30—60 минутами после перорального приема аспирина и остается стабильным в течение 24 часов, что указывает на необратимую ингибицию фермента. Также было отмечено, что после приема единичной дозы аспирина восстановление неацетилированной тромбоцитарной циклооксигеназы и ферментной активности не происходит еще 48 часов. Двухдневная задержка возвращения фермента в циркуляцию указывает на то, что аспирин ацетилирует циклооксигеназу в мегакариоцитах.

Вследствие необратимой инактивации фермента и «запоздалого» синтеза его в тромбоцитах *de novo*, ацетилирование циклооксигеназы и последующее угнетение продукции ТхА2 низкими дозами аспирина имеет кумулятивный эффект при повторных дозах.

Дозо-зависимые эффекты аспирина исследуются в настоящее время весьма интенсивно. Так, по данным Fitzgerald (1998), агрегация тромбоцитов в ответ на АДФ наиболее значительно уменьшается при дозах аспирина 20—80 мг/день. При увеличении дозы в течение двух недель (1300 и 2600 мг/день соответственно) агрегационный ответ возвращается к контрольному уровню, несмотря на продолжающееся угнетение синтеза ТхА2. Результаты исследования позволили предположить, что в процессе длительной терапии высокими дозами аспирина происходит ацетилирование других мембранных протеинов тромбоцитов (помимо циклооксигеназы), что может, вероятно, способствовать агрегации тромбоцитов.

По данным De Caterina (1999), суточное назначение 50 мг аспирина пациентам с заболеваниями коронарных артерий вызывало биохимические и функциональные изменения, которые не отличались от таковых при суточной дозе 324 мг. Единственное отличие заключалось в скорости достижения антитромбоцитарного эффекта (снижение циклооксигеназной активности тромбоцитов более чем на 95%) при этих дозах: для достижения такого эффекта при низких дозах аспирина необходимо несколько дней. Однако этот «недостаток» низких доз аспирина может быть устранен назначением первой нагрузочной дозы (120 мг), после чего поддерживающая доза может составлять 30—50 мг/день.

Несмотря на успехи, достигнутые в понимании многих эффектов аспирина *in vivo*, вопрос о дозировках остается спорным. Существуют теоретические и практические соображения о выборе минимально эффективных доз аспирина. Теоретически необходим выбор дозы, которая вызывала бы эффективный антитромбоцитарный эффект за счет угнетения циклооксигеназной активности тромбоцитов и не влияла бы на синтез Pgl2 (простациклина). Мнение о том, что низкие дозы аспирина отвечают этим требованиям, в настоящее время подвергается сомнению. Однако попытка идентифицировать дозовый режим аспирина с ингибцией ТхА2, но без ингибции Pgl2 дала противоречивые результаты, что, вероятно, было связано с неоднородностью условий *in vivo* и *ex vivo* при измерении продукции Pgl2. Возможно, значение так называемой «аспириновой дилеммы» преувеличено, так как реально продукция Pgl2 не страдает *in vivo* на фоне одноразового приема в сутки аспирина. Это связано с тем, что 24-часовой перерыв достаточен для полного восстановления циклооксигеназной активности (COX-1) в эндотелиальных клетках сосудов, а также, вероятно, с индукцией эндотелиальной COX-2 в ответ на активацию тромбоцитов.

Несмотря на дискуссионность вопросов дозировки аспирина, тем не менее, считается, что доза аспирина, необходимая для угнетения агрегации тромбоцитов у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями должна быть выше, чем у здоровых; кроме того, она может варьировать для одного и того же пациента со временем.

Для обозначения недостаточного угнетения агрегации тромбоцитов рядом исследователей используется термин «аспириновая недостаточность» или «аспиринорезистентность». Однако следует учитывать, что при интерпретации данных измерений функции тромбоцитов возможны:

- А) индивидуальная (субъективная) вариабельность измерений агрегации;
- Б) недостатки при назначении препарата (неправильный выбор дозы);
- В) взаимодействие с другими лекарственными средствами, потенциально предотвращающими ацетилирование циклооксигеназы тромбоцитов аспирином.

Последнее наиболее актуально у пожилых пациентов, которые помимо аспирина получают другие нестероидные противовоспалительные препараты по другим причинам (артриты и пр.).

Последние контролируемые исследования показали недостаточный анти-тромбоцитарный эффект аспирина у почти 10% амбулаторных пациентов с ишемическими цереброваскулярными заболеваниями, что стало причиной разработки следующих режимов дозирования аспирина при различных сосудистых нарушениях (таблица 58).

Таблица 58.

Режим дозирования аспирина при различных сосудистых нарушениях.

Патологическое состояние	Минимально эффективная ежедневная доза (мг)
Стабильная стенокардия	75
Нестабильная стенокардия	75
Острый инфаркт миокарда	160
Транзиторная ишемическая атака и ишемический мини-инсульт	50
Острый ишемический инсульт	160

Конечно, остается пока открытым и требует дальнейших исследований вопрос об эффективности терапии аспирином и влиянии на блокаду тромбоцитарного и нетромбоцитарного синтеза простаноидов. Это подтверждает хотя бы тот факт, что у некоторых пациентов с нестабильной стенокардией при в/в режиме введения аспирина отмечается повышенная экскреция метаболитов ТхВ2. Возможно, это связано с экстратромбоцитарным биосинтезом ТХА2, включая индуцируемую экспрессию СОХ-2 в моноцитах и макрофагах.

Помимо аспирина ТхА2-зависимую функцию тромбоцитов может угнетать ряд нестероидных противовоспалительных препаратов. Однако, в отличие от аспирина, они ингибируют синтез ТхА2 посредством конкурентного обратимого угнетения циклооксигеназы. При использовании традиционных противовоспалительных доз эти препараты угнетают тромбоцитарную циклооксигеназу лишь на 70—85%, что недостаточно для антитромбоцитарного эффекта. Среди всех известных обратимых ингибиторов циклооксигеназы (сульфинпиразон, трифлузан, индобуфен и пр.) лишь индобуфен является эффективным ингибитором циклооксигеназной активности тромбоцитов. Его биохимические, функциональные и клинические эффекты сравнимы с таковыми для стандартных доз аспирина. Так, терапевтический уровень в плазме, достигаемый после перорального приема 200 мг 2 раза в сутки, угнетает циклооксигеназу более чем на 95%. Также уменьшается экскреция метаболитов тромбосана в той же степени, что и при аспирине. Тем не менее, хотя в нашей стране этот препарат входит в число антитромбоцитарных, в США ни один из обратимых ингибиторов циклооксигеназы не одобрен для применения в качестве антитромбоцитарного препарата.

Тх-синтетаза — фермент, катализирующий синтез ТхА2 из его предшественника, P_gH₂. Селективные ингибиторы этого фермента имеют, по крайней мере, два теоретических преимущества над ингибиторами циклооксигеназы в качестве потенциальных антитромботических агентов. Во-первых, они не ингибируют метаболизм P_gH₂ через другие изомеразы и формирование основных эйкозаноидов (P_gH₂ в сосудах, слизистой желудка и корковом слое почек и P_gE₂ в слизистой желудка и мозговом веществе почек). Во-вторых, P_gH₂, который аккумулируется в тромбоцитах в результате блокады Тх-синтетазы, может перемещаться в эндотелиоциты и служить там субстратом для P_gI₂-синтетазы в месте взаимодействия тромбоцита с сосудистой стенкой, процесс этот назван эндоперекисным обкрадыванием или трансклеточным метаболизмом. Действительно, селективное угнетение биосинтеза ТхА2 совпадает с повышением уровня P_gI₂

in vivo после кратковременного приема дазоксибена или CGS 13080 здоровыми людьми.

Однако, несмотря на привлекательность идеи применения ингибиторов тромбосан-синтетазы в качестве антитромбоцитарных препаратов, предварительные результаты использования их в экспериментальных моделях тромбоза у животных оказались противоречивыми. В связи с этим многие фармацевтические компании прекратили клинические испытания этих препаратов. Неоднозначные результаты исследований были обусловлены, с одной стороны, тем, что они не всегда были связаны с ТхА2-зависимым феноменом. Кроме того, неадекватная фармакокинетика исследуемых препаратов в результате вновь возобновляемого синтеза ТхА2 в промежутке времени между очередными дозами препаратов также может быть причиной неоднозначных результатов. И, наконец, «замещение» биологических эффектов ТхА2 на эффекты P_gH2 на общих тромбоцитарных и сосудистых рецепторах также может иметь при этом значение (вазодилататорный эффект).

Рецептор ТхА2/P_gH2 (TP) является протеин G-содержащим рецептором, который при лигандной стимуляции ведет к активации фосфолипазы C и последующему повышению внутриклеточной концентрации инозитол 1,4,5-трифосфата, диацилглицерола и Ca²⁺ (глава I). Эндотелиальные TP-рецепторы, известные как TP, и тромбоцитарные/плацентарные рецепторы, называемые также TP, уже удалось получить путем альтернативного сплайсинга. В настоящее время разработаны антагонисты TP-рецепторов с пролонгированным эффектом (период полувыведения > 20 часов) GR23191, BMS-180291 (интерферон). Несмотря на антитромботическую и «кардиопротективную» активность, которую эти препараты показали в эксперименте, результаты дальнейших исследований оказались также противоречивым. На этом основании клиническая разработка GR23191 и супотробана была прекращена.

В настоящее время разрабатываются препараты, сочетающие свойства и ингибиторов тромбосан-синтетазы, и антагонистов TP. Единственный такой препарат ридогрел пока находится в стадии доклинических исследований и пока не оправдал ожиданий.

Ингибиторы фосфодиэстеразы

Дипиридамо́л (курантил) является дериватом пиримидопиримидина и обладает сосудорасширяющими свойствами. Обнаружено, что он угнетает агрегацию тромбоцитов в цельной крови в более низких концентрациях, чем в плазме, однако механизмы антитромбоцитарного эффекта все еще остаются спорными.

В качестве возможных антитромбоцитарных механизмов в настоящее время рассматриваются:

- а) угнетение тромбоцитарной фосфодиэстеразы — фермента, расщепляющего цАМФ до 5-АМФ, в результате чего происходит накопление цАМФ в тромбоцитах;
- б) блокада аденозина на уровне А2-аденозиновых рецепторов тромбоцитов, что стимулирует тромбоцитарную аденилат-циклазу.

Среди других возможных механизмов внимания заслуживают и другие концепции. Так, существуют данные о прямой стимуляции синтеза простаглицина. Однако необходимые для этого концентрации значительно превышают нижний молекулярный уровень в плазме, который достигается после перорального приема обычной дозы (100—400 мг/день).

Недавно появились данные, что дипиридамо́л потенцирует угнетение функции тромбоцитов оксидом азота (NO) через влияние на фосфодиэстеразу тромбоцитов и расщепление ц-ГМФ. Более того, дипиридамо́л может проявлять антиоксидантные свойства и ингибировать окисление ЛНП.

Абсорбция препарата весьма вариабельна, и часто является причиной низкой системной биодоступности препарата. В настоящее время синтезирована модифицированная форма дипиридамо́ла с улучшенной биодоступностью. Выводится препарат из организма в основном путем билиарной экскреции в

форме конъюгатов — глюкуронидов. Максимальное время полувыведения составляет около 10 часов.

Клиническая эффективность дипиридамола, применяемого изолированно или в сочетании с аспирином оценивалась на основе результатов рандомизированных исследований. В настоящее время большинство исследователей склоняются к мысли, что дипиридамола не обладает достаточным антитромбоцитарным и противотромботическим эффектом, если применяется в качестве монотерапии, в то же время комбинация с аспирином весьма эффективна.

Следует отметить, что поскольку дипиридамола обладает и вазодилатирующими свойствами, его «любят» использовать в акушерстве, в том числе и при гестозе, фетоплацентарной недостаточности и внутриутробном страдании плода. Однако, к сожалению, часто применяемые дозы слишком малы, чтобы обеспечить желаемый терапевтический эффект.

Возможно, другие положительные эффекты дипиридамола играют не менее важную роль для применения его в акушерстве — антиоксидантный и, по некоторым данным, иммуномодулирующий, что важно в терапии и профилактике гестозов, внутриутробной задержки развития плода и пр. Однако и здесь сочетание его с низкими дозами аспирина представляются более предпочтительными, поскольку помимо достаточного антитромбоцитарного эффекта, присутствуют непосредственные эффекты низких доз аспирина — полноценный рост и созревание плаценты (через индукцию синтеза интерлейкина-3). А, учитывая, что уже появилась улучшенная форма дипиридамола (Персантин Ретард), то и сочетание его с низкими дозами аспирина, по-видимому, будет более успешным не только в акушерстве, но и других клинических дисциплинах.

Тиклопидин (тиклид) и клопидогрел (плавикс) — структурно родственные тиенопиридины (рис. 74), обладающие свойством селективно угнетать АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов, предотвращать экспрессию рецепторов фибриногена (GPIIb-IIIa), не оказывая при этом прямого влияния на метаболизм арахидоновой кислоты. Они могут также угнетать агрегацию тромбоцитов, индуцированную коллагеном и тромбином, но эти эффекты исчезают при повышении концентрации соответствующих агонистов.

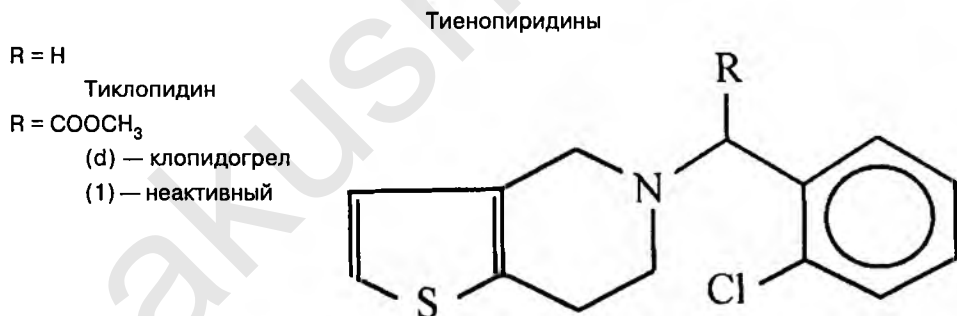


Рис. 74. Химическая структура тиклопидина и клопидогрела.

Предполагают, что тиклопидин и клопидогрел вызывают необратимые изменения АДФ-рецепторов тромбоцитов посредством угнетения аденилатциклазной активности. Для осуществления антитромбоцитарного эффекта *in vivo* необходима трансформация этих препаратов в активные метаболиты в печени. Однако молекулярные характеристики метаболитов остаются все еще недостаточно изученными. Также не изучены в достаточной мере молекулярные мишени дериватов тиклопидина и клопидогрела.

После однократного перорального приема 90% дозы препарата всасывается, а пик концентрации в плазме приходится на 1—3 часа после приема однократно

250 мг. При приеме дважды в день в течение 2—3 недель отмечается кумулятивный эффект. Более 98% тиклопидина обратимо связывается с белками плазмы, в основном с альбумином. Тиклопидин быстро метаболизируется в печени с образованием активных метаболитов (уже обнаружено 13 метаболитов). Из них наиболее активным ингибитором АДФ-индуцированной агрегации является 2-кето-derivat.

Период полувыведения тиклопидина составляет 24—36 часов после однократного перорального приема и 96 часов — при 14-дневном приеме дважды в день. Обычно рекомендуемый режим приема тиклопидина — 250 мг дважды в день. При отмене препарата тромбоцитарная функция восстанавливается медленно.

Основные побочные эффекты тиклопидина — угнетение функции костного мозга, сыпь, диарея. Нейтропения развивается примерно у 1% больных, получающих тиклопидин.

Синергичный эффект тиклопидина и аспирина стал основой применения комбинации этих препаратов при чрезкожной транслюминальной ангиопластике в качестве адьювантной терапии. Тиклопидин является альтернативой аспирину у больных с так называемой аспирином-резистентностью. Фармакокинетика клопидогрела несколько отличается от тиклопидина. Так, неизменный клопидогрел не обнаруживается в периферической крови после приема однократной дозы (< 200 мг) или повторных доз (< 100 мг ежедневно). Основным метаболитом клопидогрела является derivat карбоксильной кислоты, SR26334. Период полувыведения SR26334 составляет около 8 часов. Хотя клопидогрел не проявляет активности *in vitro*, *in vivo* он трансформируется печенью в ингибитор тромбоцитов неизвестной структуры с очень коротким периодом полувыведения.

Угнетение агрегации тромбоцитов отмечается уже через 2 часа после приема 400 мг клопидогрела и остается стабильной в течение 48 часов. При ежедневном приеме 50—100 мг препарата угнетение агрегации происходит на 2-й день и достигает устойчивого уровня после 4—7 дней. У тиклопидина, по сравнению с клопидогрелом, более отсроченный эффект.

Фармакодинамика клопидогрела весьма схожа с таковой аспирина: для обоих характерна кумуляция эффекта угнетения функции тромбоцитов при ежедневном приеме низких доз. Как и в случае аспирина, функция тромбоцитов возвращается к исходной через 7 дней после последнего приема препарата. Как «наполнение» эффектов угнетения, так и медленное восстановление функции тромбоцитов можно объяснить действием активных составляющих этих препаратов (ацетилсалициловая кислота в случае аспирина и неизвестный метаболит в случае клопидогрела). Они вызывают временный дефект в белках тромбоцитов, который не может быть восстановлен в течение 24 часов между приемами препарата и может быть возмещен только после полного оборота тромбоцитов. Это, в свою очередь, оправдывает режим однократного приема в сутки для обоих препаратов, несмотря на короткий период полувыведения в крови.

Согласно последним широким клиническим исследованиям, эффективность клопидогрела и аспирина в предотвращении основных сосудистых осложнений у больных ишемическим инфарктом миокарда или ишемическим инсультом одинакова для обоих препаратов.

Частота нейтропении при приеме клопидогрела ниже, чем у тиклопидина и составляет около 0,05%. В то же время частота тяжелой сыпи и диареи выше у клопидогрела, чем у аспирина.

После того как стало известно, что экспрессия функционально активных гликопротеиновых рецепторов GPIIb-IIIa на поверхности тромбоцитов представляет собой финальный общий путь активации тромбоцитов вне зависимости от характера активирующего стимула, внимание исследователей привлекла перспектива эффективного угнетения функции тромбоцитов путем блокирования этого рецептора.

Ингибиторы GPIIb-IIIa включают моноклональные антитела, естественные RGD-содержащие пептиды из ядов змей, а также синтетические RGD-содержащие пеп-

тиды, пептидоподобные и непептидные RGD-миметики. Комплекс гликопротеин IIb-IIIa является членом семейства рецепторов, именуемых интегринами (см. главу I); эти рецепторы распознают последовательность аргинин-глицин-аспартат (RGD-последовательность), которая присутствует, в том числе в составе адгезивных протеинов, таких как фибриноген и др.

Ингибиторы GPIIb-IIIa, называемые дисинтегринами, также содержат последовательность Arg-Gly-Asp (или Lys-Gly-Asp) и блокируют адгезивную функцию Arg-Gly-Asp-зависимых интегринов, включая тромбоцитарный рецептор фибриногена. Дисинтегрины, в основном, представлены пептидами, получаемыми из яда гадюк: это триграмин, батистатин, эхистатин, кистрин. В стадии изучения находятся и другие дисинтегрины — интегрилин, тирафибан и ламифибан, которые являются синтетическими пептидами.

Первые клинические испытания дисинтегринов оказались неудачными из-за их иммуногенности и склонности к транзиторной тромбоцитопении. Кроме того, RGD-содержащие дисинтегрины не обладают интегриновой специфичностью и потому ингибируют адгезивные функции других RGD-зависимых интегринов. Исключением является дисинтегриновый пептид барбурин, который в составе RGD-последовательности содержит Lys (K) вместо Arg (R) и потому высоко специфичен для GPIIb-IIIa.

Уже синтезированы пептиды — ингибиторы GPIIb-IIIa с RGD и KGD-последовательностями, которые, обладая циклической конфигурацией, проявляют высокую аффинность к GPIIb-IIIa. К таким препаратам относятся МК-852 и интегрилин. Последний вызывает и глубокую (более 80%) супрессию АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов.

Поскольку тромбоцитарные GPIIb-IIIa могут быть подавлены моноклональными антителами, был разработан препарат (мышино-человеческая химера) 7E3Fab (abciximab, ReoPro). После болюсной инъекции 7E3Fab отмечается дозо-зависимое угнетение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов со средним и высоким риском ишемических осложнений при проведении чрезкожной транслюминальной ангиопластики (ЧТКА). При болюсе 0,25 мг/кг происходит блокада 80% рецепторов тромбоцитов, а агрегация в ответ на 20мМ АДФ уменьшается более чем на 20% от исходного уровня. Пик блокады рецепторов агрегации тромбоцитов и времени кровотечения был отмечен через 2 часа после болюсного введения 0,25 мг/кг. Время кровотечения, равно как и функция тромбоцитов, возвращаются к исходному уровню через 12 часов. В настоящей время используется режим болюсного назначения 0,25 мг/кг 7E3Fab с последующей 12-часовой инфузией 10 мг/мин для профилактики ишемии у пациентов, подвергшихся ЧТКА в качестве дополнительной терапии к традиционной антитромботической.

Хотя основной механизм успешного предотвращения сосудистой окклюзии с помощью 7E3Fab — подавление агрегации тромбоцитов, не исключена возможность, что препарат может потенциально угнетать формирование тромба через уменьшение образования тромбина. Так, было обнаружено, что 7E3Fab дозо-зависимо угнетает образование тромбина: плато угнетения на 45—50% достигается при концентрации 15 мг/мл.

Несмотря на перспективность применения антагонистов GPIIb-IIIa, все еще нерешенными остаются некоторые проблемы. Во-первых, необходимо уточнить оптимальный уровень блокады GPIIb-IIIa-рецепторов, который совместим с наибольшей эффективностью (по сравнению с аспирином) и приемлемым риском кровотечения в процессе длительного приема. Во-вторых, доступные в настоящее время маркеры эффективности (АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов) и безопасности (время кровотечения при скарификации кожи) не отвечают соответствующим целям. В-третьих, жесткая дозо-зависимость эффектов требует регуляции дозы и необходимость постоянного мониторинга.

Хотя помимо указанных выше существует ряд других препаратов с потенциальным антитромбоцитарным эффектом (табл. 59), ни один из них в настоящее

время не попал на рынок как антитромбоцитарный препарат (возможно, за исключением Японии), а процесс развития лекарственных средств изменился в сторону более обещающих подходов.

Таблица 59.

Другие препараты с антитромбоцитарным эффектом.

Действующее вещество	Механизм антитромбоцитарного действия	Сосудистые эффекты
Активаторы аденилат-циклазы (аналоги Pgl ₂)	Увеличение цАМФ	Вазодилатация
Активаторы гуанилат-циклазы (доноры оксида азота)	Увеличение цАМФ	Вазодилатация
Ингибиторы фосфоди-эстеразы III (циклостазол)	Увеличение цАМФ	Вазодилатация
Антагонисты ФАТ ^а	Уменьшение ФАТ-индуцированной агрегации	Различные
Омега-3 жирные кислоты	? изменение состава мембран	Небольшое уменьшение АД
Витамин Е	? РСК ^б -зависимый механизм	Предотвращает эндотелиальную дисфункцию

Примечание: ^а — фактор активации тромбоцитов;

^б — протеин С киназа.

Некоторые простаноиды (PGE₁, PGE₂) и аналоги простаноидов (илопрост, бартрапрост, циростен и др.) могут повышать уровень тромбоцитарного цАМФ и угнетать функцию тромбоцитов. Серьезными ограничениями их использования, однако, являются сопутствующая периферическая вазодилатация и короткий период полувыведения в системной циркуляции.

Доноры оксида азота (NO) также потенциально могут угнетать активацию тромбоцитов через увеличение уровня цГМФ. Они представлены разнообразной группой препаратов. Впервые эффект донора NO S-нитрозоглутатиона *in vitro* был описан у беременных с тяжелым гестозом и при острых коронарных синдромах. Терапия сопровождалась заметными гемодинамическими нарушениями. Потенциальные ингибиторы фосфодиэстеразы также разрабатывались как потенциальные ингибиторы тромбоцитов. Представитель этого класса препаратов циклостазол одобрен в Японии для терапии периферических заболеваний артерий. Спектр фармакологических эффектов этого препарата довольно широк — это бронходилататор и бронхопротектор *in vivo*.

Омега-3-полиненасыщенные жирные кислоты, возможно, также влияют на функцию тромбоцитов. Тем не менее, нет убедительных доказательств того, что они уменьшают активацию тромбоцитов *in vivo*, однако они могут оказывать антиатерогенный эффект путем уменьшения цитокин-индуцированной экспрессии проатерогенных и провоспалительных белков в эндотелиоцитах.

И, наконец, альфа-токоферол при пероральном назначении может угнетать агрегацию тромбоцитов посредством протеин-киназа-С-зависимого механизма. Это может означать успешное применение витамина Е в предотвращении инфаркта миокарда среди пациентов с ИБС. Фармакологические дозы витамина Е могут влиять на тромбоциты, также как и на эндотелиоциты, посредством других механизмов, возможно, через угнетение окисления ЛПНП и уменьшение неферментативной пероксидации арахидоновой кислоты в биоактивный изопростан.

Клиническое применение антитромбоцитарных препаратов

Тромбоциты, как уже указывалось, играют ключевую роль в поддержании нормального гемостаза, и в случае структурных и/или функциональных дефектов способствуют развитию геморрагической тенденции. Тем не менее, в современном индустриальном мире тромбозы, в частности, артериальные, стали представлять более значительную проблему, чем кровотечения. Нарушения иммунной системы, появление новых лекарственных препаратов, экономические проблемы, гиподинамия, курение, ожирение, прогресс в области сосудистой хирургии и пр. атрибуты современности способствовали резкому росту сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе тромбозов и тромбоцических осложнений. При этом функция тромбоцитов стала одним из важнейших определяющих факторов в возникновении тромбозов, в основном, артериальных — в условиях высокого кровотока. Поэтому необходимость в применении антитромбоцитарных препаратов и их совершенствовании в настоящее время не вызывает сомнений.

Тромбоцитарные «белые» тромбы характерны для артериальной циркуляции, в особенности коронарных артерий. Они обнаруживаются при ряде синдромов, таких как АФС, ГИТ-II и патологических состояний (реокклюзии сосудов, искусственные клапаны сердца и пр.). О наличии богатых тромбоцитами тромбов свидетельствует и прямая ангиоскопия у пациентов с ИБС, а также повышение уровня маркеров активации тромбоцитов у пациентов с коронарной ишемией и после баллонной дилатации сосудов, у беременных с ИКС.

Успешность противотромботической терапии подразумевает анализ всех возможных факторов риска и механизмов развития тромбоза и в большинстве случаев применение помимо антитромбоцитарных других противотромботических препаратов.

В клинической практике антитромбоцитарные препараты используются, как правило, при лечении заболеваний артериальных сосудов и/или первичной или вторичной профилактики тромбозов. Таким образом, применение антитромбоцитарных препаратов в клинической практике ставит следующие цели:

1. ингибция прогрессирования атеросклеротического повреждения сосудистой стенки или, в идеале, регресс повреждений;
2. предотвращение тромбоцических осложнений атеросклероза; этот эффект достигается сочетанием антикоагулянтов с антитромбоцитарными препаратами;
3. повышение перфузии в ишемических или преишемических участках как через вазодилатацию, так и повышение кровотока за счет улучшения реологических свойств крови; данная задача крайне актуальна и при профилактике, и при лечении плацентарной недостаточности, гестозов, задержки внутриутробного развития плода.

Чтобы коротко охарактеризовать основные механизмы действия антитромбоцитарных препаратов в лечении острых сосудистых проявлений, следует еще раз подчеркнуть, что тромбоциты и их дериваты играют критическую роль в возникновении таких проявлений, как инфаркт миокарда и ишемический инсульт, не вдаваясь в подробности анализа причин (АФС, синдром «липких тромбоцитов» и др. факторы).

К примеру, нарушение целостности богатой тромбоцитами и фибрином атеросклеротической бляшки ведет к более «агрессивной» депозиции тромбоцитов и образованию, в итоге, тромба, что клинически может проявляться острым инфарктом миокарда (ИМ) или ишемическим инсультом. Эффективность аспирина в лечении и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний в большой степени обусловлена способностью небольших доз необратимо ацетилировать активные сайты циклооксигеназы, что ведет к снижению продукции простагландинов и ТХА₂ — мощного промотора агрегации тромбоцитов. Тромбоциты являются прекрасной мишенью для антитромботической терапии, поскольку не имеют ядра и потому не могут ресинтезировать циклооксигеназу, а потому эффект длится столь долго, сколько «живут» в кровотоке «аспиринизированные» тромбоциты.

Другой возможный механизм положительного эффекта аспирина также значителен. Аспирин способен блокировать синтез циклооксигеназа-зависимых вазоконстрикторных факторов, которые усугубляют эндотелиальную дисфункцию в условиях повреждения эндотелия, что имеет место не только при атеросклерозе, но и широком круге других заболеваний и патологических состояний (острый атероз при гестозе, эндотелиопатия вследствие гипергомоцистеинемии, циркуляции АФА, герпес-вирусной инфекции и пр.), снижает воспалительный ответ и способствует ингибции прогрессирования атероза и атеросклероза, предотвращая окисление липопротеидов низкой плотности.

Первые сообщения о возможности применения аспирина при сердечно-сосудистых заболеваниях стали публиковаться в 50-х годах прошлого столетия. Врач из Калифорнии Lawrence Craven, отметил геморрагические осложнения после применения препарата «Aspergum» — жевательной формы аспирина — для купирования болей после тонзиллэктомии. Он предположил, что данный эффект снижения свертываемости крови можно использовать для профилактики ИМ. В неконтролируемом исследовании 8000 пациентов Craven получил успешные результаты с аспирином.

Позже в контролируемых исследованиях были получены неоднозначные результаты. Исследования «случай-контроль» нефатального ИМ демонстрировали протективный эффект аспирина у мужчин и женщин, тогда как другие исследования свидетельствовали об отсутствии связи между приемом аспирина и фатальными ИМ.

Исследования Nurses Health Study эффективности первичной профилактики кардиоваскулярных заболеваний у 87678 женщин в течение 6 лет показали, что прием до 7 таблеток в неделю аспирина на 32% снижал риск первого эпизода ИМ, что соответствовало результатам исследований у мужчин. Тем не менее, не было обнаружено связи со снижением риска смерти в результате кардиоваскулярных нарушений и инсульта.

Следует заметить, что ни одно из проводимых исследований не лишено недостатков, поскольку в больших исследованиях нередко не учитываются важные факторы, которые могут влиять на результаты. Тем не менее, результаты большинства трайлов свидетельствуют, что терапия аспирином на 25% снижает риск развития инсульта у пациентов групп высокого риска.

Метаанализ 25 трайлов, проведенный Antiplatelet Trialist's Collaboration демонстрирует, что антитромбоцитарная терапия в качестве вторичной профилактики на 32% снижает риск последующего ИМ, на 27% — риск нефатального инсульта, на 15% — риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний и на 25% сосудистые проявления, включающие нефатальный ИМ, нефатальный инсульт и «сосудистую» смерть. Результаты всех исследований по вторичной профилактике свидетельствуют, что повышение дозы аспирина не увеличивает эффективность профилактики, но повышает частоту побочных эффектов.

Основные побочные эффекты аспирина включают «малые» гастроинтестинальные симптомы, такие как тошнота, изжога, диспепсия, и более серьезные, к которым относятся появление пептической язвы и гастроинтестинальные кровотечения. Кроме того, у небольшого процента людей возможна непереносимость аспирина, которая может проявиться опасным для жизни бронхоспазмом (так называемая «аспириновая астма»).

Основные побочные эффекты аспирина являются дозо-зависимыми. Так, рандомизированное исследование 2435 пациентов с ТИА или малыми инсультами (United Kingdom TIA trial), принимавших аспирин в дозе 300 или 1200 мг/день, продемонстрировало, что частота осложнений была выше в группе, получающей аспирин, чем в группе, получающей плацебо, и ниже в группе, получающей 300 мг аспирина в день, чем в группе, где пациенты получали 1200 мг аспирина в день.

Таким образом, аспиринотерапия низкими дозами (75—325 мг) безопасна и применима для широкого круга пациентов.

Что касается применения новых антитромбоцитарных препаратов, то последние исследования свидетельствуют, что они могут быть эффективнее аспирина или повышать его эффективность при одновременном назначении.

Как уже указывалось, тиклопидин ингибирует агрегацию тромбоцитов непосредственно через влияние на мембрану тромбоцитов, независимо от эффектов простагландинов.

Согласно данным Canadian-American Ticlopidine Study прием по 250 мг тиклопидина дважды в день снижал относительный риск повторных инсультов, ИМ и смерти на 24,1%. Однако ни в одном из исследований ни один антиагрегант, применяемый в качестве монотерапии не снижал смертность от кардиоваскулярных заболеваний (ни аспирин, ни тиклопидин, ни клопидогрел, ни, тем более, дипиридамола).

В то же время, несмотря на большую эффективность тиклопидина и клопидогрела в качестве вторичной профилактики у пациентов с ТИА и инсультами, частота побочных эффектов выше (диарея, нейтропения). Большие надежды в настоящее время возлагаются на сочетание аспирина с тиклопидином или клопидогрелом.

Назначение наряду с аспирином антикоагулянтов повышает риск геморрагических осложнений. Оптимальная профилактика рецидивов инсультов, ИМ и снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в настоящее время интенсивно изучается.

Одним из новых подходов в антитромбоцитарной терапии является разработка ингибитора взаимодействия тромбоцитарного рецептора GPIIb/IIIa с фактором фон Виллебранда (vWF), поскольку пристальное внимание исследований приковано к молекулярным механизмам патологического тромбообразования в стенозированных атероматозных артериях.

Адгезия тромбоцитов к коллагену — основному компоненту субэндотелиальной ткани — является начальным этапом тромбообразования. После адгезии тромбоциты активируются и в результате циркулирующие тромбоциты начинают аккумулироваться в области активированных адгезированных тромбоцитов, формируя тромбоцитарные массы. В случае патологического тромбообразования в артериальных сосудах, тромбоциты адгезируются на субэндотелии после нарушения целостности атеросклеротической бляшки, а последующая аккумуляция тромбоцитов в этой области ведет к закупорке просвета сосуда. Как правило, этот процесс происходит в условиях высокого кровотока, характерного для артериальных сосудов.

Согласно гипотезе Yasno Ikeda et al. циркулирующий vWF связывается с коллагеновой поверхностью поврежденной сосудистой стенки, когда тромбоциты обратимо связываются с иммобилизованным vWF через GPIIb/IIIa. В результате тромбоциты «задержанные» фактором фон Виллебранда могут успешно взаимодействовать с коллагеном через $\alpha_2\beta_1$ -интегрин, активируются, что ведет к реакции высвобождения и выбросу субстанций с прокоагулянтной активностью, что, в конечном счете, ведет к тромбообразованию (рис. 75).

В условиях высокого «повреждающего» кровотока агрегация тромбоцитов возможна даже в отсутствии таких агонистов, как АДФ или адреналин. Механизм агрегации, индуцированной высоким повреждающим кровотоком (80—100 дин/см) уникален. vWF является ключевой молекулой-триггером агрегации, формируя в присутствии фибриногена комплексы с GPIIb/IIIa и GPIIb/IIIa.

Модель механизма агрегации тромбоцитов в условиях «повреждающего» высокого кровотока, наиболее вероятно, следующая (по Ikeda, Nauda et al.): 1. vWF не может самостоятельно образовывать стабильную связь с GPIIb, хотя взаимодействие vWF-GPIIb является необходимым условием агрегации тромбоцитов, индуцированной повреждающим высоким кровотоком; 2. vWF стабильно связывается с поверхностью тромбоцитов через GPIIb/IIIa после кратковременного взаимодействия с GPIIb или конкурентного связывания с GPIIb/IIIa и GPIIb; 3. активация GPIIb/IIIa в условиях высокого кровотока, которая необходима для связывания vWF с тромбоцитами, отличается от таковой под действием агонистов, таких как

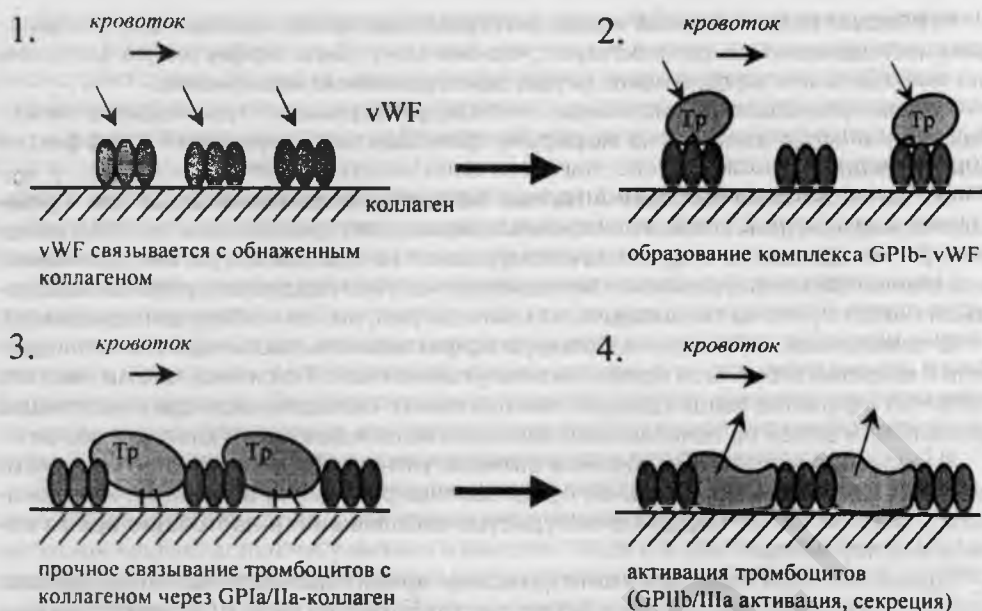


Рис. 75. Механизм связывания тромбоцитов с коллагеном в условиях высокого кровотока.

тромбин. Так, антитела против GPIIb/IIIa, которые способны ингибировать связывание vWF с агонист-активированными тромбоцитами, не ингибируют связывание vWF с тромбоцитами в условиях повреждающего кровотока.

Важным вопросом является, каким образом повреждающий кровоток влияет на агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов. Для ответа на этот вопрос японские исследователи изучили влияние моноклональных антител против GPIb/V/IX, GPIIb/IIIa и vWF на агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов в условиях низкого и высокого кровотока. В условиях низкого кровотока агрегация полностью блокировалась антителами против GPIIb/IIIa, но не антителами против GPIb/V/IX или vWF. И, наоборот, в условиях высокого кровотока антитела против GPIb/V/IX или vWF ингибировали агонист-индуцированную агрегацию тромбоцитов, что свидетельствовало о важной роли взаимодействия vWF-GPIb в условиях высокого кровотока.

Индукцированная высоким повреждающим кровотоком агрегация тромбоцитов повышается у пациентов с острым ИМ в течение 6 часов после появления первых симптомов, что коррелирует с уровнем vWF. В свете последних данных становится понятным, почему повышенный уровень vWF в плазме является фактором риска ишемической болезни сердца. По данным Uchiyama et al. индуцированная высоким повреждающим кровотоком агрегация тромбоцитов значительно повышается при атеротромботическом инсульте и транзиторных ишемических атаках, и почти не изменяется при других типах инсультов (лакунарных, кардиоэмболических).

Исходя из приведенной выше гипотезы агрегации тромбоцитов в условиях высокого кровотока в артериях, весьма перспективным представляется применение препаратов, ингибирующих связывание vWF с GPIb. Недавно был разработан препарат — человеческие моноклональные антитела против A1-домена vWF (AJvW-2), который эффективно ингибирует взаимодействие vWF-GPIb. В условиях высокого кровотока AJvW-2 значительно ингибирует адгезию тромбоцитов к коллагену. Индуцированная высоким повреждающим кровотоком агрегация ингибируется дозо-зависимо как *in vitro*, так и *in vivo*. Eto et al. обнаружили, что AJvW-

2 ингибирует повышенную агрегацию тромбоцитов в условиях высокого повреждающего кровотока у пациентов с острым коронарным синдромом.

AJvW-2 был исследован на предмет антитромботического эффекта на модели мезентериального артериального тромбоза у животных. Сравнивались эффекты AJvW-2 и ламифибана (ингибитора GPIIb/IIIa). Было обнаружено, что оба ингибитора замедляли окклюзию сосудов дозо-зависимым способом, хотя AJvW-2 проявлял более выраженный ингибиторный эффект. Чрезвычайно важно, что эффективные дозы AJvW-2 значительно не удлиняли время кровотечения, в то время как ламифибан пролонгировал как время окклюзии сосуда, так и время кровотечения.

Таким образом, блокада взаимодействия vWF-GPIb представляется в настоящее время более предпочтительной, чем GPIIb/IIIa с точки зрения современных представлений о тромбообразовании в условиях артериального высокого кровотока и данных первых экспериментальных и клинических исследований. Кроме того, меньшие геморрагические тенденции AJvW-2, наряду с выраженным антитромботическим эффектом, возможно сделают препарат в будущем наиболее приемлемым в лечении и профилактике кардиоваскулярных заболеваний.

В акушерской практике антитромбоцитарные препараты (аспирин, дипиридамола) широко применяются. До появления и активного внедрения в акушерскую практику НМГ в Западных странах для лечения АФС и профилактики тромботических осложнений и репродуктивных потерь, с целью пролонгирования беременности давно стал применяться аспирин в малых дозах наряду с низкими дозами гепарина (10 000 Ед гепарина + 75—81 мг аспирина в сутки). Дальнейшие исследования показали, что аспирин в низких дозах способствует синтезу интерлейкина-3 — важного гуморального фактора роста и развития плаценты.

Долгое время акушеры избегали применения аспирина в первом триместре беременности, опасаясь возможного тератогенного эффекта. Однако согласно последним исследованиям низкие дозы аспирина (75—81 мг) не обладают подобным эффектом. Возможно, этим объяснялось широкое применение дипиридамола, однако как уже указывалось, для достижения выраженного антитромбоцитарного эффекта необходимы высокие дозы препарата (250—400 мг/день), которые обычно вызывают коллаптоидные реакции. Тем не менее, у беременных с гестозом и гиперактивацией тромбоцитов высокие дозы дипиридамола весьма показаны, так как одновременно способствуют снижению и агрегационной активности тромбоцитов и в некоторой степени артериального давления.

Абсолютно необходима антиагрегантная терапия наряду с антикоагулянтной беременным с ИКС, поскольку у них имеет место резко выраженная активация тромбоцитов, в первую очередь в результате взаимодействия их с механическими клапанами.

Единственной профилактикой инсультов и инфарктов у беременных с синдромом «липких тромбоцитов» пока остается аспирин. Данный синдром редко диагностируется в клинической практике, впервые он был открыт Е.Маттел у беременной с инфарктом миокарда.

Акушеры довольно часто используют помимо дипиридамола реополиглокин вследствие не только его антитромбоцитарных эффектов, но и улучшающих реологию крови свойств. Тем не менее, следует отметить, что препарат может давать аллергические системные реакции при сочетании с другими препаратами. В частности, наш опыт свидетельствует о возможности таких реакций при одновременном назначении НМГ или нефракционированного гепарина.

Несмотря на широкие показания к применению антиагрегантов в акушерской практике, следует еще раз подчеркнуть, что если они применяются накануне операции или родов через естественные родовые пути, риск геморрагических осложнений повышается.

Новые антитромбоцитарные препараты (тиклопидин, клопидогрел, рео-про и др.) в акушерстве на сегодняшний день не применяются вследствие отсутствия данных о возможных тератогенном и эмбриотоксическом эффектах.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. — М.: Ньюдиана-мед, 2000. 148 с.
2. Al-Khadra A. S., Salem D. N., Rand W. M., Udelson J. E., Smith J. J., Konstam M. A. Antiplatelet agents and survival: a cohort analysis from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trial. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31:419—425.
3. Altman R., Rouvie J., Gurfinkei E., et al. Comparison of high-dose with low-dose aspirin in patients with mechanical heart valve replacement treated with oral anticoagulant. // *Circulation*, 1996; 94: 2113—2116.
4. Antiplatelet Trialists Collaboration. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy-II: maintenance of vascular graft or arterial patency by antiplatelet therapy. // *Br. Med. J.*, 1994; 308: 159—168.
5. Antiplatelet Trialists Collaboration. Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy. III. Reduction in venous thrombosis and pulmonary embolism by antiplatelet prophylaxis among surgical and medical patients. // *Br. Med. J.*, 1994; 308: 235—246.
6. Aronow W. S. Underutilization of aspirin in older patients with prior myocardial infarction at the time of admission to a nursing home. // *J. Am. Geriatr. Soc.*, 1998; 46: 615—616.
7. Bhatt D. L., Chew D. P., Hirsch A. T., et al. Superiority of clopidogrel versus aspirin in patients with prior cardiac surgery. // *Circulation*, 2001; 103: 363—368.
8. Bowersox T. S., Lipowitz A. J., Hardy R. M., et al. The use of a synthetic prostaglandin E1 analog as a gastric protectant against aspirin-induced hemorrhage in the dog. // *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 1996; 32: 401—407.
9. Bowker T. J., Clayton T. C., Ingham J., A British Cardiac Society survey of the potential for the secondary prevention of coronary disease: ASPIRE (Action on Secondary Prevention through Intervention to Reduce Events) // *Heart*, 1996; 75: 334—342.
10. Caritis S., Sibi B., Hauth J., et al. Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in woman at high risk. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 338: 701—705.
11. Caspi D., Lubart E., Graff E., Habet B., Yaron M., Segal R. The effect of mini-dose aspirin on renal function and uric acid handling in elderly patients. // *Arthritis Rheum.*, 2000; 43: 103—108.
12. Dacey L. J., Munoz J. J., Johnson E. R., et al. Effect of preoperative aspirin use on mortality in coronary artery bypass grafting patients. // *Ann. Thorac. Surg*, 2000; 70: 1986—1990.
13. D'Agati V. Does aspirin cause acute or chronic renal failure in experimental animals and in humans? // *Am. J. Kidney Dis.*, 1996; 28(Suppl. 1): S24—S29.
14. Davie A. P., Love M. P., McMurray J. J. Even low-dose aspirin inhibits arachidonic acid-induced vasodilation in heart failure. // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2000; 67:530—537.
15. Dumont A., Flahault A., Beaufils M., et al. Effect of aspirin in pregnant women is dependent on increase in bleeding time. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1999; 180: 135—140.
16. Erez E., Erman A., Snir E., et al. Thromboxane production in human lung during cardiopulmonary bypass: beneficial effect of aspirin? // *Ann. Thorac. Surg.*, 1998; 65: 101—106.
17. Fuster V., Chesebro J. H. Role of platelets and platelet inhibitors in aortocoronary artery vein-graft disease. // *Circulation*, 1986; 73: 227—232.

18. Garcia-Rodriguez L. A., Huerta-Alvarez C. Reduced risk of colorectal cancer among long-term users of aspirin and nonaspirin nonsteroidal antiinflammatory drugs. // *Epidemiology* 2001; 12: 88—93.
19. Gavaghan T. P., GebSKI V., Baron D. W. Immediate postoperative aspirin improves vein graft patency early and late after coronary artery bypass graft surgery. A placebo-controlled, randomized study. // *Circulation*, 1991; 83: 1526—1533.
20. Giovannucci E., Egan K. M., Hunter D. J., et al. Aspirin and the risk of colorectal cancer in women. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 609—614.
21. Goldhaber S. Z., Manson J. E., Stampfer M. J., et al. Low-dose aspirin and subsequent peripheral arterial surgery in the Physicians' Health Study. // *Lancet*, 1992; 340: 43—45.
22. Golding J. A randomised trial of low dose aspirin for preeclampsia in pregnancy. The Jamaica Low Dose Aspirin Study Group. // *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1998; 105: 293—299.
23. Goldman S., Copeland J., Moritz T., et al. Starting aspirin therapy after operation. Effects on early graft patency. Department of Veterans Affairs Cooperative Study Group. // *Circulation*, 1991; 84: 520—526.
24. Goldman S., Copeland J., Morwitz T., et al. Improvement in early saphenous vein graft patency after coronary artery bypass surgery with antiplatelet therapy: results of a Veterans Administration Cooperative Study. // *Circulation*, 1988; 77: 1324—1332.
25. Goldman S., Copeland J., Morwitz T., et al. Long-term graft patency (3 years) after coronary artery surgery. Effects of aspirin: results of a VA Cooperative study. // *Circulation*, 1994; 89: 1138—1143.
26. Hall D., Zeitler H., Rudolph W. Counteraction of the vasodilator effects of enalapril by aspirin in severe heart failure. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1992; 20:1549—1555.
27. Hansen H. P., Gaede P. H., Jensen B. R., Parving H. H. Lack of impact of low-dose acetylsalicylic acid on kidney function in type 1 diabetic patients with microalbuminuria. // *Diabetes Care*, 2000; 23:1742—1745.
28. He J., Whelton P. K., Vu B., Klag M. J. Aspirin and risk of hemorrhagic stroke: a meta-analysis of randomized controlled trials. // *JAMA*, 1998; 280:1930—1935.
29. Heyborne K. D. Preeclampsia prevention: lessons from the low-dose aspirin therapy trials. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2000; 183: 523—528.
30. Janes S. Kyle P., Redman C., Goodall A. Flow cytometric detection of activated platelets in pregnant women prior to the development of preeclampsia. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1059—1063.
31. Jaszewski R. Frequency of gastroduodenal lesions in asymptomatic patients on chronic aspirin or nonsteroidal antiinflammatory drug therapy. // *J. Clin. Gastroenterology*, 1990; 12: 10—13.
32. Johnson S. A., Leib M. S., Forrester S. D., Marini M. The effect of misoprostol on aspirin-induced gastroduodenal lesions in dogs. // *J. Vet. Int. Med.*, 1995; 9: 32—38.
33. Jones M. K., Wang H., Peskar B. M., et al. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. // *Nat. Med.*, 1999; 5: 1418—1423.
34. Keimowitz R. M., Pulvermacher G., Mayo G., Fitzgerald D. J. Aspirin and platelets: transdermal modification of platelet function: a dermal aspirin preparation selectively inhibits platelet cyclooxygenase and preserves prostacyclin biosynthesis. // *Circulation*, 1993; 88: 556—561.
35. Kelly J. P., Kaufman D. W., Jurgelon J. M., et al. Risk of aspirin-associated major upper-gastrointestinal bleeding with enteric-coated or buffered product. // *Lancet*, 1996; 348: 1413—1416.

36. Knight M., Duley L., Henderson-Smart D. J., King J. F. Antiplatelet agents for preventing and treating preeclampsia. *The Cochrane Database of Systemic Reviews* (2): 2000; CD000492.
37. Kodama M., Yamasaki Y., Sakamoto K., et al. Antiplatelet drugs attenuate progression of carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. // *Thromb. Res.*, 2000; 97: 239—245.
38. Koren G., Rose V., Lavi S., Rowe R. Probable efficacy of high-dose salicylates in reducing coronary involvement in Kawasaki disease. // *JAMA*, 1985; 254: 767—769.
39. Krumholtz H. M., Philbin D. M., Jr., Wang Y., et al. Trends in the quality of care for Medicare beneficiaries admitted to the hospital with unstable angina. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31: 957—963.
40. Laffort P., Roudaut R., Roques X., et al. Early and long-term (one-year) effects of the association of aspirin and oral anticoagulant on thrombi and morbidity after replacement of the mitral valve with the St. Jude medical prosthesis: a clinical and transesophageal echocardiographic study. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 35: 739—746.
41. Lantini R., Tognoni G., Maggioni A. P., et al. Clinical effects of early angiotensin-converting enzyme inhibitor treatment for acute myocardial infarction are similar in the presence and absence of aspirin: systematic overview of individual-level data from 96,712 randomized patients. Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 35: 1801—1807.
42. Lanza F. L., Kochman R. L., Geis G. S., et al. A double-blind, placebo-controlled, 6-day evaluation of two doses of misoprostol in gastroduodenal mucosal protection against damage from aspirin and effect on bowel habits. // *Am. J. Gastroenterol.*, 1991; 86: 1743—1748.
43. Law B. K., Waltner-Law M. E., Entingh A. J., et al. Salicylate-induced growth arrest is associated with inhibition of p70s6k and down-regulation of c-myc, cyclin D1, cyclin A, and proliferating cell nuclear antigen. // *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 38261—38267.
44. Leor J., Reicher-Reiss H., Goldbourt U. et al. Aspirin and mortality in patients treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors: a cohort study of 11,575 patients with coronary artery disease. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1999; 33: 1920—1925.
45. Lotke P. A., Palévsky H., Keenan A. M. Aspirin and warfarin for thromboembolic disease after total joint arthroplasty. // *Clin. Orthop.*, 1996; 1996: 251—258.
46. Mahmoud N. N., Dannenberg A. J., Mestre J., et al. Aspirin prevents tumors in a murine model of familial adenomatous polyposis. // *Surgery*, 1998; 124: 225—231.
47. Marciniak T. A., Ellerbeck E. F., Radford M. J., et al. «Improving the quality of care for Medicare patients with acute myocardial infarction: results from the Cooperative Cardiovascular Project.» // *JAMA*, 1998; 279: 1315—1317.
48. Martinez M. E., McPherson R. S., Levin B., et al. A case-control study of dietary intake and other lifestyle risk factors for hyperplastic polyps. // *Gastroenterology*, 1997; 113: 423—429.
49. Mene P., Pugliese K., Patrono C. The effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on human hypertensive vascular disease. // *Semin. Nephrol.*, 1995; 15: 244—252.
50. Minar, E., Ahmadi A., Koppensteiner R., et al. Comparison of effects of high-dose and low-dose aspirin on restenosis after femoropopliteal percutaneous transluminal angioplasty. // *Circulation*, 1995; 91: 2167—2173.
51. Monagle P., Michelson A. D., Bovill E., Andrew M. Antithrombotic therapy in children. // *Chest*, 2001; 119: 3448—3708.

52. Nguyen K. N., Aursnes I., Kjekshus J. Interaction between enalapril and aspirin on mortality after acute myocardial infarction: subgroup analysis of the Cooperative New Scandinavian Enalapril Survival Study II. // *Am. J. Cardiol.*, 1997; 79:115—119.
53. Patrono C., Dunn M. J. The clinical significance of inhibition of renal prostaglandin synthesis. // *Kidney Int.*, 1987; 32: 1—12.
54. Powers P. J., Gent M., Jay R. M., et al. A randomized trial of less intense postoperative warfarin or aspirin therapy in the prevention of venous thromboembolism after surgery for fractured hip. // *Arch. Intern. Med.*, 1989; 149: 771—774.
55. Pulmonary Embolism Prevention (PEP) trial. Prevention of pulmonary embolism and deep vein thrombosis with low dose aspirin. // *Lancet*, 2000; 355: 1295—1302.
56. Qiao L., Hanif R., Spiccas E., et al. Effect of aspirin on induction of apoptosis in HT-29 human colon adenocarcinoma cells. // *Biochem. Pharm.*, 1998; 55: 53—64.
57. Ranke C., Hecker H., Creutzig A., Alexander K. Dose-dependent effect of aspirin on carotid atherosclerosis. // *Circulation*, 1993; 87:1873—1879.
58. Riegger G. A., Kahles H. W., Eisner D., Kromer E. P., Kochsiek K. Effects of acetylsalicylic acid on renal function in patients with chronic heart failure. // *Am. J. Med.*, 1991; 90: 571—575.
59. Roderick P. J., Wilkes H. C., Meade T. W. The gastrointestinal toxicity of aspirin: an overview of randomised controlled trials. // *Br. J. Clin. Pharm.*, 1993; 35: 219—226.
60. Rogers W. J., Canto J. G., Lambrew C. T., et al. Temporal trends in the treatment of over 1.5 million patients with myocardial infarction in the U.S. from 1990 through 1999: the national Registry of Myocardial Infarction 1, 2 and 3. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 36: 2056—2063.
61. Rosenberg L., Louik C., Shapiro S., et al. Nonsteroidal antiinflammatory drug use and reduced risk of large bowel carcinoma. // *Cancer*, 1998; 82: 2326—2333.
62. Rotchell Y. E., Cruickshank J. K., Gay M. P., et al. Barbados low dose aspirin study in pregnancy (BLASP): a randomised trial for the prevention of preeclampsia and its complications. // *Br. J. Obstet. Gynaecol.*, 1999; 105: 286—292.
63. Safford R. S. Aspirin use is low among United States outpatients with coronary artery disease. // *Circulation*, 2000; 101: 1097—1101.
64. Sandier D. P., Burr F. R., Weinberg C. R. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk for chronic renal disease [see comments]. // *Ann. Int. Med.*, 1991; 115: 165—172.
65. Sandier R. S., Galanko J. C., Murray S. C., et al. Aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory agents and risk for colorectal adenomas. // *Gastroenterology*, 1998; 114: 441—447.
66. Sano H., Kawahito Y., Wilder R. L., et al. Expression of cyclooxygenase-1 and -2 in human colorectal cancer. // *Cancer Res.*, 1995; 55: 3785—3789.
67. Sarasin F. P., Gaspoz J. M., Bounameaux H. Cost-effectiveness of new antiplatelet regimens used as secondary prevention of stroke and transient ischemic attack. // *Arch. Intern. Med.*, 2000; 160: 2773—2778.
68. Savon J. J., Alien M. L., DiMarino A. J., Jr., et al. Gastrointestinal blood loss with low dose (325 mg) plain and enteric-coated aspirin administration. // *Am. J. Gastroenterology*, 1995; 90: 581—585.
69. Shahar E., Folsom A. R., Romm F. J., et al. Patterns of aspirin use in middle-aged adults: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. // *Am. Heart J.*, 1996; 131: 915—922.
70. Sheng H., Shao J., Kirkland S. C., et al. Inhibition of human colon cancer cell growth by selective inhibition of cyclooxygenase-2. // *J. Clin. Invest.*, 1997; 99: 2254—2259.

71. Spaulding C., Charbonnier B., Cohen-Solal A., Julliere Y., Kromer E. P., Benhamda K., Cadot R., Weber S. Acute hemodynamic interaction of aspirin and ticlopidine with enalapril: results of a double-blind, randomized comparative trial. // *Circulation*, 1998; 98:757—765.
72. Stumer, T., Glynn R. J, Lee I. M., et al. Aspirin use and colorectal cancer: post-trial follow-up data from the Physicians' Health Study. // *Ann. Int. Med.*, 1998; 128:713—720.
73. The Dutch Bypass Oral Anticoagulants Investigators. Efficacy of oral anticoagulants compared with aspirin after infrainguinal bypass surgery: a randomised trial. // *Lancet*, 2000; 355: 346—351.
74. Williams C. S., Smalley W., DuBois R. N. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. // *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1326—1329.

akusher-lib.ru

Глава XII.

Тромболитические препараты (фибринолитики)

Тромболитикам принадлежит весьма специфическое место в лечении тромбозов. С целью оптимизации тромболизиса вместе с тромболитиками обычно назначается гепарин или антитромбоцитарные препараты. Однако такая комбинированная терапия связана с более высоким риском геморрагических осложнений, чем при монотерапии гепарином, аспирином или варфарином.

С 1959 года, когда были опубликованы результаты первых исследований, тромболитики были признаны важным компонентом терапии пациентов с инфарктом миокарда, артериальными и венозными тромбозами. Несмотря на разнообразие тромболитиков, все они, в основном, являются активаторами плазминогена. При этом плазминоген превращается в плазмин, который, в свою очередь, расщепляет фибриноген и фибрин с образованием продуктов деградации фибрина и фибриногена. Идеальный тромболитик должен обладать фибринолитическим свойством в отношении тромба, и не обладать системным фибринолитическим эффектом.

В большинстве случаев острый инфаркт миокарда (ОИМ) является следствием острого коронарного тромбоза в области атеросклеротической бляшки. Поэтому тромболитическая терапия является неотъемлемой частью терапии ОИМ. Острый цереброваскулярный тромбоз является другим важным показанием к тромболизису. Показания к тромболизису при венозном тромбозе менее ясны. В клинической практике применяется как системный фибринолиз, так и местный (через катетер).

Основной целью тромболитической терапии является быстрая реканализация тромбированного сосуда; предотвращение реокклюзии с целью обеспечения адекватного кровотока в жизненно важных органах. Как уже указывалось, все тромболитические препараты активируют плазминоген с образованием плазмина, который расщепляет фибриновый сгусток, фибриноген и другие протеины плазмы, включая факторы V, VIII, IX, XI и XII, компоненты комплемента, гормон роста, адренотропный гормон и инсулин. В свою очередь, плазмин инактивируется рядом ингибиторов плазмина, включая «быстрый» $\alpha 2$ -антиплазмин и «медленный» $\alpha 2$ -макроглобулин. Наиболее часто применяемыми в мире тромболитиками являются урокиназа (UK), стрептокиназа (SK), альтеплаза (рекомбинантный активатор плазминогена тканевого типа) — (rt-PA) и антистрептоплаза (APSAC — anisoylated streptokinase activator complex). К более современным тромболитикам относятся ретеплаза (r-PA), тенектеплаза (TNKt-PA), саруплаза (scu-PA), ланотеплаза (n-PA), стафилокиназа (STAR), проурокиназа (одноцепочечный активатор плазминогена урокиназного типа, scu-PA).

Стрептокиназа, APSAC и scu-PA индуцируют системную генерацию плазмина; при этом $\alpha 2$ -антиплазмин ингибирует циркулирующий плазмин, однако в условиях тромболитической терапии концентраций недостаточно для достаточной ингибции плазмина, поскольку концентрация циркулирующего в плазме $\alpha 2$ -антиплазмина составляет почти половину концентрации плазмина. В результате плазмин, который обладает широким спектром субстрат-специфичности, расщепляет множество протеинов плазмы, таких как факторы свертывания V, VIII, XII, vWF. Таким образом, эти препараты являются «фибрин-неспецифичными». В противоположность

этим препаратам, физиологические активаторы плазминогена, t-PA и scu-PA более «фибрин-специфичны», поскольку активируют плазминоген преимущественно на поверхности фибрина и не обладают системным фибринолитическим эффектом. Плазмин, ассоциированный с фибриновой поверхностью, защищён от быстрого ингибирования $\alpha 2$ -антиплазмином, поскольку его лизин-связывающие участки (сайты) недоступны для $\alpha 2$ -антиплазмина, а потому возможно эффективное расщепление фибрина в составе тромба. Молекулярные взаимодействия в зависимости от фибрин-специфичности активаторов плазминогена представлены на рис. 76.

В зависимости от фибрин-специфичности, длительности эффектов и пути получения тромболитики в настоящее время подразделяются на 3 поколения:

Первое поколение:

- стрептокиназа
- урокиназа

Второе поколение:

- рекомбинантный активатор плазминогена тканевого типа (rt-PA, альтеплаза, дутеплаза)
- антистреплаза (APSAC)
- однопочечный активатор плазминогена урокиназного типа (scu-PA, проурокиназа)

Третье поколение:

- рептилаза (r-PA)
- TNK-t-PA
- ланотеплаза (n-PA)
- тенектеплаза
- стафилокиназа
- рекомбинантный гликозилированный активатор плазминогена

Тромболитики, находящиеся в стадии изучения:

- антительные активаторы плазминогена
- тромболитики на основе полиэтиленгликана
- мутантные и варианты активаторы плазминогена
- рекомбинантный химерический активатор плазминогена (фибролаза)

Важной составляющей эффективности тромболитической терапии являются характеристики самого тромба, в частности:

- а) размер тромба;
- б) поверхность тромба, контактирующая с кровью в кровотоке;
- в) наличие перекрестно-связанного фибрина в тромбе;
- г) «возраст» тромба и наличие в его составе коллагена и фибробластов;
- д) локализация тромба и
- е) уровень локального кровотока в тромбированном сосуде.

Области с низким кровотоком более резистентны к тромболизису, так же как и тромбы в боковых ветвях артерии. Тромбы, по меньшей мере, 50 % поверхности которых, контактирует с кровотоком, лучше отвечают на тромболитическую терапию, чем тромбы с меньшей поверхностью, контактирующей с кровотоком.

Поскольку только один конец тромба контактирует с кровотоком, то именно с этого конца начинается лизис тромба под действием плазмина. В процессе лизиса и улучшения кровотока все большая поверхность уменьшающегося тромба взаимодействует с кровотоком и, соответственно, тромболитическим препаратом, что в свою очередь способствует дальнейшему тромболизису.

У пациентов с ОИМ редукция зоны инфаркта, сохранение функции желудочков и снижение смертности демонстрируют такие тромболитики, как стрептокиназа, rt-PA и APSAC. Исследование GUSTO (Global Utilization of Streptokinase and t-PA for Occluded Coronary Arteries) окончательно подтвердило корреляцию между ран-

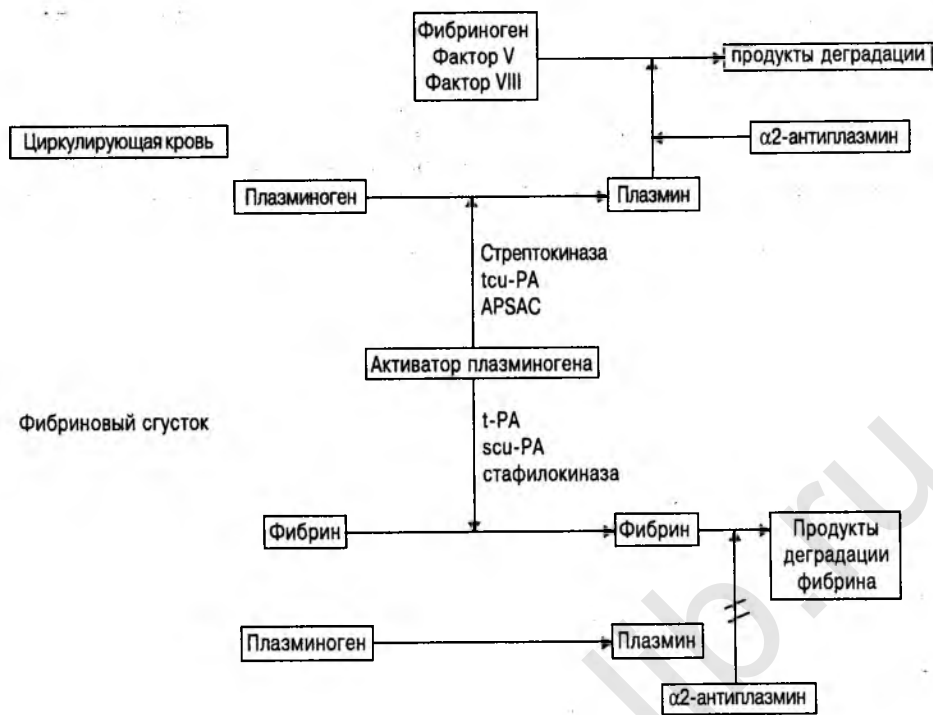


Рис. 76. Молекулярные взаимодействия, определяющие фибрин-специфичность тромболитических препаратов

Фибрин-неспецифические тромболитики (стрептокиназа, t-PA, APSAC) в значительной степени активируют плазминоген в циркулирующей крови, в то время как фибрин-специфические (t-PA, scu-PA, стафилокиназа) преимущественно активируют ассоциированный с фибрином плазминоген.

ним восстановлением проходимости коронарных сосудов и снижением смертности.

Тем не менее, применяемые в настоящее время тромболитики все еще далеки от совершенства: практически все они имеют короткое время полувыведения и лимитированную эффективность и фибриноспецифичность. Кроме того, риск реокклюзии и геморрагических осложнений продолжают оставаться основными неблагоприятными эффектами тромболитической терапии.

Структура, функция и фармакология тромболитиков

Стрептокиназа

Стрептокиназа является бактериальным ферментом, который впервые был открыт в 1933 году и изолирован из бульона Lancefield — жидкой питательной среды для β -гемолитического стрептококка группы С.

In vivo фибринолитическая активность этого фермента у человека была описана в 1959 году. Одноцепочечный протеин содержит 414 аминокислотных остатка и имеет молекулярную массу 47,0—50,2 кДа. Молекула белка содержит три структурно автономных домена и четыре менее структурированных карбокситерминальных «хвоста». Активные участки связаны с помощью «гибких» протеиновых цепей и могут находиться частично в «неактивной» конформации. Участок Ser60-Asn90 отвечает за активацию плазминогена, а последовательность Val58-Arg219 наряду

Тур252-Ала316 необходима для превращения плазминогена в плазмин внутри комплекса плазминоген-стрептокиназа.

Эквивалентные количества стрептокиназы (СК) и плазминогена формируют комплексы, которые индуцируют конформационные изменения в области активного участка плазминогена. Активный участок комплекса СК-плазминоген катализирует превращение плазминогена в плазмин и комплекса СК-плазминоген в комплекс СК-плазмин посредством расщепления (кливажа) внутримолекулярной пептидной связи. Прогрессивная деградация в более мелкие фрагменты заканчивается потерей активности. Активность СК повышается в присутствии фибриногена, фибрина и продуктов деградации фибрина — фрагментов Д и Е.

Фибриноген повышает интенсивность образования активных участков комплексов СК-плазминоген и тем самым стимулирует активность плазминогена.

СК активирует как циркулирующий в кровотоке, так и фибрин-связанный плазминоген. Связывание фибрина с комплексом СК-плазминоген осуществляется посредством пяти «крингл»-доменов в составе плазмина и происходит в области депозиции фибрина. Комплекс СК-плазмин не ингибируется α 2-антиплазмином, равно как и комплекс СК-плазминоген, что обеспечивает активацию плазминогена, связанного со сгустком. В процессе деградации фибрина локально связанные СК-плазмин и СК-плазминоген стимулируются, усиливая процесс лизиса сгустка. Деградация этих комплексов (СК-плазмин, СК-плазминоген) снижает плазминоген-активаторную активность. Циркулирующие СК-комплексы превращают плазминоген в плазмин, что ведет к системной плазминемии, деградации фибриногена и протромбиназа-опосредованной активации тромбина.

В дополнение к прямым эффектам на фибринолиз, СК косвенно индуцируют нарушение агрегационной активности тромбоцитов. Вновь образующиеся продукты деградации фибрина конкурируют с уже сниженными концентрациями фибриногена за рецепторы тромбоцитов GpIIb/IIIa.

Хотя изначальное время полувыведения СК составляет около 10—20 минут, пролонгированный эффект объясняется снижением печеночного клиренса, персистенцией продуктов деградации фибрина (фибриногена), снижением фибриногена и других прокоагулянтных факторов: пролонгированная плазминоген-активаторная активность СК способствует терминальному времени полувыведения СК до 83 минут и биологическое время полувыведения до 3 часов.

Лабораторные исследования свидетельствуют, что и терапия СК, и терапия урокиназой вызывают снижение α 2-антиплазмينا, факторов свертывания V, VIII:C, IX, XI, XII, удлинение АЧТВ, протромбинового времени (ПВ), повышение уровней плазмина, продуктов деградации фибрина/фибриногена и B-b15—42 пептидов.

В клинической практике крайне важно помнить, что поскольку СК является бактериальным продуктом, он является антигеном и может индуцировать аллергические реакции, сопровождающиеся гипотензией, лихорадкой и кожной сыпью в среднем у 13% пациентов. Назначение антигистаминов и глюкокортикоидов эффективно для устранения этих побочных эффектов, поэтому они обычно назначаются профилактически. Анти-СК антитела (IgG), образующиеся после назначения СК, могут персистировать вплоть до 54 месяцев. Результатом этого является сниженная активность СК при повторном назначении.

Тем не менее, следует учитывать, что возможно развитие анафилактической реакции с бронхоспазмом и прочими проявлениями, свойственными анафилаксии. Поскольку часть населения, сенсibilизированная к стрептококковым белкам, является достаточно значительной (стрептококковые инфекции в анамнезе), то возможны тяжелые аллергические реакции (анафилаксия). Эти нарушения могут наблюдаться как в начале, так и на более поздних этапах терапии стрептокиназой и не всегда могут быть купированы введением кортикостероидов или антигистаминов.

Тем не менее, согласно данным исследований ISIS-2 (Second International Study of Ongoing Infarct Survival trial), только у 4% пациентов, получавших стрептокиназу, отмечались аллергические реакции, при этом у 0,5% — анафилактический шок.

В противоположность активатору плазминогена тканевого типа (t-PA), который является дериватом тканей и сосудистых клеток, урокиназа — дериват почечных клеток и мочи (активатор плазминогена урокиназного типа, u-PA). Урокиназа является сериновой протеазой, состоящей из двух полипептидных цепей с молекулярной массой 20 и 34 кДа, связанной дисульфидной связью. Процесс синтеза урокиназы включает выделение одноцепочечного предшественника из мочи, плазмы и культуры клеток. Одноцепочечный активатор плазминогена (scu-PA) из 411 аминокислот с молекулярной массой 54 кДа превращается в высокомолекулярную двухцепочечную u-PA (tscu-PA) путем ограниченного гидролиза пептидной связи Lys158-Ile159 плазмином и калликреином. Пептид содержит как на аминоконцевой, так и на карбоксиконцевой части каталитически активные центры — Asp255, His204 и Ser356. Молекулярные цепи связаны дисульфидной связью в области Cys279, кроме того, scu-PA включает дополнительно 12 дисульфидных связей, которые «разбросаны» в разных местах белка. Гидролиз связи Glu143-Leu144 способствует кливажу 143 аминоконцевых аминокислот и образованию низкомолекулярного scu-PA. Этот продукт имеет почти в 5 раз меньшую активность, чем scu-PA в составе фибринового сгустка и меньше чувствителен к активации плазмином. Дополнительный кливаж высокомолекулярного tscu-PA в области Lys135-Lys136 ведет к образованию пептида с молекулярной массой 33 кДа, который и представляет собой коммерческую урокиназу, применяемую в качестве терапевтического агента. Молекула урокиназы включает функционально важные домены: домен, подобный эпидермальному фактору роста, центральный крингл-домен и карбокси-концевой каталитический домен — сериновая протеаза.

Изучение активации плазминогена под действием различных форм u-PA позволило определить кинетические параметры энзиматических реакций. При смешивании scu-PA и плазминогена образуются плазмины и высокомолекулярный tscu-PA. Апротинин и другие ингибиторы плазмينا блокируют образование высокомолекулярного tscu-PA. Исследования энзиматических свойств scu-PA свидетельствуют, что основной его функцией, прежде всего, является проэнзимная. Когда scu-PA экспонируется на тромбе, наряду с плазмином, лизис сгустка дополнительно обеспечивается и образующимся высокомолекулярным tscu-PA. Однако такая активация плазминогена требует обязательного наличия фибрина, несмотря на отсутствие прямого связывания фибрин-scu-PA, так как ограниченное расщепление фибрина плазмином способствует экспозиции карбокси-концевого связующего сайта фибрина. Glu-плазминоген связывается с экспонированными карбокси-концевыми связующими сайтами фибрина, индуцируя при этом конформационные изменения, которые обеспечивают более оптимальный субстрат для scu-PA. Процесс активации плазминогена в плазмин амплифицируется образованием tscu-PA и дополнительных карбокси-концевых лициновых остатков. Локализация scu-PA на клеточной поверхности, возможно, играет важную роль в механизме действия. Клетки различных тканей, включая эндотелиальные, предоставляют рецепторы для активатора плазминогена урокиназного типа (u-PAR). Наличие рецепторно-связанного scu-PA и связанного с клетками плазминогена необходимо для увеличения интенсивности плазминообразования. Поверхность эндотелиальных клеток является своеобразной матрицей для образования комплексов scu-PA/ tscu-PA и плазминоген-плазмин. Ингибиторы сериновых протеаз, ингибитор активатора плазминогена типа 1 (PAI-1), PAI-2 и протеаза нексин-1 (PN) модулируют как циркулирующую, так и рецепторно-связанную урокиназу. Связанные на поверхности клеток комплексы интернализируются и расщепляются α 2-макроглобулин/липопротеин низкой плотности протеином, ассоциированным с рецептором (α 2-MP/ЛНП). Фибрин, фибриноген и продукты деградации фибрина (ПДФ) равно как и длинные цепи жирных кислот и аналоги лизина, такие как ω -аминокарбоксикислота, усиливают активацию плазминогена высокомолекулярным tscu-PA от двух до 10 раз. Гепарин стимулирует энзи-

матическую активность как tсу-РА, однако в большей мере — scu-РА. Ингибиторный эффект РА1-1 в отношении tсу-РА также усиливается гепарином и гепарансульфатом. Первично урокиназа метаболизируется в печени.

Клиническое применение и-РА подразумевает в основном использование высокомолекулярного tсу-РА, низкомолекулярного tсу-РА и рекомбинантного негликозилированного scu-РА — саруплазы. Урокиназа, вследствие проблем промышленного получения, во многих странах не применяется.

Саруплаза (scu-РА) демонстрирует незначительную внутреннюю энзиматическую активность: обладает высокой специфичностью к фибрину, поскольку аминокислотная последовательность обладает значительным сходством с таковой t-РА. Время полужизни короткое, так как scu-РА, циркулирующий в кровотоке, связывается со специфическим ингибитором. Фибринолитическая же активность проявляется, когда scu-РА-ингибиторный комплекс диссоциирует в присутствии фибрина.

Активатор плазминогена тканевого типа t-РА

t-РА впервые был выделен из тканей матки, а позже был обнаружен и в других тканях, включая эндотелий. Рекомбинантный t-РА (rt-РА) впервые был продуцирован из экстракта клеток меланомы и затем — из *Escherichia coli*. t-РА является одноцепочечной сериновой протеазой, состоящей из 527 аминокислот с молекулярной массой 68 кДа. Свободный цистеиновый остаток присутствует в позиции 83, кроме того, в молекуле имеется 17 дисульфидных связей. Гидролиз Arg275-Ile276 связи, катализируемый плазмином, калликреином, фактором Ха и другими сериновыми протеазами, способствует образованию двухцепочечного t-РА, состоящего из тяжелой аминокислотной цепи (1—275) и легкой цепи (275—527). «Крингл»-участки входят в состав тяжелой цепи, а участки с серин-протеазной активностью — в состав легкой цепи. Пять доменов гомологичны по своей структуре другим функциональным протеинам, включая фибронектин (т.н. «finger»-домен), эпидермальный фактор роста (остатки 50—87), крингл-участки (K1 и K2-крингл-участки — остатки 87—176 и 176—262, соответственно), сериновая протеаза трипсин (остатки 276—527) и каталитический центр серин-протеазного домена (His 322, Asp371, Ser478). Недавние исследования показали, что участок Lys296-Arg304 играет важную роль в специфичности по отношению к фибрину и связыванию с РА1-1. Кроме того, важное значение имеет образование «мостиков» между Lys429 и Asp477, которые обеспечивают высокую каталитическую активность одноцепочечной t-РА без демаскирования Ile276 аминоконца. Одноцепочечный и двухцепочечный t-РА обладают различной активностью, однако в присутствии фибрина эта разница минимальна. t-РА проявляет высокую специфичность и аффинитет по отношению к интактному фибрину.

При связывании с фибрином каталитический эффект активации плазминогена фибрином значительно усиливается. Несмотря на наличие гомологии между протеазным доменом t-РА и трипсином, t-РА специфически распознает одну или более структурных единиц нативного плазминогена. В процессе взаимодействия образуется тернарный комплекс, включающий фибрин, t-РА и плазминоген. Согласно гипотезе Bauer et al, t-РА-опосредованный фибринолиз является трех-этапным процессом. При появлении в реакционной системе t-РА формируются протофибриллы, которые имеют длину почти в 10 раз больше, чем фибриноген. Длительность этой фазы увеличивается с повышением концентрации t-РА. Вторая фаза — фаза элонгации (удлинения) и боковой агрегации нитей фибрина. Эта фаза хорошо выражена при низкой концентрации t-РА и сопровождается образованием фрагмента X.

Третья фаза включает дезорганизацию волокон фибрина с образованием фрагментов Y и D. Плазмин при этом продолжает дезинтеграцию внутри волокон с образованием длинных филаментов. Интенсивность образования плазмина эквивалентна концентрации t-РА.

Исследование других клинически важных эффектов t-PA показывают, что возможна липид-индуцированная модификация активации плазминогена и PAI-1-обусловленная модуляция амидолитической активности t-PA. Ассоциированный с клеточной поверхностью (тромбоцитов, эндотелиальных клеток, моноцитов) t-PA более эффективен, чем свободный t-PA.

PAI-1 распознает два следующих сайта фибрина и, при аккумуляции в тромбе, ингибирует t-PA-опосредованное образование плазмина. Кроме того, PAI-1 также может прямо связываться с t-PA, ингибируя F и K2 домен и препятствуя связыванию t-PA с фибрином.

Начальное время полувыведения одноцепочечной формы t-PA составляет 3,6—4,6 минут, конечное — от 39 до 53 минут. Двухцепочечная форма t-PA имеет начальное время полужизни 4,1—6,3 минут, конечное — 41—50 минут. Следует отметить, что при внутривенном болюсном введении одноцепочечного t-PA достигается более чем на 45% высокая концентрация в плазме, чем при медленной инфузии, без изменения при этом времени полужизни. В надежде на увеличение конечного времени полужизни без снижения при этом эффективности, было предложено множество методов инфузии, кроме того, были получены и новые формы t-PA.

Печеночный клиренс одноцепочечного t-PA составляет 520—1000 мл/мин и двухцепочечного — 450—640 мл/мин. Клиренс может быть продолжительнее в присутствии PAI-1, так как образующие комплексы t-PA/PAI-1 медленнее метаболизируются печенью, чем активный t-PA. Рекомбинантный t-PA (альтеплаза) не является антигенным, что весьма важно: реакции, характерные для SK и UK практически отсутствуют. Анафилактические реакции, наблюдавшиеся при введении альтеплазы, были вызваны наличием IgE-антител к альтеплазе.

По сравнению со стрептокиназой, кроме того, t-PA гораздо быстрее вызывает лизис сгустка и ассоциируется с более высокой степенью реокклюзии в связи с недостаточным подавлением фибриногена и более коротким временем полужизни. В то же время, более высокий фибринолитический потенциал t-PA чаще является причиной геморрагических осложнений (в том числе, инсультов), чем стрептокиназа. Однако важной отличительной особенностью t-PA является способность лизировать относительно «старые» тромбы и перекрестно связанный фибрин вследствие характерной для t-PA фибрин-специфичности. t-PA обеспечивает и более быструю реперфузию, в особенности, если вводится в первые 4 часа после образования тромба.

Варианты t-PA

В настоящее время синтезированы разновидности одноцепочечной альтеплазы (rt-PA), и другие варианты t-PA, которые имеют большее время полувыведения и/или эффективность, меньший эффект системного фибринолиза. К ним относятся двухцепочечная t-PA дутеплаза, «укороченная» мутантная n-PA, ланотеплаза и TNK t-PA, тенектоплаза с заменой нескольких аминокислот. Все эти варианты t-PA проявляют свойство t-PA превращать плазминоген в плазмин.

Дутеплаза

Дутеплаза является двухцепочечной формой t-PA. Хотя она проявляет свойства, сходные с одноцепочечным t-PA, в больших исследованиях не было обнаружено особых преимуществ перед SK, в связи с чем промышленное производство было прекращено.

Ретеплаза

Ретеплаза (r-PA) является одноцепочечным мутантным t-PA, у которого отсутствуют 3 домена: «finger»-домен, домен эпидермального фактора роста и «крингл-1»-домен, при двух сохраненных доменах — «крингл-2» и серин-протеазный домен. Время полужизни такой формы t-PA в 2 раза превышает таковое у нативного

t-PA. Системный эффект в отношении фибриногена также менее выражен, чем у SK, но больше, чем у t-PA. В отличие от t-PA и других мутантных форм t-PA, r-PA выводится через почки.

Тенектоплаза

TNK t-PA (тенектоплаза) отличается от t-PA только несколькими аминокислотами: треонин в позиции 103 заменен на аспарагин, аспарагин 117 — на глутамин в «крингл-1»-домене и тетра-аланиновая замена в позициях 296—299 в протеазном домене. По сравнению с t-PA, TNK t-PA демонстрирует большую фибрин-специфичность, большее время полужизни и относительную резистентность к PAI-1. По данным большого исследования TIMI10A время полужизни в плазме составляет 11—20 минут по сравнению с 3,5 мин для t-PA. Системный фибринолиз также меньше выражен, о чем свидетельствуют данные измерения концентрации фибриногена и плазминогена (5% — 15% для TNK t-PA по сравнению с 40% — 50% для t-PA). Кроме того, для TNK t-PA характерно в 4—5 раз меньшее потребление $\alpha 2$ -антиплазмина и соответственно меньшее образование комплексов плазмин- $\alpha 2$ -антиплазмин, по сравнению с t-PA. Более высокая фибрин-специфичность TNK t-PA по сравнению с альтеплазой обеспечивает и большую эффективность при введении единичного болюса.

Ланотеплаза

Ланотеплаза является «укороченной» мутантной формой p-PA с заменой глицина на аспарагин в позиции 117 и отсутствием гликозилированного сайта в первом «крингл»-домене. В молекуле ланотеплазы отсутствуют «finger»-домен и домен эпидермального фактора роста. Результатом этого является удлинение времени полужизни (от 30 до 45 мин) после болюсного введения. Вследствие отсутствия «finger»-домена отмечается меньшая аффинность к фибрину по сравнению с t-PA. Эффективность ланотеплазы сравнима, а по данным некоторых исследований даже превышает таковую для t-PA.

Стафилокиназа

Стафилокиназа выделена из *Staphylococcus* sp. и представляет собой протеин, состоящий из двух доменов почти одинаковых размеров. Стафилокиназа формирует стехиометрические комплексы 1:1 с плазминогеном с образованием плазмина, после чего активирует новые молекулы плазминогена вплоть до образования плазмина. В отсутствие аминокислотного остатка Met26, фибринолитической активностью стафилокиназы не обладает. В экспериментальных системах стафилокиназа высоко эффективна в отношении лизиса сгустка, значительно не снижая при этом уровни фибриногена, плазминогена и $\alpha 2$ -антиплазмина. Для сравнения SK обладает намного меньшей способностью лизировать сгусток наряду со значительным снижением уровня фибриногена, плазминогена и $\alpha 2$ -антиплазмина; t-PA эффективно лизирует сгусток в низких дозах, однако в высоких дозах значительно снижает уровень плазминогена, что ведет к снижению локального фибринолиза. Рекомбинантная стафилокиназа (STAR) сравнивалась с rt-PA у пациентов с острым инфарктом миокарда (ОИМ). При внутривенном введении в дозах 10 или 20 мг в течение 30 минут и более для STAR и в дозах в зависимости от массы тела для rt-PA, нормальный антеградный кровоток через 90 минут достигается у 62% пациентов, получавших STAR и 58% — rt-PA. Уровень фибриногена значительно снижался у стафилокиназы в исследовании не было ни одного случая аллергических реакций. В то же время не было ни одного случая STAR-индуцированных кровотечений. STAR применяется также локально интраартериально при острой периферической артериальной окклюзии. В настоящее время с целью снижения иммуногенного потенциала синтезированы мутантные формы стафилокиназы: фибрин-специфичность и тромболитический потенциал сохраняются при меньшей «антигенности».

Химерические препараты

С целью повышения терапевтической эффективности были синтезированы различные химерические агенты. В идеале эти препараты должны были сочетать в себе более высокий тромболитический потенциал наряду с высокой фибрин-специфичностью и низким системным фибринолизом. Химерические агенты включают продукты u-PA; агенты, синтезированные в результате сплайсинга фрагментов u-PA и t-PA (t-PA/u-PA); протеины t-PA, комбинированные с аминоконцевыми участками t-PA и серин-протеазными участками scu-PA; а также различные другие протеины, содержащие компоненты доменов t-PA и u-PA. Тем не менее, в настоящее время эти агенты еще не используются в клинической практике, поскольку проходят клинические испытания. Пока не представляется возможным экстраполировать молекулярные свойства на клинические эффекты. В то же время результаты экспериментальных исследований демонстрируют отсутствие корреляции между специфической тромболитической активностью (процент лизиса сгустка на единицу концентрации циркулирующего активатора плазминогена) и тромболитическим потенциалом (процент лизиса на единицу дозы на килограмм массы тела).

Клинические аспекты применения тромболитиков

Прежде чем приступить к изложению основных принципов тромболитической терапии, хотелось бы сразу же подчеркнуть, что тромболитическая терапия имеет ряд четких противопоказаний, а также осложнений — не только геморрагических, но и потенциально протромботических. Хотя, казалось бы, совершенно ясно, что тромболитические агенты призваны обеспечить лизис тромба через активацию системы плазминоген-плазмин, они же могут стать и причиной прокоагулянтных эффектов и в частности стать причиной реокклюзии у пациентов с острым инфарктом миокарда. Анализ молекулярных маркеров тромбофилии у пациентов с ОИМ демонстрирует у них наличие тромбофилии (повышение уровней ТАТ, Д-димера, PAI-1, фибриногена, фактора XII). При сравнении пациентов с ОИМ, получавших SK, rt-PA и не получавших тромболитиков, наибольший прокоагулянтный эффект демонстрировала SK, о чем свидетельствовали повышенные уровни маркеров тромбинемии (ТАТ), высокий уровень Д-димера, более длительное время фибринолитической активности.

В дополнение к активности контактной фазы, внутреннего пути свертывания и внутреннего пути фибринолитической системы, активация тромбоцитов также играет значительную роль в патогенезе коронарного артериального тромбоза. Коронарные тромбы богаты тромбоцитами: после терапевтического же тромболиза отмечается усиление активации тромбоцитов и их агрегации. Поэтому антитромбоцитарная терапия с использованием аспирина или блокаторов GPIIb/IIIa-рецепторов играет важную роль дополнительной к тромболитикам терапии.

Исследования агрегации тромбоцитов и экспрессии их рецепторов у пациентов с ОИМ после терапии ретеплазой и альтеплазой демонстрируют значительную разницу между этими препаратами. Через 24 часа после начала введения, агрегация тромбоцитов значительно больше повышается после ретеплазы, чем после альтеплазы. Аналогично усиливалась и экспрессия тромбоцитарных рецепторов (GPIIb/IIIa, тромбоцитарно/эндотелиальные молекулы адгезии-1). И ретеплаза, и альтеплаза демонстрировали снижение экспрессии тромбоцитарных рецепторов в течение первых 3—6 часов с дальнейшим прогрессивным повышением в течение 12—24 часов. Сравнение агрегации тромбоцитов с уровнем тромбинемии (ТАТ) и эндогенным фибринолизом (PAI-1) свидетельствуют, что агрегация тромбоцитов в первую очередь является причиной высокого риска ранней и поздней реокклюзии. Таким образом, не вызывает сомнений необходимость дополнительной антитромбоцитарной терапии для оптимизации тромболиза и профилактики реокклюзий. Несмотря на то, что разные тромболитические агенты проявляют неодина-

ковую способность к активации тромбоцитов, тем не менее, все они повышают агрегационную активность тромбоцитов.

Стремление создать идеальный тромболитический препарат объясняет большое количество синтезированных в настоящее время тромболитических агентов. «Идеальный» тромболитик подразумевает следующие свойства (табл. 60):

- а) быстрый и эффективный тромболитизис без ретромбозов;
- б) отсутствие активации или подавления факторов свертывания крови, тромбоцитов или активации внутренней фибринолитической системы;
- в) отсутствие системной токсичности;
- г) специфичность в отношении патологически тромбированных сосудов, но не физиологически необходимых тромбов. Весьма важным фактором является и низкая стоимость такого препарата.

Несмотря на большое разнообразие имеющихся на сегодняшний день тромболитических агентов (табл. 61), идеальный препарата еще не синтезирован. Только адьювантная терапия на сегодняшний день позволяет оптимизировать и хотя бы немного приблизить тромболитическую терапию к «идеальной».

В таблице 62 приведены основные препараты адьювантной терапии.

Таблица 60.

«Идеальный» тромболитик.

Характеристики	Клинические преимущества
Быстрый тромболитизис	Восстановление артериального и венозного кровотока
Фибрин-специфичность	Литизис тромба исключительно локальный без системного фибринолиза
Достаточная продолжительность действия	Поддержание эффекта, отсутствие ранней реокклюзии
Тромбоспецифичность	Отсутствие эффектов в отношении фибриногена, других коагуляционных протеинов, без повреждения первичного (физиологического) гемостаза
Низкий риск геморрагий	Снижение риска церебральных и других геморрагий Возможность применения инвазивных методов лечения
Отсутствие системных побочных эффектов	Неантиген, отсутствуют системный фибринолитический ответ
Низкая стоимость	Возможность широкого применения в практике

Таблица 61.

Свойства различных тромболитических препаратов.

Препарат	Происхождение	Фибрин-специфичность	Литизис сгустка (при ОИМ)	Время полувыведения	Антигенные свойства	Внутричерепные кровотечения	Стоимость
Стрептокиназа (стрептаза)	Бактериальное	—	44—85%	~23 мин	+	0,5%	низкая
Альтеплаза (активаза)	Рекомбинантное	умеренная	60—88%	~4 мин	—	0,9%	высокая

Препарат	Происхождение	Фибрин-специфичность	Лизис сгустка (при ОИМ)	Время полувыведения	Антигенные свойства	Внутричерепные кровотечения	Стоимость
Ретеплаза (ретаваза)	Рекомбинантное	умеренная	63—85%	~15мин	—	0,8%	высокая
Тенектоплаза (металайза)	Рекомбинантное	Высокая	54—88%	~30—120 мин	—	0,9%	высокая
Анистреплаза (APSAC, эминаза)	SK-бактериальное, дериват плазминогена плазмы	>SK<rt-PA умеренная	60—72%	~2 часа	+	0,6%	низкая

Таблица 62.

Адьювантные к тромболитической терапии препараты.

Препарат	Механизм действия
Антитромбиновые препараты	
Гепарин.	АТ III-опосредованное ингибирование FII и FXa
Низкомолекулярный гепарин.	Анти-Ха-эффект
Гирудин/гирулог	Прямая ингибция тромбина
Аргатробан	Прямая ингибция тромбина
PPACK	Прямая ингибция тромбина
Антитромбоцитарные препараты	
Аспирин	Ингибитор циклооксигеназы
Дипиридамо́л (курантил)	Ингибитор фосфодиэстеразы
Тиклопидин	Блокатор тромбоцитарного рецептора GPIIb/IIIa
Клопидогрел	Ингибция АДФ-опосредованной активации тромбоцитарных рецепторов GPIIb/IIIa
Абсиксимаб (Рео-Про)	Антагонист тромбоцитарных GPIIb/IIIa
Тирофибан	Антагонист тромбоцитарных GPIIb/IIIa
Эптифибатид	Антагонист тромбоцитарных GPIIb/IIIa

Стрептокиназа

Стрептокиназа, как уже указывалось, обладает уникальным механизмом активировать плазминоген непрямым образом — через образование эквимольярных комплексов с плазминогеном, что в свою очередь способствует превращению плазминогена в плазмин.

В терапевтических дозах стрептокиназа проявляет крайне низкую фибрин-специфичность. В результате имеет место не только лизис фибрина в составе

тромба, но и системная плазминемия, деградация фибриногена и других протеинов плазмы. Потребление плазминогена в крови может лимитировать фибринолиз, который требует всё нового поступления плазминогена в участок тромбоза. Результатом системной плазминемии может быть и протеолиз белков тромбоцитарных мембран и, соответственно, активация тромбоцитов. Стрептокиназа достаточно быстро выводится из плазмы (в среднем около 20 минут), что требует продолжительной внутривенной инфузии для обеспечения достаточного тромболитического эффекта. В то же время необходимо отметить, что в случаях наличия в плазме антистрептококковых антител клиренс стрептокиназы увеличивается, что может быть причиной резистентности к стрептокиназе.

Несмотря на то, что в настоящее время синтезировано большое количество тромболитиков, в том числе более совершенных, чем стрептокиназа, следует заметить, что вследствие большого практического опыта применения терапия стрептокиназой лучше стандартизирована. Кроме того, в нашей стране по-прежнему в качестве тромболитического препарата в основном используется стрептокиназа.

Наиболее широкое распространение тромболитическая терапия получила при лечении ОИМ. Ещё в 1912 году Herrick в журнале «Jama» опубликовал статью, где указывал, что почти у 90% пациентов с ОИМ развивается острый коронарный тромбоз. Последующие многочисленные исследования в дальнейшем подтвердили клиническую эффективность тромболитической терапии при ОИМ и восстановлении проходимости коронарных артерий. В нашей стране тромболитики в лечении больших ОИМ были впервые изучены и внедрены Е.П. Чазовым. Было доказано значительное снижение смертности от ОИМ при раннем включении в терапию тромболитиков: раннее восстановление проходимости коронарных сосудов предотвращало дальнейшее ишемическое поражение миокарда, что позволяло сохранить функцию миокарда и электрическую стабильность.

Хотя первые публикации о применении СК в лечении ОИМ появились в середине 50-х годов, большие исследования, посвященные стандартизации доз стрептокиназы и ее эффективности при ОИМ не проводились до 1980г. Ангиографические исследования свидетельствуют, что реканализация к 60 минутам инфузии стрептокиназы составляет 55% и 48% к 90 минутам. В то же время по обобщенным данным мета-анализов через 2—3 часа терапии эффективность лизиса тромба и реканализации составляет 72% и 75% — 85% к 21—24 дню. Это значительно выше, чем в контрольных группах, приближается к данным по анистреплазе, но меньше, чем в группе альтеплазы.

Смертность у пациентов, получавших СК изучалась в исследованиях Gruppo Italiano per lo Studio Streptokinase nell'Infarto Miocardico (GISSI-1), Intravenous Streptokinase in Acute Myocardial study (ISAM) и в International Study of Infarct Survival (ISIS)-2. Хотя только 14% пациентов получали аспирин и 62% — гепарин в качестве адьювантной терапии, внутриспитальная смертность была снижена на 18% по сравнению со стандартной терапией. Наибольшее снижение смертности отмечалось у пациентов, леченных в пределах 1 часа от ОИМ (47%). Чем позже была начата терапия, тем хуже были результаты: у пациентов с началом тромболитической терапии через 3 часа снижение смертности составило 23%, а через 6 часов — 17%.

При ОИМ режим введения стрептокиназы отличается от такового при венозном тромбоземболизме, поскольку используются более высокие дозы с целью достижения максимального эффекта в короткий период времени. Стрептокиназа обычно назначается в дозе 1 500 000 ЕД не менее 1 часа или 20 тыс ЕД интракоронарно, затем по 2 тыс ЕД/мин. Для лечения венозного тромбоземболизма стрептокиназа обычно назначается болюсно в дозе 250 000 ЕД с последующей постоянной инфузией 100 000 ЕД/ч в течение 3 дней (табл. 63).

Режимы тромболитической терапии.

Препарат	Клиническая ситуация	Дозы
Стрептокиназа	ОИМ	1500 тыс Ед в/в в теч. 1 часа или 20 тысЕд интракоронарно, затем 2тысЕд/мин в теч.60минут
	ТЭЛА	250тысЕд в/в в теч.0,5ч, затем 100тысЕд/ч в теч.24ч (72ч если одновременно присутствует ТГВ)
	ТГВ	250тысЕд в/в в теч.0,5ч, затем 100тысЕд/ч в теч. 72 часов
	ПАО	250тысЕд в/в в теч.0,5ч, затем 100тысЕд/ч в теч. 24—72ч.
Анистреплаза	ОИМ	30Ед в/в в течение 2—5 минут
Урокиназа	ОИМ	6тысЕд/кг в мин в теч. ≤2ч интракоронарно
	ТЭЛА	4,4тыс Ед/кг болюсно, затем 4,4тысЕд/час в теч.12ч внутривенно
	ПАО	4тысЕд/мин в теч.4ч, затем 4тысЕд/мин в теч.148ч
Альтеплаза	ОИМ	15мг болюсно в/в, затем 50мг инфузия в теч.30мин, затем 35мг следующие 60минут. Если вес ≤67кг максимальная доза не должна превышать 100мг
	ТЭЛА	100мг в/в в теч.2ч
	ОИИ	0,9мг/кг в теч.60мин:10% от дозы в качестве начального болюса
	ТГВ	10мг через катетер, затем 1—2мг/час в теч.12ч
Ретеплаза	ОИМ	10Ед в/в в теч.2мин, перерыв 28 минут, затем повторить
	ТЭЛА	10Ед в/в в теч.2мин, перерыв 28 минут, затем повторить
Тенектоплаза	ОИМ	30—50мг в/в болюсно (в зависимости от массы тела)
Ланотеплаза	ОИМ	15—120тысЕд/кг в теч.2—4 мин

ОИМ — острый инфаркт миокарда

ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии

ТГВ — тромбоз глубоких вен

ПАО — периферическая артериальная окклюзия

ОИИ — острый ишемический инсульт

Целью начального болюса является связывание и нейтрализация циркулирующих антистрептококковых антител, которые достаточно часты вследствие широкой распространенности стрептококковой инфекции в общей популяции. При высоком титре антистрептококковых антител, тем не менее, может формироваться резистентность к тромболитической терапии стрептокиназой. Поэтому весьма важен контроль эффективности терапии стрептокиназой измерением протромботического эффекта через 1—2 часа после начала инфузии (концентрация фибриногена плазмы или тромбиновое время свертывания). Если значения этих парамет-

ров не отражают наличие фибринолитического эффекта, может быть необходима вторая болюсная инфузия для «продолжения» нейтрализации антистрептококковыми антителами.

В свою очередь следует заметить, что поскольку сама стрептокиназа обладает антигенными свойствами, то может стать причиной возникновения антистрептококковых антител и таких побочных реакций как лихорадка и гипотензия.

Урокиназа

Поскольку урокиназа является естественным активатором плазминогена, синтезируемым почечными клетками и присутствует в моче, из-за потенциальной опасности вирусной контаминации коммерческое ее производство приостановлено и клиническое применение ограничено.

Урокиназа выводится в основном через печень, и время ее полувыведения составляет около 15 минут.

Урокиназа до последнего времени эффективно использовалась для лечения ТГВ, ТЭЛА, ОИМ, периферической артериальной окклюзии и ишемического инсульта. При периферической артериальной окклюзии урокиназа вводится через катетер, установленный в области тромба.

Тканевой активатор плазминогена

Тканевой активатор плазминогена (t-PA) структурно и иммунологически отличается от урокиназы. t-PA обладает относительной фибрин-специфичностью. В клинической практике t-PA назначается в высоких дозах, которые часто вызывают выраженный протеолиз фибриногена плазмы, но в меньшей степени, чем стрептокиназа и урокиназа. После внутривенного введения t-PA имеет короткое время полувыведения — около 5 минут, что требует постоянной инфузии для поддержания терапевтического уровня в плазме.

Клинические исследования свидетельствуют, что t-PA при лечении ТГВ демонстрирует неоднозначные результаты. Поэтому t-PA редко применяется при лечении острой ТЭЛА в режиме 100 мг в не менее 2 часов, что позволяет в значительной мере лизировать тромб и восстановить гемодинамику. При ОИМ t-PA также демонстрирует быструю реперфузию у большинства пациентов наряду со снижением связанной с инфарктом заболеваемости и смертности.

Тромболитическая терапия может быть успешной и у некоторых пациентов с ишемическим инсультом. Исследования по применению t-PA свидетельствуют о положительном эффекте. Так, в исследовании National Institute of Neurologic Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study пациенты в течение 3 часов от начала симптомов получали плацебо или rt-PA в дозе 0,9мг/кг. В группе пациентов, получавших rt-PA отмечалась значительная положительная динамика, хотя и частота внутримозговых геморрагий возросла с 0,6% до 6,4%. В настоящее время изучаются возможности селективной интраартериальной тромболитической терапии с установкой катетера в области интракраниального тромбоза. В предварительных исследованиях получены весьма обнадеживающие результаты. Важным аспектом безопасной тромболитической терапии у пациентов с инсультами является селекция пациентов с высоким риском интракраниальных кровотечений.

APSAC (антистреплаза)

Важной фармакологической особенностью APSAC является относительно длительное время полувыведения, что позволяет применять препарат в качестве болюсной терапии. Фибрин-связывающие свойства APSAC способствуют относительно большей активности в области депозиции фибрина, чем в системном кровотоке, а системная плазминемия и снижение фибриногена менее выражены, чем у стрептокиназы или урокиназы, но значительно больше, чем у t-PA. Поскольку APSAC иммуногенен (является химически модифицированным дери-

ватом стрептокиназы) возможно, как и у стрептокиназы, развитие резистентности и терапии и аллергических реакций, которые, тем не менее, гораздо более редки по сравнению со стрептокиназой.

APSAC в первую очередь клинически применим при ОИМ. 30 ЕД болюса внутривенно способствуют развитию высокой степени коронарной реперфузии.

Ретеплаза (r-PA)

Ретеплаза, пожалуй, является самой успешной среди множества продуктов рекомбинантных технологий t-PA. В связи с более длинным временем полувыведения по сравнению с t-PA, он может назначаться болюсно и реже — в режиме постоянной внутривенной инфузии. Ретеплаза в основном применяется в лечении острого инфаркта миокарда и назначается в форме двух болюсных инъекций (10 ЕД) с промежутком в 30 минут.

Альтеплаза (rt-PA)

Первое сравнительное исследование альтеплазы и SK, Thrombolysis in Myocardial Infarction-1 (TIMI-1), показано, что к 90-й минуте терапии альтеплазой степень реперфузии составила 62% по сравнению с 31% при терапии стрептокиназой. На основании ангиографических данных эффективность альтеплазы была 70% и 43% у SK. Более высокий уровень реперфузии был продемонстрирован с «усиленным» дозовым режимом альтеплазы. Согласно результатам большого исследования GUSTO-1 (Global Utilization of Streptokinase and t-PA for Occluded Coronary Arteries-1) смертность значительно снижается при применении «усиленного» дозового режима альтеплазы по сравнению с другими режимами.

Сравнительные исследования альтеплазы демонстрируют не только преимущества альтеплазы как фибринолитического препарата, но и важность адьювантной терапии с использованием в/в гепарина и аспирина.

Тем не менее, альтеплаза уступает по эффективности в отношении реперфузии при ОИМ, о чем свидетельствуют результаты TIMI (Thrombolysis in myocardial infarction). Смертность, по данным TIMI, у пациентов, получающих ретеплазу составила 3,1% и альтеплазу — 8,4%. Альтеплаза используется также и при лечении ТЭЛА, ТГВ, ишемических инсультов (табл.63).

Тенектоплаза

Тенектоплаза (TNK-t-PA), являясь тромболитиком III поколения, имеет ряд преимуществ по сравнению с препаратами предыдущих поколений. Продукт биотехнологии t-PA, тенектоплаза, имеет большее время полувыведения, повышенную резистентность к инактивации под действием PAI-1 и большую фибринспецифичность. Тенектоплаза и альтеплаза имеют схожие клинические тромболитические эффекты у пациентов с ОИМ, включая уровень смертности и внутривенные кровотечения. К преимуществам относится большее время полувыведения, фибринспецифичность, быстрый эффект и простота в использовании, а также более низкая частота нецеребральных кровотечений.

Саруплаза

Саруплаза (scu-PA) в клинических исследованиях сравнивалась с SK и альтеплазой. Ангиографические данные свидетельствуют об эквивалентности ее SK. Однако для scu-PA характерна более высокая частота внутривенных кровотечений (0,9%) по сравнению с SK (0,3%).

Ланотеплаза (n-PA)

Хотя по сравнению с альтеплазой (TIMI) ланотеплаза эффективнее (к 90 минуте уровень реперфузии 83% для n-PA и 71% для альтеплазы), частота внутривенных кровотечений выше у n-PA (1,13% для n-PA и 0,62% для rt-PA).

Стафилокиназа

Рекомбинантная стафилокиназа (STAR) исследовалась в двух рандомизированных исследованиях — TIMI и CAPTORS (Collaborative Angiographic Patency Trial of Recombinant Staphylokinase). Реперфузия, по данным TIMI, составила 62% у пациентов после ОИМ, получавших стафилокиназу по сравнению с 58% у пациентов, получавших альтеплазу. В исследовании CAPTORS изучались дозовые режимы STAR от 15 мг до 45 мг. Вне зависимости от дозы реперфузия составляла 62%.

Цереброваскулярные тромбозы и тромболитическая терапия

Показанием к тромболитической терапии у пациентов с острыми цереброваскулярными тромбозами является тот факт, что как и при ОИМ в большинстве случаев острых инсультов (около 80%) развивается тромбоз. Прогрессирование острой церебральной ишемии вплоть до развития необратимого инфаркта с помощью КТ выявляется запоздало. Первое большое клиническое исследование, проведенное в 1995 году NINDS (National Institute of Neurologic Disorders and Stroke Study Group) продемонстрировало успешность тромболитической терапии (rt-PA) при остром ишемическом инсульте. При этом тромболитическая терапия назначалась не позднее, чем через 3 часа после первых проявлений инсульта в отсутствие внутримозговых геморрагических повреждений, что было предварительно исключено КТ-исследованием. Поскольку внутримозговые геморрагии ассоциируются с гипертензией у всех пациентов, получавших rt-PA, контролировалось АД и не превышало 185 мм рт. ст. систолическое и 110 мм рт. ст. диастолическое. Доза rt-PA составляла 0,9 мг/кг: 10% дозы назначалось болюсно, с последующей инфузией в течение 1 часа. Хотя через 24 часа значительной разницы между пациентами, получавшими rt-PA и плацебо не отмечалось, последующий анализ через 3 месяца свидетельствовал о значительно лучших исходах в группе пациентов, получавших rt-PA. Смертность через 3 месяца в группе пациентов, получавших rt-PA, составила 17%, в то время как в плацебо-группе — 21%. Риск симптоматических церебральных геморрагических осложнений, однако, составил 6,4% для rt-PA-пациентов и 0,6% для плацебо-пациентов. К концу 12 месяцев в группе леченных пациентов отмечалась 30%-ая редукция неврологической симптоматики по сравнению с плацебо-группой.

Мета-анализ тромболитической терапии при остром ишемическом инсульте свидетельствует, что значительный успех терапии может быть достигнут, если внутривенная инфузия rt-PA начата в течение 6 часов после появления первых симптомов инсульта. Однако большая эффективность и меньший риск геморрагических осложнений отмечается, если тромболитическая терапия начата в течение первых 3 часов после появления симптомов инсульта.

Тем не менее, встречаются сообщения об остром гемоперикарде у пациентов со свежей ишемией миокарда, которые получали в/в rt-PA в связи с острым ишемическим инсультом, что еще раз подтверждает необходимость взвешенного подхода к в/в назначению rt-PA в группах риска по геморрагическим осложнениям. Безусловно, более эффективной и безопасной представляется местное интраартериальное введение тромболитических препаратов.

Венозный тромбозмблизм

Показания к тромболитической терапии при венозном тромбозе менее ясные, чем в других клинических ситуациях (при остром инфаркте миокарда, например, необходимость ее не вызывает сомнений). Так, если острая ТЭЛА может быть причиной гемодинамических нарушений и смерти, тромбоза глубоких вен, как правило, менее острая ситуация и повреждение тканей в короткий проме-

жуток времени не значительно, по сравнению с артериальной окклюзией. Поэтому полный лизис тромба в короткое время не является критически значимым в условиях низкого венозного кровотока. По сравнению с артериальными венозные тромбы обычно присутствуют более длительное время и не всегда диагностируются сразу после возникновения, поскольку чаще протекают почти бессимптомно. Показанием к тромболизису является необходимость быстрого устранения гемодинамических нарушений при массивной ТЭЛА, а также восстановление венозного кровотока с целью устранения болей и отека при илеофemorальной тромбозе и снижение риска развития постфлебитического синдрома (который развивается почти у четверти больных ТГВ). Большим вопросом остается, насколько немедленное введение тромболитиков имеет преимущества перед стандартной терапией антикоагулянтами — гепаринами или НМГ в условиях ТГВ.

Тромболитическая терапия при массивной ТЭЛА

Исследования, посвященные применению тромболитиков при ТЭЛА ведутся с 1970 года, когда было показано, что инфузия SK в течение 24 часов и урокиназы (UK) в течение 12 часов имеют схожие эффекты и превосходят гепарин по эффективности в отношении ранней реканализации. Подобный эффект демонстрирует и альтеплаза. Через 4 часа отмечалось снижение резистентности легочных сосудов на 25% на фоне тромболитической терапии и только на 4% — на фоне терапии нефракционированным гепарином в/в. Хотя вентиляционно/перфузионные нарушения через 24—72 часа в большей степени корригировались на фоне тромболитической терапии, исследования в более отдаленный период свидетельствовали практически об одинаковой эффективности с нефракционированным гепарином. Риск внутричерепных геморрагий при лечении тромболитиками составил 1% — 2%.

При сравнении двуболусного введения ретеплазы с альтеплазой, оба препарата обладали почти одинаковой эффективностью и безопасностью.

Тромболитическая терапия ТЭЛА подразумевает назначение «ударной» дозы 250 000 Ед SK с последующей инфузией 100 000 Ед/ч в течение 24 часов.

UK назначается в ударной дозе 4400 МЕ/кг с последующей инфузией 2200 МЕ/кг/час в течение 12 часов. Лабораторный мониторинг в процессе терапии SK и UK направлен, прежде всего, на выявление системного фибринолиза. Удлинение АЧТВ или тромбинового времени (ТВ) позволяет судить о фибринолизе в процессе тромболитической терапии. Гепарин назначается только при условии, что значения АЧТВ и ТВ минимум в двух исследованиях — в пределах нормальных значений.

Альтеплаза назначается инфузионно в дозе 100м каждые 2 часа. Хотя ретеплаза пока широко не применяется при ТЭЛА, дозовые режимы ее в настоящее время отрабатываются. Предварительно, эффективной считается доза в форме двух внутривенных болусов в 10 Ед с промежутком 28 минут. Конкурентная инфузия гепарина наряду с SK и UK не показана, хотя возможна наряду с rt-PA и r-PA. По окончании тромболитической терапии абсолютно необходима антикоагулянтная терапия гепарином или НМГ с целью предотвращения ретромбоза. Наиболее часто тромболитическая терапия у пациентов с ТЭЛА проводится при наличии выраженных гемодинамических нарушений или эхокардиографической картины правожелудочковой дисфункции. Терапия rt-PA может быть успешной у пациентов с синкопальными явлениями, гипотензией или субмассивной ТЭЛА в присутствии преморбидных сердечно-легочных заболеваний. Особо следует отметить, что по жизненным показаниям rt-PA показан даже пациентам, которые имеют противопоказания к тромболитической терапии в целом, включая недавнее оперативное вмешательство, в том числе нейрохирургическое, беременность, послеродовый период, в комплексе реанимационных мероприятий, когда необходимо быстро восстановить функцию сердца и легких.

У пациентов с массивной ТЭЛА, тромболитическое лечение одновременно сочетается с фрагментацией тромба с помощью «pigtail»-катетера (катетер в форме «свиного хвостика»).

Тромболитическая терапия при тромбозе глубоких вен

Тромболитическая терапия при ТГВ может быть успешной при относительно низком риске. Показанием к тромболитической терапии может быть острый илеофemorальный тромбоз у молодых пациентов с высоким риском развития постфлебитического синдрома. Дозы тромболитиков при этом соответствуют таковым при ТЭЛА. Одним из методов тромболитической терапии может быть локальное введение тромболитиков через катетер. Степень реканализации может достигать 90% и процедура может сопровождаться установкой внутрисосудистого стента. Относительно старые тромбы (давностью в 4 недели) также могут поддаваться тромболитической терапии. Однако, к сожалению, частота внутримозговых геморагий составляет 11%; возможна смерть в результате ТЭЛА; при этом отдаленные результаты успешности ранней тромболитической терапии при ТГВ все еще сомнительны.

Тромболитическая терапия при периферических артериальных тромбозах

Острый тромбоз периферических артерий представляет собой проблему идентичную острому коронарному тромбозу, поскольку острая ишемия в зависимости от времени ведет к развитию инфаркта. Однако следует заметить, что клинические исходы при тромболитической терапии и раннем хирургическом удалении тромба отличаются. Успеху тромболитического лечения противопоставляется риск внутричерепных кровотечений.

У большинства пациентов с периферической артериальной окклюзией одновременно присутствует атеросклероз и другие факторы, ассоциированные с повышенным риском геморагий. Тромболитическое лечение может быть эффективным при окклюзии мелких артерий, не доступных для хирургического удаления тромба. Наряду с тромболитическим лечением острого тромбоза в ряде случаев бывает необходима ангиопластика или другая сосудистая операция для восстановления сосудистой функции.

Клинические исследования свидетельствуют об эффективности тромболитиков в лечении периферических артериальных тромбозов. В одном из ранних исследований, проведенном в 1994 году, отмечается успешная реперфузия у 70% пациентов, получавших UK по катетеру и у 30% пациентов с одновременной ангиопластикой. Тем не менее, через 1 год смертность в группе пациентов, получающих тромболитики, составила 16% и 42% в группе «хирургических» пациентов. Тяжелые геморагии развились у 13% «тромболитических» пациентов (1,5% внутричерепные геморагии) и 6% у «хирургических» пациентов. При исследовании альтеплазы не было получено убедительных данных за ее преимущества перед хирургическим лечением.

Однако и альтеплаза, и UK превосходят SK в реперфузии (80% вместо 64%) и обладают меньшим риском геморагических осложнений (5% вместо 25%). Стафилокиназа, обладая хорошим тромболитическим эффектом, значительно повышает риск внутричерепных геморагий (2,1%).

Тромболитическая терапия при других заболеваниях

Тромболитическая терапия в настоящее время получила более широкое распространение благодаря появлению новых препаратов последнего поколения. Так, тромбоз венозных синусов мозга и интравентрикулярные геморагии успешно лечатся тромболитиками. В «труднодоступные» участки артериальных тромбозов тромболитики вводятся через катетер, включая аксиллярную/подключичную вену, при тромбозах брыжеечной артерии и венозной системы, верхней и нижней по-

лых вен, портальных вен и периферической артериальной окклюзии вследствие гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбоза.

Тромболитическая терапия рекомендована в качестве первоочередной стратегии терапии при тромбозе механических клапанов сердца. Пациенты, успешно «отвечающие» на тромболитическую терапию, как правило, не нуждаются в дальнейшем хирургическом вмешательстве.

Тромбозы другой локализации, в частности искусственных поверхностей (фильтры v.cava, периферические и центральные катетеры, артериовенозные канюли, дализные катетеры). Однако во всех ситуациях необходимо взвешивать потенциальную пользу и риск угрожающих жизни кровотечений.

Адьювантная терапия

Назначение тромболитиков является одним из аспектов фармакологического вмешательства, направленных на восстановление сосудистой проходимости и предупреждение ишемии тканей и инфарктов. Полноценная терапия острых тромбозов подразумевает также применение антитромбоцитарных препаратов, антикоагулянтов, вазодилататоров и в ряде случаев хирургическое вмешательство. Тромболизис может прямо активировать систему гемостаза в результате высвобождения из сгустка тромбина, который обладает прокоагулянтными свойствами. Выбор адьювантной терапии во многом зависит от локализации тромба и причины тромбоза, если таковая известна (АФС, генетическая тромбофилия и пр.). В основном, при ТГВ и ТЭЛА тромболизис является первым этапом терапии, после которого следует стандартная антикоагулянтная терапия гепарином или НМГ и затем длительная терапия оральными антикоагулянтами. Антикоагулянты не следует назначать одновременно с тромболитиками вследствие высокого риска геморрагических осложнений. Как уже указывалось, лишь при нормализации значений АЧТВ и ТВ (как минимум в двух исследованиях) возможно назначение антикоагулянтов. При остром инсульте риск внутричерепных кровотечений высок, поэтому антикоагулянты не следует назначать в ближайшие 24 часа после терапии t-PA. В то же время при ОИМ ситуация иная. С целью достижения максимальной реперфузии и предотвращения реокклюзии, применяется комбинированная терапия, включающая антитромбоцитарные препараты и гепарин или НМГ. При этом лечение низкими дозами гепарина не сопряжено с повышением риска внутричерепных кровотечений. Согласно рекомендациям АСС/АНА (American College of Cardiology / American Heart Association) стандартный режим гепаринотерапии включает 5 000 Ед болюсно с последующей инфузией 1000 Ед/час с поддержанием АЧТВ в пределах 50—70 секунд.

НМГ демонстрируют более высокую эффективность при нестабильной стенокардии и не-Q-зубцовом инфаркте миокарда, что было подтверждено в 2 больших исследованиях тромболитической терапии стрептокиназой. На фоне адьювантной терапии НМГ отмечалось снижение риска возникновения мурального левожелудочкового тромбоза и повторного инфаркта в течение 30 дней.

Осложнения тромболитической терапии

Наиболее частыми и серьезными осложнениями тромболитической терапии являются кровотечения, которые могут возникать по двум причинам. Во-первых, усиленный фибринолиз в результате лечения не ограничивается только областью тромба, а действует на все депозиты фибрина. При этом некоторые фибриновые депозиты физиологически необходимы для предотвращения кровотечений в области сосудистого повреждения (в результате использования катетера или при патологических повреждениях мозга, желудочно-кишечного тракта или мочеполового тракта).

Во-вторых, кровотечение может быть результатом гипокоагуляции вследствие эффекта фибринолитических агентов на тромбоциты, фибриноген и другие протеины плазмы, равно как и вследствие фармакологических эффектов антикоагулянтов и антитромбоцитарных препаратов, назначаемых конкурентно с тромболитиками.

Основной подход к решению этих проблем заключается в тщательной селекции пациентов с целью минимизации осложнений, что подразумевает своевременное выявление факторов риска геморрагических осложнений и, наконец, «агрессивный» подход к купированию геморрагических осложнений, если они развились.

Наиболее опасным осложнением являются внутримозговые кровоизлияния, которые развиваются в среднем менее чем у 1% пациентов, но ведут в высокой смертности и инвалидизации.

К факторам риска относятся сосудистые заболевания мозга, травма, хирургические вмешательства, опухоли; поэтому в таких случаях по возможности следует избегать тромболитической терапии. Риск внутримозговых кровоизлияний выше у пациентов преклонного возраста, при наличии гипертензии и высоких дозах тромболитиков. В процессе тромболитической терапии следует максимально уменьшить количество инвазивных сосудистых процедур, включая венопункции. Следует обращать внимание на такие жалобы как боли и отеки, поскольку кровоизлияние в ткани клинически первоначально проявляется в форме этих симптомов.

Отдельной проблемой являются кровоизлияния на фоне тромболитической терапии в условиях предшествующих повреждений в желудочно-кишечном или мочеполовом тракте, таких как язвы или нераспознанные своевременно опухоли.

Таким образом, факторами риска геморрагических осложнений на фоне тромболитической терапии являются:

- Преклонный возраст (>75 лет).
- Африканское происхождение.
- Уровень альтеплазы 1500 нг/мин и выше.
- Ангиография или ангиопластика.
- Обходное шунтирование.
- Декомпенсация сердца.
- Женский пол.
- Низкий уровень фибриногена.
- Гипертензия.
- Низкая масса тела.
- Количество тромбоцитов ниже 100 000.

Основные противопоказания к тромболитической терапии:

Абсолютные.

- Геморрагический инсульт в анамнезе.
- Другие инсульты или цереброваскулярные проявления в течение 1 года.
- Активное внутреннее кровоизлияние (не включая мenses).
- Внутричерепная опухоль.
- Расслоение аорты (аневризма).

Относительные.

- Недавняя (в последние 10 дней) хирургическая операция.
- Недавняя (в последние 10 дней) пункция внутренних органов или сосудов.
- Недавнее (в последние 10 дней) кровоизлияние из желудочно-кишечного или мочеполового тракта.
- Недавняя (в последние 10 дней) травма.
- Недавняя (в последние 3 месяца) операция на головном или спинном мозге, серьезная травма головы.
- Плохо контролируемая гипертензия: систолическое давление ≥ 180 мм рт. ст. или диастолическое ≥ 110 мм рт. ст.
- Артериовенозные мальформации.
- Подострый бактериальный эндокардит.
- Острый перикардит.
- Геморрагический диатез.
- Выраженная печеночная дисфункция (ретенция при необходимости может быть безопаснее, поскольку выводится через почки).

Геморрагическая офтальмопатия (в том числе диабетическая ретинопатия).
 Недавнее применение антикоагулянтов (особенно варфарина).
 Септический тромбоз или тромбированная и инфицированная артериовенозная фистула
 Аллергия к тромболитическим препаратам (особенно к стрептокиназе, анистреплазе).
 Терапия стрептокиназой или анистреплазой в течение последних 2 лет или более (антитела могут персистировать вплоть до 54 месяцев).

Купирование геморрагических осложнений зависит от выраженности кровотечения, его локализации, клинических проявлений.

Массивное кровотечение с гемодинамическими нарушениями, в первую очередь, требует немедленного устранения системного фибринолитического эффекта. При этом тромболитическая терапия должна быть немедленно отменена, и срочно проведено определение уровня фибриногена и ТВ или АЧТВ. количество тромбоцитов (табл. 64, рис. 77).

Таблица 64.

Осложнения тромболитической терапии и принципы их купирования.

Осложнения	Этиология	Ведение
Кровотечения	Фибринолиз (низкий уровень фибриногена) Дисфункция тромбоцитов	В случае внутримозгового кровотечения — консультация нейрохирурга и коррекция гемостаза (см. ниже) При массивных кровотечениях: необходимые тесты — АЧТВ, кол-во тромбоцитов, фибриногена; решение локальных гемостатических проблем: дополнительная компрессия, если кровотечение связано с артериальной пункцией; восполнение ОЦК и трансфузия эритроцитарной массы, если это необходимо коррекция аномального гемостаза: предотвратить дальнейший фибринолиз: отменить тромболитики; назначить ε-аминокапроновую кислоту или аprotинин (гордокс) заместительная терапия с целью коррекции дефектов, индуцированных тромболитической терапией: криопреципитат 5—10Ед и 2 дозы свежезамороженной плазмы; возможна трансфузия тромбоцитарной массы коррекция других гемостатических дефектов: отменить антикоагулянты и антитромбоцитарные препараты; с целью нейтрализации гепарина возможно назначение протамина сульфата
Эмболизация	Частичный тромбоз	Продолжить тромболитическую терапию + адьювантная терапия
Гипотензия, лихорадка, сыпь	Анафилаксия	Внутривенно жидкости, вазопрессоры, глюкокортикоиды, антигистамины.

Внутричерепное кровотечение является наиболее опасным осложнением и должно быть заподозрено у пациентов с жалобами на головные боли или с неврологическими нарушениями. Если внутричерепное кровотечение при этом подтверждается, необходима консультация нейрохирургов и принятие мер по восстановлению нормального состояния гемостаза. Несмотря на это, заболеваемость и смертность в таких случаях высокая.

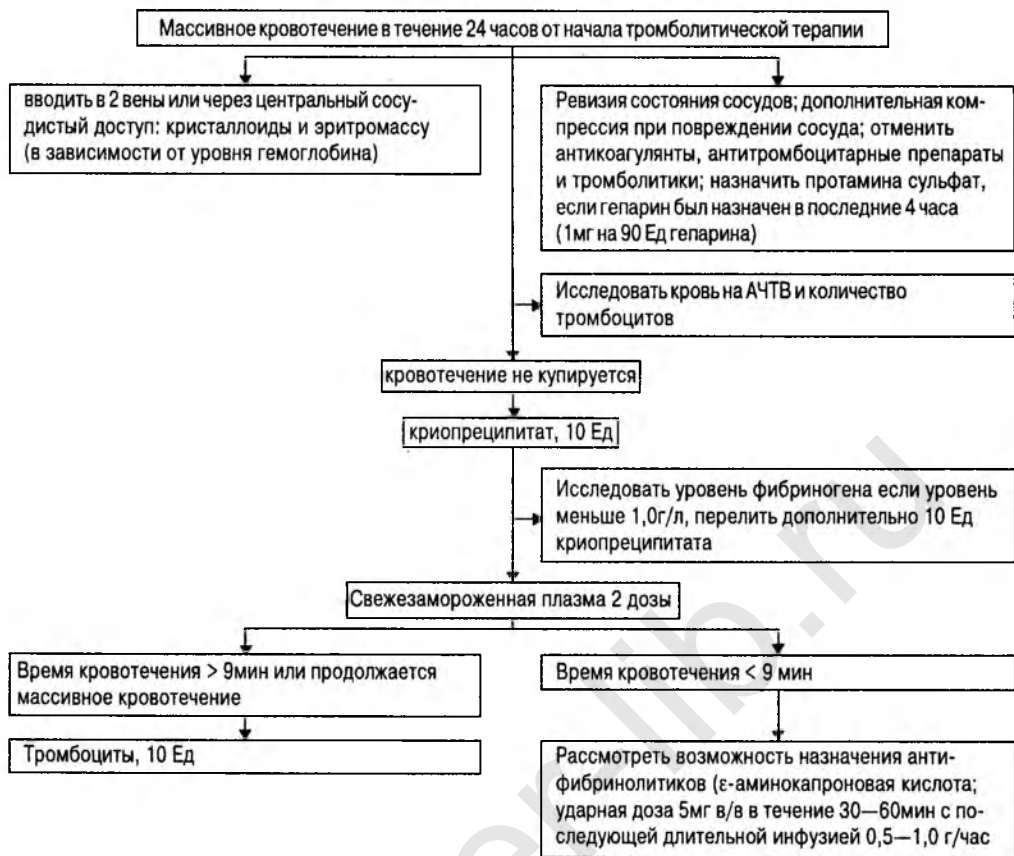


Рис. 77. Алгоритм купирования массивного кровотечения после тромболитической терапии.

При массивных кровотечениях часто отмечаются геморрагии в ткани органов желудочно-кишечного и мочеполового трактов. В таких случаях необходима точная диагностика локализации кровотечения и специфическая терапия. При массивных кровотечениях с целью блокирования системного фибринолиза в ряде случаев необходимо назначение антифибринолитиков, таких как ϵ -аминокапроновая кислота, транексамовая кислота.

Вторым важным принципом купирования геморрагии является заместительная терапия с целью коррекции дефектов гемостаза, связанных с гиперплазминемией. Восполнение фибриногена также важно, равно как и восполнение других факторов свертывания переливанием свежемороженой плазмы. Введение тромбоцитарной массы может быть успешным, учитывая, что тромболитики вызывают дисфункцию тромбоцитов.

Если наряду с тромболитиками применялась адьювантная терапия антикоагулянтами или антитромбоцитарными препаратами, необходима также немедленная их отмена.

К другим потенциальным осложнениям тромболитической терапии относятся аллергические реакции и дистальная эмболизация. Иммуные реакции на SK хорошо описаны и достаточно давно известны, однако в ряде случаев отмечаются и реакции на rt-PA. Лечение заключается в назначении глюкокортикоидов. Гипотензия может развиваться примерно у 12% пациентов, получающих SK или APSAC и около 7% пациентов, получающих rt-PA. Терапия подразумевает внутривенную инфузию жидкостей и, по необходимости, вазопрессоров.

У пациентов с периферическими артериальными тромбозами на фоне тромболитической терапии возможна периферическая эмболизация. У пациентов с ТГВ и ТЭЛА крайне редко отмечаются проявления тромбоэмболизма как результата тромболитической терапии. В таблице 74 суммированы основные принципы ведения осложнений тромболитической терапии.

Список литературы

1. Бокарев И.Н., Павлов А.В., Янкин В.В. и др. Быстрый тромболитический препаратом стрептокиназы при остром инфаркте миокарда. // Тромбозы, геморрагии, ДВС-синдром. Вопросы лечения: Междунар. конф. (Москва 2—4 апр. 1997 г.). — М., 1997. — С. 128.
2. Бокарев И.Н., Довголис С.А. Тромболитическая терапия инфаркта миокарда. // РМЖ. — 1998. — Том 6. — № 3.
3. Гемостаз. Под редакцией Петрищева Н.Н., Папаян Л.П. Санкт-Петербург, 1999. 117 с.
4. Грицюк А.И. Проблемы внутрисосудистого свертывания и тромбообразования при ишемической болезни сердца. // Кардиология. — 1984. — № 2. — С. 5—8.
5. Максименко А.В. Активаторы плазминогена третьего поколения. Новое направление изучения. // Биоорганическая химия. 1999. — т. 25. — №8. — С. 563—571.
6. Максименко А.В., Тищенко Е.Г. Комбинированный тромболитический — новое направление исследования активаторов плазминогена третьего поколения. // Вопросы биологической медицинской и фармакологической химии. — 2000. — №1 — С.1—10.
7. Максименко А.В., Тищенко Е.Г., Добровольский А.Б. Стратегия тромболитической: сочетанное действие активаторов плазминогена. Тромболитические композиции. //Химико-фармакологический журнал. — 1998.— т. 32. — №4.— С. 12—13.
8. Малиновский Н.Н., Козлов В.А. Антикоагулянтная и тромболитическая терапия в хирургии. // М., Медицина, 1976. — 424 с.
9. Панченко Е.П. Тромболитические средства. Часть 3. // Клиническая фармакология и терапия. — 1998. — №7. — С. 84—88.
10. Руда М.Я. Что нужно знать практическому врачу о тромболитической терапии при инфаркте миокарда. Клиническая лекция. // РМЖ. — 2002. — Том 1. — № 1.
11. Ферстрате М. Новейшие тромболитические препараты // Тромбоз, гемостаз и реология, 2001. №1(5).
12. Чазов Е.И. Антикоагулянты и фибринолитические средства. — М.: Медицина, 1977. — 311 с.
13. Чазов Е.И. Фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. Руководство для врачей. // М., 2000. — 416 с.
14. Чазов Е.И. Инфаркт миокарда — прошлое, настоящее и некоторые проблемы будущего. // РМЖ. — 2002. — Том 1. — № 1.
15. Albers G.W., Bates V.E., Clark W.M., Bell R., Verro P., Hamilton S.A. Intravenous tissue-type plasminogen activator for treatment of acute stroke: the Standard Treatment with Alteplase to Reverse stroke (STARS) study. // JAMA, 2000; 283: 1145.
16. Bode C., Smalling R.W., Kalbfleish J., et al., and the RAPID Investigators. Randomized comparison of double bolus reteplase (rPA) and front-loaded alteplase (rt-PA) in patients with acute myocardial infarction (RAPID II) (abstr). // Eur. Heart J., 1995; 16(suppl): 11.

17. Collen D. Is there an optimal thrombolytic regimen? // *Coronary Artery Dis.*, 1994; 5: 287—291.
18. Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Clowes A.W., George J.N. eds. Hemostasis and thrombosis. Basic Principles and clinical practice. Lippincott Williams&Wilkins.
19. Davies M.J. Pathology of arterial thrombosis. // *Br. Med. Bull.*, 1994; 50: 789—802.
20. del Zoppo G.J., Pessin M.S., Mori E., Hacke W. Thrombolytic intervention in acute thrombotic and embolic stroke. // *Sem. Neurol.*, 1991; 11(4): 368.
21. Fay W.P., Eitzman D.T., Shapiro A.D., Madison E.L., Ginsburg D. Platelets inhibit fibrinolysis in vitro by both plasminogen activator inhibitor — 1 — dependent and — independent mechanisms. // *Blood*, 1994; 83: 351—356.
22. Grunewald M., Ellbruck D., Mohren M., et al. Single vs double bolus thrombolysis with the recombinant plasminogen activator BM 06.022 in patient with acute myocardial infarction — pharmacokinetics and hemostatic changes (abstr). // *Thromb. Haemost.*, 1995; 73: 1328.
23. Gurewich V., Johnstone M., Pannell R. The selective uptake of high molecular weight urokinase-type plasminogen activator by human platelets. // *Fibrinolysis*, 1995; 9: 188—195.
24. Harrington R.A., Sane D.C., Califf R.M., et al. Clinical importance of thrombocytopenia occurring in the hospital phase after administration of thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1994; 23: 891—898.
25. International Joint Efficacy Comparison of Thrombolytics Trialists. Randomised, double-blind comparison of reteplase double-bolus administration with streptokinase in acute myocardial infarction (INJECT): trial to investigate equivalence. // *Lancet*, 1995; 346: 329—336.
26. Jiang Y., Pannell R., Lui J., Gurewich V. Demonstration of a novel binding protein for urokinase-type plasminogen activator in platelet membrane (abstr). // *Blood*, 1995; 86: 2211.
27. Jiang Y.P., Pannell R., Lui J.N., Gurewich V. Evidence for a novel binding protein for — urokinase — type plasminogen activator in platelet membrane. // *Blood*, 1996; 87: 2775—2781.
28. Katzan I.L., Furlan A.J., Lloyd L.E., et al. Use of tissue-type plasminogen activator for acute ischemic stroke: the Cleveland area experience. // *JAMA*, 2000; 283: 1151—1158.
29. Kuiper J., van de Bilt H., Martin U., Van Berkel T.G.C. Uptake, internalization and degradation of the novel plasminogen activator reteplase (BM 06.022) in the rat. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1501—1510.
30. Kurnik P.B. Circadian variation in efficacy of tissue-type plasminogen activator. // *Circulation*, 1995; 91: 1341—1346.
31. Li C., Liu J.N., Jiang Y.P., Gerewich V. Upregulated expression of urokinase — type plasminogen activator in monocyte and endothelial cells by its own EGF — domain (abstr). // *Fibrinolysis*, 1996; 10(3): 257.
32. Lijnen H.R., De Cock F., Matsuo O., Collen D. Comparative fibrinolytic and fibrinogenolytic properties of staphylokinase and streptokinase in plasma of different species in vitro. // *Fibrinolysis*, 1992; 6: 33—37.
33. Lijnen H.R., De Wreede K., Demarsin E., Collen D. Biological and thrombolytic properties of proenzyme and active forms of human urokinase — IV. Variability in fibrinolytic response of plasma of several mammalian species. // *Thromb. Haemost.*, 1984; 52: 31—33.
34. Liu J.N., Gerewich V. Inactivation of the intrinsic activity of pro-urokinase by diisopropylfluorophosphate is reversible. // *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 8408—8410.

35. Liu J.N., Tang W., Sun Z.Y., et al. A site-directed mutagenesis of pro-urokinase which substantially reduces its intrinsic activity. // *Biochemistry*, 1996; 35: 14070—14076.
36. Losa J.P., Gurewich V., Johnstone M., Pannell R. Platelet-bound prekallikrein promotes pro — urokinase — induced clot lysis: a mechanism for targeting the factor XII dependent intrinsic pathway of fibrinolysis. // *Thromb. Haemost.*, 1994; 71: 347—352.
37. Martin U., Doerge L., Fischer S. Comparison of disulfatohirudin (REVASC) and heparin as adjuncts to thrombolytic therapy with reteplase in a canine model of coronary artery thrombosis. // *Br. J. Pharmacol.*, 1996; 118: 271—276.
38. Martin U., Doerge L., Stegmeier K.H., Muller-Beckmann B. Influence of the degree of renal dysfunction in the pharmacokinetic properties of the novel recombinant plasminogen activator reteplase in rats. // *Drug Metab. Disp.*, 1996; 24: 288—291.
39. Martin U., Fischer S., Sponer G. Influence of heparin and systemic lysis on coronary blood flow after reperfusion induced by the novel recombinant plasminogen activator BM 06.022 in a canine model of coronary thrombosis. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1993; 22: 914—920.
40. Michels R., Hoffmann H., Windeier B., Barth H., Hopkins G. A double-blind multi-center comparison of efficacy and safety of saruplase and urokinase in the treatment of acute myocardial infarction: report of the SUTAMI Study Group. // *J. Thromb. Thrombol.*, 1995; 2: 117—124.
41. Mulder M., Kohnert U., Fischer S., Verheyen J.H. Comparison of the interaction of tissue-type plasminogen activator and recombinant plasminogen activator (rPA/ BM 06.022) with human umbilical vein endothelial cells (abstr). // *Fibrinolysis*, 1994; 8(suppl. 1): 12.
42. Narita M., Bu G., Herz G., Schwartz A.L. Two receptor systems are involved in the plasma clearance of tissue-type plasminogen activator (t-PA) in vivo. // *J. Clin. Invest.*, 1995; 96: 1164—1168.
43. Osborn T.M. LaMonte M.P., Gaasch W.R. Intravenous thrombolytic therapy for stroke: a review of recent studies and controversies. // *Ann. Emerg. Med.*, 1999; 34: 244.
44. Rijken D.C., Groeneveld E., Barret-Bergshoeff M.M. In vitro stability of a tissue-type plasminogen activator mutant, BM 06.022, in human plasma. // *Thromb. Haemost.*, 1994; 72: 906—911.
45. Sabovic M., Keber D. In-vitro synergism between t-PA and scu-PA depends on clot retraction. // *Fibrinolysis*, 1995; 9: 101—105.
46. Schroder R., Wegscheider K., Schroder K., Dissmann R., Meyer-Sabellek W. Extent of early ST segment elevation resolution: a strong predictor of outcome in patients with acute myocardial infarction and a sensitive measure to compare thrombolytic regimens. A substudy of the International Joint Efficacy Comparison of Thrombolytics (INJECT). // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1995; 26: 1657—1664.
47. Smalling R.W., Bode C., Kalbfleish J., et al., and the RAPID Investigators. More rapid, complete, and stable coronary thrombolysis with bolus administering reteplase compared with alteplase infusion in acute myocardial infarction. // *Circulation*, 1995; 91: 2725—2732.
48. Task Force on Myocardial Reperfusion. Reperfusion in acute myocardial infarction. // *Circulation*, 1994; 90: 2091—2102.
49. Vanderschueren S.M.F., Stassen J.M., Collen D. On the immunogenicity of recombinant staphylokinase in patients and animal models. // *Tromb. Haemost.*, 1994; 72: 297—301.

50. Vermeer F., Bosl I., Meyer J., et al. Saruplase is a safe and effective thrombolytic agent; observations in 1698 patients: results of the PASS study. Practical Application of Saruplase Study. // J. Thromb. Thrombol., 1999; 8: 143.
51. Verstraete M. Thrombolysis for arterial conditions other than myocardial infarction. // Coronary Artery Dis. 1994; 5: 317—321.
52. Verstraete M. Use of thrombolytic drugs in non-coronary disorders. // Drugs, 1994; 38: 801—821.
53. Weaver W.D., Hartmann J.R., Anderson J.L., Reddy P.S. Sobolski J.C., Sasahara A.A., for the Prourokinase Study Group. New recombinant glycosylated prourokinase for treatment of patients with acute myocardial infarction. // J. Am. Coll. Cardiol., 1994; 24: 1242—1248.

akusher-lib.ru

Глава XIII. Декстраны

Полисахарид декстран впервые был описан еще в 1870 году как побочный продукт при очистке свекольного сахара. Впервые как плазмозаменитель декстран был предложен во время II Мировой войны Ingelman и Gronwall в Швеции.

Первые клинические исследования декстрана как плазмозаменителя были проведены в 1944 и 1946 гг. А в 1947 году декстран стал использоваться как 6%-ый раствор. В начале 50—60-х годов прошлого столетия производство декстрана было усовершенствовано. Были получены формы декстрана с различной молекулярной массой, которые получили название «декстран-70» (молекулярная масса в среднем 70 000 Да), и «декстран-40» (молекулярная масса 40 000 Да). А поскольку «декстран-40» обладал свойством улучшать кровоток, его стали применять при ишемических состояниях и артериальной хирургии.

Антитромботический эффект декстрана впервые был экспериментально продемонстрирован у крыс Borgstrom et al. У больных антитромботический эффект был показан Koeckenberg, который применял «макродекс» с целью профилактики послеоперационных венозных тромбозов.

Декстран образуется под действием фермента декстран-сукразы (вырабатываемого бактерией *Leuconostoc mesenteroides* B512) на сахарозу. Молекула декстрана представляет собой нейтральный полимер с высокой молекулярной массой, состоящий из молекул глюкозы, связанных между собой α -1-6-гликозидными связями с образованием цепей.

«Неочищенный» или, иначе, нефракционированный декстран обладает множеством побочных эффектов. Используемые в клинической практике декстраны получают путем гидролиза высокомолекулярного полимера декстрана. При этом образуются фракции с желаемой молекулярной массой.

Степень экскреции через почки зависит также от молекулярной массы: молекулы массой 40 000—50 000 Да выводятся достаточно быстро. Около 50% декстрана-40 экскретируются через почки через 2—3 часа по сравнению с 24 ч для декстрана-70.

Частично декстран распределяется в другие органы. Неэкскретированный почками декстран расщепляется на оксид углерода и воду ферментом декстраназой в ретикулоэндотелиальной системе.

Механизм действия

а) Коллоидный осмотический (онкотический) эффект.

Способность декстрана связываться с водой составляет 20—25 мл воды/г декстрана по сравнению с 18 мл/г для альбумина. При этом недостающая в системном кровотоке вода абсорбируется из межклеточного пространства. 2,5%-ый раствор декстрана-40 и 3,5%-ый раствор декстрана-70 *in vitro* практически изоонкотичны с кровью. Тем не менее, *in vivo*, в условиях гиповолемии со сниженным коллоидным осмотическим давлением отмечается достаточно быстрый и пролонгированный эффект восполнения ОЦК. Объем-замещающий эффект декстрана превосходит таковой гидроксипропилированного крахмала (HES).

б) Эффекты на агрегацию эритроцитов.

Декстраны с молекулярной массой менее 60 000 проявляют дезагрегационный эффект в результате повышения электроотрицательного заряда клеточных мембран. Декстраны с молекулярной массой более 60 000 Да (80 000 *in vivo*) индуцируют прогрессивное повышение агрегации эритроцитов. Как следствие, при этом повышается периферическая резистентность и нарушается «питающий» кровоток с развитием гипоксии.

Помимо эритроцитов декстраны изменяют также и электрический потенциал эндотелия, что является важным механизмом тромбопрофилактики.

в) Влияние на систему гемостаза.

Инфузия декстрана в дозах до 1,5 г/кг массы тела не влияет на количество тромбоцитов, однако адгезивные свойства тромбоцитов снижаются максимально перед 2—6 часов после инфузии, то есть к моменту, когда концентрация декстрана в крови начинает снижаться. Инфузия декстрана предотвращает адгезию тромбоцитов к искусственным поверхностям в процессе экстракорпорального кровотока, трансплантации и установки стентов. Декстран ингибирует *in vitro* агрегацию тромбоцитов под действием различных индукторов, *in vivo* — АДФ-индуцированную агрегацию тромбоцитов.

За исключением фактора VIII, декстран не влияет на другие факторы свертывания больше, чем это вызвано эффектом гемодилюции. Фактор VIII снижается в основном за счет фактора фон Виллебранда (VIII R:Ag), в то время как коагуляционная активность фактора VIII (VIII:C) не страдает.

In vitro декстран повышает коагуляцию фибриногена в условиях избытка тромбина (фибринопластический эффект). Сгусток, формирующийся *in vitro* в присутствии декстрана легче лизируется плазмином, чем «контрольный» сгусток. Декстран способен снижать фибринолиз-ингибиторную активность (α 2-антиплазмин) в сыворотке, а послеоперационный уровень t-PA повышается у пациентов, получающих декстран. Среди других эффектов декстран повышает активацию плазминогена.

In vivo под действием декстрана плазмин-индуцированный лизис тромба увеличивается, достигая максимума на 2—4 час после инфузии декстрана. Наряду с повышением «лизабельности» тромба нарушается и его структура. Масса тромба также уменьшается в зависимости от дозы декстрана. Восполнение ОЦК альбумином не оказывает влияния на тромб.

В 1954 году впервые было отмечено удлинение времени кровотечения у пациентов, получающих декстран, при этом максимальное удлинение отмечается спустя несколько часов после начала инфузии. Как молекулярная масса, так и доза декстрана влияют на гемостаз. Геморрагические осложнения, чаще встречающиеся в начале клинического применения декстрана, были связаны, как правило, с присутствием большого количества высокомолекулярных фракций декстрана, чем в настоящее время.

г) Влияние на гемодинамику.

Гемодинамические эффекты декстрана складываются из следующих факторов:

1. Взаимодействие с клеточными поверхностями, снижение или предотвращение агрегации эритроцитов, адгезия тромбоцитов и лейкоцитов.
2. Гемодилюция и снижение вязкости.
3. Пассивное расширение микрососудов вследствие коллоидного осмотического эффекта.

После инфузии декстрана повышается как артериальный кровоток, так и микроциркуляторный (в том числе за счет снижения вязкости крови), что подтверждено также экспериментально.

Профилактика тромбоза глубоких вен

В первом рандомизированном исследовании Koeckenberg сравнивал заместительную терапию интраоперационно препаратами крови и декстраном. Частота

клинически выраженных ТГВ у пациентов, получавших декстран, снижалась с 21% до 4%. В двойном слепом исследовании позже Jansen подтвердил снижение частоты клинически диагностируемого тромбоза.

Мета-анализ семи открытых рандомизированных исследований по применению декстрана в ортопедической хирургии (по сравнению с отсутствием профилактики) с использованием флебограмм показал, что средняя частота ТГВ на фоне декстрана снижается с 48,4% до 17,5%. Хотя в исследованиях использовался декстран-70, нет убедительных данных о меньшей эффективности декстрана-40.

Тем не менее, сравнительные исследования декстрана с другими противотромботическими препаратами свидетельствуют, что при всех типах хирургических операций антикоагулянты (низкие дозы гепарина или НМГ, либо ОАК) более эффективны для профилактики ТГВ, чем декстран. Однако по сравнению с оральными антикоагулянтами, если они применяются до операции риск геморрагических осложнений меньшей у декстрана.

Поскольку тромбогенез является мультифакториальным процессом, резонным может представляться вопрос комбинированной тромбопрофилактики. Комбинация декстрана и ОАК повышает риск геморрагических осложнений. Относительно одновременного применения декстрана и низких доз гепарина или НМГ еще недостаточно исследований. Однако наш опыт свидетельствует о высокой частоте аллергических реакций и повышенной кровоточивости интраоперационно, особенно у беременных женщин.

Декстран в комбинации с механическими методами профилактики тромбозов представляет потенциальный клинический интерес, поскольку риск геморрагических осложнений не повышается.

Комбинация аспирина с декстраном может вести к кровотечениям в послеоперационном периоде.

Профилактика ТЭЛА

В двойном слепом исследовании Kline et al. было обнаружено значительное снижение частоты фатальной ТЭЛА после назначения декстрана-70 во время операции. В контрольной группе (без профилактики) из 435 пациентов у 14 развилась фатальная ТЭЛА, в то время как в группе пациентов, получавших декстран-70 во время операции — у 4 из 396.

Согласно результатам мета-анализа, проведенного Clagett и Reisch, частота в контрольной группе (без профилактики) составила 1,5%, а в группе декстрана — 0,27%.

Согласно рандомизированному исследованию Tubingen, где декстран-60 (2945 пациентов) сравнивался с гепарином и оральными антикоагулянтами (3014 пациентов), частота фатальной ТЭЛА в группе, получавших антикоагулянты, составила 0,36% и декстран — 0,30%. Геморрагические осложнения отмечались у 1,1% пациентов, получавших антикоагулянты и 0,6% — декстран. Таким образом, декстраны могут быть столь же эффективны, как и антикоагулянты в профилактике не фатальных ТЭЛА.

Возможности применения декстранов при артериальной недостаточности и ишемии тканей

Несмотря на то, что многочисленные исследования свидетельствуют о повышении кровотока на фоне декстрана, как у здоровых лиц, так и у пациентов с окклюзионными заболеваниями нижних конечностей, все еще не достаточно контролируемых исследований эффективности декстранов у пациентов с «критической» ишемией. Тем не менее, декстраны, по крайней мере, уменьшают боли при ишемии тканей.

Режимы введения декстранов

В клинической практике инфузия декстрана производится обычно интраоперационно в дозе 500,0мл (в течение 1—2 часов) и в послеоперационном перио-

де в дозе 500,0мл. Таким образом, общий объем инфузии в день операции составляет 1000,0мл. При ортопедических операциях (переломы бедра) необходимы дополнительные инфузии (500,0мл в день), а также на 3-й и 5-й день, особенно если пациенты иммобилизованы. Недавно появился 3%-ый декстран-60 в качестве плазмозаменителя. Клинические испытания не показали существенной разницы между эффектами декстрана-60 и 70, а 3%-ый коллоидный раствор представляется оптимальным для периоперативного ведения.

В дозах до 1,5г/кг массы тела, 3%-ый декстран 60/709 значительно не влияет на факторы свертывания у пациентов в ортопедической хирургии.

3%-ый декстран-60 более эффективен, чем раствор Рингера для поддержания гемодинамической стабильности, и в меньшей степени увеличивает риск кардиальной перегрузки, чем 6%-ый декстран.

У неоперабельных пациентов с критической ишемией 500мл декстрана-40 каждый второй день в течение недели может быть эффективной альтернативой.

Побочные эффекты

а) Кардиальная перегрузка.

Поскольку декстран является препаратом для восполнения ОЦК и в особенности, если вводится быстро, существует небольшой риск кардиальной перегрузки, однако этого эффекта можно избежать медленным темпом инфузии (50—100 мл/ч).

б) Геморрагические осложнения.

Декстран в дозах 1—1,5 г/кг и ниже не влияет на гемостаз. В большинстве исследований, посвященных декстранам, не отмечалось повышенной кровопотери. Тем не менее, у пациентов с склонностью к геморрагиям декстраны следует назначать с большой осторожностью.

Риск геморрагических осложнений возрастает при одновременном применении гепарина или НМГ.

Анафилактические реакции

Подобно другим коллоидным растворам декстраны могут вызывать анафилактические реакции. Гиперчувствительность к декстранам была известна уже в середине 60-х годов. Однако в основном появление антител связывали с высокомолекулярными фракциями (более чем 80000Да). Современные низкомолекулярные декстраны в меньшей степени аллергенны, однако также могут перекрестно реагировать с антителами к другим полигликанам (в том числе в составе капсул бактерий), которые могут циркулировать еще до инфузии декстрана.

Клинические симптомы при аллергических реакциях на декстран могут быть следующими:

1. Кожная сыпь и/или лихорадка.

2. Не угрожающие жизни кардиоваскулярные реакции (гипотензия, тахикардия), респираторные нарушения, тошнота, рвота.

3. Выраженная гипотензия (≥ 40 —60 мм рт ст), бронхоспазм.

4. Сердечная и/или дыхательная недостаточность вплоть до остановки сердца.

5. Смерть.

Возможно, в возникновении серьезных анафилактических реакций вовлекаются специфические иммунные комплексы. Таковыми могут быть реакции между декстран-реактивными IgG-антителами и декстраном с формированием больших иммунных комплексов. При этом происходит активация системы комплемента, тромбоцитов, лейкоцитов и коагуляционного каскада; высвобождаются вазоактивные субстанции. В таких случаях всегда развивается метаболический ацидоз. Системный и микроциркуляторный кровоток не нормализуются до тех пор, пока не купируется ацидоз.

Частота аллергических реакций на единицу вводимого в/в декстрана колеблется в пределах 0,008% — 0,23%.

Предварительное введение низкомолекулярного декстрана (декстран-1 с молекулярной массой 1000Да) способствует блокированию связывающих сайтов антител и тем самым предотвращает образование больших агрегатов (гаптенная ингибция). Принцип гаптенной ингибции эффективен в клинической практике, поскольку способствует снижению частоты возникновения тяжелых анафилактических реакций почти в 35 раз. Благодаря этой методике в Швеции удалось снизить частоту тяжелых анафилактических реакций с 1 на 2000 в промежутке между 1975г и 1979г до 1 на 70000 в 1983—1992 гг.

В клинической практике 20мл декстрана-1 вводится в/в непосредственно перед первой инфузией декстрана-40 или —70. Если интервал между инфузиями декстрана превышает 48 часов, рекомендуется повторная инъекция декстрана-1.

Если аллергические реакции развиваются, несмотря на преинфузию декстрана-1, инфузия медленно прервана. В случае возникновения бронхоспазма назначается теofilлин или β_2 -агонисты и адреналин. Чрезвычайно актуальна коррекция метаболического ацидоза. Эффективна инфузия кортикостероидов и кристаллоидных растворов.

Нарушение функции почек

Поскольку растворы декстранов гипертоничны, параллельно необходимо введение кристаллоидных растворов особенно в условиях дегидратации (в том числе при гестозах). Дисфункция почек может развиваться при инфузии больших объемов декстрана у дегидратированных пациентов или у пациентов с заболеваниями почек. В первую очередь это относится к декстрану-40 (Реомакродекс), который применяется в виде 10%-ного раствора. Согласно некоторым данным риск развития почечной недостаточности выше в условиях нарушенного артериального кровотока.

Большие объемы декстрана-40 индуцируют развитие выраженной, по обратной морфологической вакуолизации (осмотический нефроз) цитоплазмы проксимальных тубулярных клеток, однако функция их при этом не страдает.

Применение декстранов в акушерстве

В последнее время декстран (в/в) стал довольно часто использоваться для «прикрытия» родов и кесарева сечения из соображений меньшего риска, чем профилактика гепарином, а также вследствие возможности применения анестезии.

Тем не менее, доказано, что декстран снижает адгезию и агрегацию тромбоцитов и, вполне вероятно, тем самым повышает риск кровотечений при эпидуральной анестезии в большей степени, чем гепаринопрофилактика. Риск кровотечения во много раз выше при одновременном применении декстрана вместе с варфарином или НГ/НМГ.

Помимо указанных гемостазиологических проблем, имеются и другие отрицательные стороны применения декстрана в акушерстве. Так, он создает помехи при тестировании крови на совместимость, кроме того, он может быть причиной анафилаксии. Поэтому назначение декстрана избегают у беременных с кардиальными или ренальными проблемами или аллергическими реакциями в анамнезе. Анафилактическая реакция может ассоциироваться с острым дистрессом плода в результате маточного гипертонуса в течение нескольких минут после начала инфузии и приводит к тяжелой брадикардии плода с последующей смертью или тяжелыми неврологическими осложнениями.

Согласно отчету Royal College о профилактике тромбоземболизма, риск побочных эффектов при лечении декстраном у беременных превышает риск тромбоземболизма и его применение возможно, по меньшей мере, лишь после рождения ребенка.

Список литературы

1. Arfors K.-E., Buckley P.B. Pharmacological characteristics of artificial colloids. In: Haljamae H. (ed). *Plasma Volume Support*. Bailliere's Clinical Anaesthesiology, 1997; 11: 15—48.
2. Barker J.H., Hammersen F., Galla T.J., et al. Direct monitoring of capillary perfusion following normovolemic hemodilution in an experimental skin-flap model. // *Plant Reconstr. Surg.*, 1990; 86: 946—954.
3. Bergqvist D., Kettunen K., Fredin H., et al. Thromboprophylaxis in hip fracture patients — a prospective randomized comparative study between Org 10172 and dextran 70. // *Surgery*, 1991; 109: 617—622.
4. Bombardini T., Borghi B., Montebuganoli W., Picanj E., Caroli GC. Effect of normovolemic hemodilution on fatal postoperative pulmonary embolism in major elective orthopaedic surgery. A retrospective analysis of 4653 patients. // *Vasc. Surg.*, 1996; 30: 125—144.
5. Davidson S.F., Brantley S.K., Das S.K. Comparison of single-dose antithrombotic agents in the prevention of microvascular thrombosis. // *J. Hand. Surg. [Am.]*, 1991; 16: 585—589.
6. Dawidson U., Willms C., Sandor Z.F., Coopender L.L., Reisch J.S., Fry W.J. Ringer's lactate with or without 3% dextran-60 as volume expanders during abdominal aortic surgery. // *Crit. Care Med.*, 1991; 19:36—42.
7. Eriksson M., Saldeen T.. Effect of dextran on plasma tissue plasminogen activator (t-PA) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) during surgery. // *Acta. Anaesthesiol. Scand.*, 1995; 39: 163—166.
8. Ernst E., Kollar L., Matrai A. A double-blind trial of dextran-haemodilution vs placebo in claudicants. // *J. Intern. Med.*, 1990; 227: 19—24.
9. Faun P., Suomalainen O., Bergqvist D., et al. The use of fibrinogen uptake test in screening for deep vein thrombosis in patients with hip fracture. // *Thromb. Res.*, 1990; 60: 185—190.
10. Flordal P.A., Svensson J., Ljungstrom K.-G. Effects of desmopressin and dextran on coagulation and fibrinolysis in healthy volunteers. // *Thromb. Res.*, 1991; 62: 335—364.
11. Fredin H., Bergqvist D., Cederholm C., Lindblad B., Nyman U. Thromboprophylaxis in hip arthroplasty. Dextran with graded compression or preoperative dextran compared in 150 patients. // *Ada. Orthop. Scand.*, 1989; 60: 678—681.
12. Frost-Amer L., Aberg M., Brueeiner U.G., Wieslander J.B., Messmer K. Effects of normovolemic hemodilution on blood flow in the rabbit ear. *Microsurgery*, 1990; 11: 19—24.
13. Frost-Arner L., Bergqvist D. Effect of isovolemic hemodilution with dextran and albumin on thrombus formation in artificial vessel grafts inserted into the abdominal aorta of the rabbit. // *Microsurgery*, 1995; 16: 357—361.
14. Hiippala S. Teppo A.-M. Perioperative volume effect of HES 120/0.7 compared with dextran 70 and Ringer acetate. // *Ann. Chir. Gynaecol.*, 1996; 85: 333—339.
15. Hjerrberg H., Olsson J., Ekstrom T., et al. Combining dalteparin and dextran does not increase the bloodless in transurethral resection of the prostate. // *Acta. Anaesthesiol. Scand.*, 1995; 105(suppl)39: 159.
16. Hoist J., Lindblad B., Matzsch T., Bergqvist D. Effect on primary haemostasis of prophylactic regimens of low molecular weight heparin, unfractionated heparin, dextran and their combinations. An experimental double-dummy study. // *Thromb. Res.*, 1992; 65: 651—656.

17. Lethagen S., Rugarn P., Aberg M., Nilsson I.M. Effects of desmopressin acetate (DDAVP) and dextran on hemostatic and thromboprophylactic mechanisms. // *Acta. Chir. Scand.*, 1990; 156: 597—602.
18. Lindblad B., Jenssen N., Dougan P., Bergqvist D. Does dextran reduce early graft thrombogenicity? An experimental investigation on patency and platelet depositions on prosthetic graft materials in sheep. // *Eur. J. Vasc. Surg.*, 1990; 4: 341—344.
19. Lisander B., Jacobsson S.-A., Ivarsson I., Vegfors M., Engdahl O. Giving both enoxaparin and dextran increases the need for transfusion in revision hip arthroplasty. // *Eur. J. Surg.*, 1996; 162: 861—866.
20. Ljungstrom K.-G. Safety of dextran in relation to other colloids — ten years experience with hapten inhibition. // *Infusionsther Transfusionsmed*, 1993; 20: 206—210.
21. Matthiasson S., Lindblad B., Hoist J., Bergqvist D. Effect of low molecular weight heparin, dextran and their combination on experimental venous thrombosis in rabbits. In: Raymond-Martimbeau P., Prescott R., Zummo M. (eds). *Phlebologie 92*. Paris: John Libbey Eurotext, 1992: 451—453.
22. Matthiasson S.E., Bergqvist D., Lundell A., Lindblad B. Effect of dextran and enoxaparin on Searly ePTFE graft thrombogenicity in sheep. // *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 1995; 9: 284—292.
23. Matzsch T., Bergqvist D., Fredin H., Hedner U., Lindhagen A., Nistor L. Comparison of the thromboprophylactic effect of low molecular weight heparin versus dextran in total hip replacement. // *Thromb. Haemorrh. Disord.*, 1991; 3: 25—29.
24. Miller C.L., Lim R.C. Dextran as a modulator of immune and coagulation activities in trauma patients. // *J. Surg. Res.*, 1985; 39: 183—191.
25. Palmaz J.C., Garcia O., Kopp D.T., et al. Balloon expand-able intra-arterial stents: effect of antithrombotic medication on thrombus formation. In: Zeitler E., Seyferth W. (eds). // *Pros and Cons in PTA and Auxilliary Methods*. Berlin: Springer Verlag, 1989; 170—178.
26. Shoenfeld N.A., Eldrup-Jorgensen J., Conolly R., et al. The effect of low molecular weight dextran on platelet deposition onto prosthetic materials. // *J. Vasc. Surg.*, 1987; 5: 76—82.
27. The Danish Enoxaparin Study Group. Low-molecular-weight heparin (Enoxaparin) Versus dextran 70. The prevention of postoperative deep vein thrombosis after total hip replacement. // *Arch. Intern. Med.*, 1991; 151: 1621—1624.
28. von Stoltz J., Bartel M. Einfluss einer adjuvanten Infusionstherapie von niedermolekularen Dextranen (Infukoll M-40) und deproteinsiertem Hamoderivat (Actovegin) bei chronisch arteriellen Durchblutungsstörungen im Stadium IV nach Fontaine. *Zentralbl. Chir.* 1988; 12: 1044—105.
29. Watson W., Chang T. Platelet-surface interaction: effect of dextran 70 on platelet retention in extracorporeal surfaces. // *Biomater. Med. Devices Art. Organs*, 1975; 3: 489—502.
30. Zhang B., Wieslander J.B. Dextran's antithrombotic properties in small arteries are not altered by low-molecular weight heparin or the fibrinolytic inhibitor tranexamic acid: an experimental study. // *Microsurgery*, 1993; 14: 289—295.

Глава XIV.

Препараты эндогенных антикоагулянтов и рекомбинантные ингибиторы свертывания

Интерес ученых в разработке препаратов эндогенных антикоагулянтов обусловлен, в первую очередь, стремлением максимально приблизить противотромботическую терапию к естественной противотромботической саморегуляции системы гемостаза. Поскольку представляется, что такой подход позволит при достаточной эффективности максимально снизить риск побочных явлений противотромботической терапии.

Среди всех антикоагулянтных систем основное внимание приковано к системе протеина С, антитромбину III, ингибитору внешнего пути свертывания TFPI.

Компоненты антикоагулянтного пути протеина С как потенциальные противотромботические препараты

Как уже указывалось (см. главу I) антикоагулянтный путь протеина С включает различные белки, механизм действия которых отличается от других известных в настоящее время антитромботических препаратов, что позволяет рассматривать их в качестве действенных противотромботических препаратов и открывает возможности новых подходов к профилактике и терапии тромботических заболеваний.

Тем не менее, следует сразу же оговорить и следующее немаловажное обстоятельство: препараты протеина С или других компонентов пути протеина С могут быть неэффективны при мутации FV (FV Leiden) и некоторых случаях АФС, когда имеет место резистентность мутантного фактора V к активированному протеину С (АФС).

Тромбомодулин как антитромботический препарат.

Множество антикоагулянтных эффектов тромбомодулина (ТМ), включая способность блокировать свертывание и образование фибриногена, активировать протеин С и ингибировать тромбин, свидетельствует, что ТМ может быть весьма эффективным антитромботическим препаратом. Эти функции ТМ, по-видимому, связаны с хондроитин-сульфат содержащим участком ТМ, на который возлагаются надежды как на потенциально эффективный антитромботический препарат.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что ТМ, иммобилизованный на тромбогенной поверхности, *in vitro* превращает эту поверхность в атромбогенную. Если этот эффект подтвердится и *in vivo*, то это открывает широкие возможности применения ТМ при наличии искусственных поверхностей в организме (кава — фильтр, искусственные клапаны и пр.).

Кроме того, поскольку *in vivo* отмечается снижение активности ТМ при воспалении и сепсисе, ассоциированных с тромботическим риском, заместительная терапия ТМ должна быть направлена на оптимизацию противотромботического ответа с минимальным риском.

Большинство исследований ТМ как потенциально противотромботического агента, сфокусировано на его эффектах при ДВС, и в меньшей степени — на модели сосудистой тромботической окклюзии. Обнаружено, что у крыс растворимый тромбомодулин блокирует TF- и эндотоксин-индуцированный ДВС. Кроме того, ТМ

блокирует повреждение легочных сосудов в условиях экспозиции эндотоксина и сепсиса. Активированный протеин С (АРС) также блокирует повреждение эндотелия в этой модели, что свидетельствует о том, что ТМ опосредует свой эффект через повышение образования АРС. Основные противотромботические эффекты ТМ *in vivo* — антикоагулянтный, возможно противовоспалительный, которые перевешивают антифибринолитический. В то же время обнаруженный *in vitro* антифибринолитический эффект открывает возможность применения ТМ для лечения тромботических заболеваний.

Согласно исследованиям Nawa et al., 1992, ТМ (как хондроитин-сульфат содержащий, так и не содержащий его) эффективен в экспериментальной модели ТФ-опосредованного ДВС. И хотя хондроитин-сульфат содержащий ТМ более эффективен, время его полувыведения $T_{1/2}$ также меньше (20 минут вместо 1 часа). ТМ оказывает меньший эффект на время кровотечения по сравнению с гепарином. В модели тромбоза артериовенозного шунта у крыс ТМ также демонстрировал противотромботический эффект, при этом эффект 0,1 мг/кг ТМ был эквивалентен эффекту 10 Ед/кг стандартного гепарина.

В то же время было обнаружено, что ТМ блокирует тромбоз в концентрациях, в два раза удлиняющих время кровотечения. Для сравнения, эффективные антитромботические дозы гирудина или гепарина удлиняют время кровотечения более чем в 6 раз.

Протеин С как противотромботический препарат

Относительно немногочисленны на сегодняшний день данные о применении протеина С у человека с целью лечения тромбозов. В основном они касаются лечения врожденного дефицита протеина С. Гомозиготный дефицит протеина С обычно ведет к опасным для жизни массивным тромботическим осложнениям у новорожденных, манифестирующих микрососудистыми тромбозами капилляров кожи (*purpura fulminans*). Заместительная терапия протеином С предотвращает дальнейшее прогрессирование повреждения кожи, вплоть до полного обратного развития. Характерно, что гепаринотерапия в таких случаях неэффективна.

При варфарин-индуцированных некрозах кожи — механизм повреждений — аналогичный, за исключением того, что дефицит протеина С обусловлен оральным антикоагулянтом и является приобретенным. Концентрат активированного протеина С, по данным Gruber et al., также оказывал при этом хороший терапевтический эффект, не повышая риск геморрагий на фоне терапии варфарином. Кроме этого, было установлено, что АРС эффективен как антикоагулянт только при условии низкой концентрации ТФ. При высоком уровне ТФ прокоагулянтный эффект превосходит антикоагулянтный эффект АРС.

Таким образом, протеин С особо эффективен в ситуациях, сопровождающихся микрососудистым тромбозом. К таковым относится и ДВС, в том числе обусловленный септическим шоком, который сопровождается потреблением (расходом) протеина С. В эксперименте на бабуинах назначение АРС предотвращало развитие летального исхода, ДВС и органной недостаточности при введении летальных доз *E. Coli*. В то же время блокада антикоагулянтного пути протеина С вызывала увеличение интенсивности и тяжести ДВС в ответ на введение сублетальных доз *E. Coli*, а также повышение уровня TNF- α . Таким образом, протеин С является основным регулятором микрососудистого тромбоза и модулятором воспалительного ответа. Исходя из этого, представляется, что препараты протеина С (в том числе АРС) будут эффективны в лечении септического шока, ДВС и связанных с ними заболеваний. Помимо того, что эти патологические состояния нередко имеют место у беременных, другой важной мишенью для терапии протеином С, с нашей точкой зрения, является фетоплацентарная недостаточность вследствие тромбирования обширного микрососудистого русла плаценты.

Что же касается результатов клинического применения препаратов протеина С, то лечение протеином С у 11 детей с менингококковым септическим шоком,

по данным Rivard и Esmon, способствовало нормализации уровня протеина С в плазме и обратному развитию дисфункции органов, в первую очередь, почек.

Протеин С может ингибировать прогрессирование септического шока через ряд механизмов, включая регуляцию образования тромбина на сосудистой стенке и модулирование воспалительного ответа. *In vitro* APC ингибирует высвобождение TNF- α моноцитами, связываясь с поверхностью моноцита и взаимодействуя со специфическим рецептором, что в свою очередь, препятствует интерферон- γ -опосредованному току ионов Ca^{2+} и клеточной пролиферации. Кроме того, протеин С также ингибирует лейкоцитарную адгезию к селектинам. Модулирование воспалительного ответа отчасти, по-видимому, обусловлено EPCR (эндотелиальный рецептор протеина С), который по своей структуре относится к молекулам главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса 1. Этот класс молекул в свою очередь вовлечен в процесс воспаления и регулирует уровень провоспалительных цитокинов.

Крайне интересны данные Gruber et al., которые показали, что APC может быть эффективен для профилактики тромбообразования при шунтировании и пластике сосудов. При этом концентрации APC, необходимые для подавления адгезии и агрегации тромбоцитов, оказывали незначительное влияние на время кровотечения. Предварительные же исследования этой группы ученых показали, что данная модель в большой степени зависит от концентрации тромбина, и что прямые ингибиторы тромбина могут блокировать агрегацию тромбоцитов. При этом интересно, что при условии систематической инфузии тромбина, степень агрегации тромбоцитов снижалась, несмотря на то, что тромбин, как известно, является одним из основных индукторов агрегации тромбоцитов. Этот парадокс был объяснен эффектом тромбин-индуцируемой активации протеина С, поскольку такой «защитный» эффект тромбина исчезал при введении антител, блокирующих систему протеина С.

Эти исследования свидетельствуют, что APC может эффективно предотвращать развитие артериальных тромбозов.

Тем не менее, в клинической практике дефицит протеина С, как правило, ассоциируется с венозными или микрососудистыми тромбозами гораздо чаще, чем с артериальными. Возможно, это связано с тем, что для минимизации риска артериальных тромбозов необходимы совсем небольшие концентрации APC (в отсутствие выраженного атеросклероза или тромбогенных поверхностей), которые присутствуют даже у пациентов с гетерозиготным дефицитом протеина С.

Последние исследования свидетельствуют и о возможности эффективного применения препаратов протеина С при реперфузионных повреждениях и у пациентов с хроническими заболеваниями коронарных сосудов. Эти пациенты, как правило, имеют повышенный уровень TNF- α , возможно вследствие локального снижения активности ТМ. В связи с этим обстоятельством именно APC может быть эффективен в таких случаях, так как введение неактивного протеина С в условиях подавления функции тромбомодулина практически не эффективно.

В заключение следует заметить, что, по-видимому, применение APC наиболее оптимально, поскольку даже при дефиците протеина С или тромбомодулина, или при других нарушениях тонких механизмов активации системы протеина С «обеспечивает» антикоагулянтный и противовоспалительный эффекты.

Рекомбинантный ингибитор внешнего пути тканевого фактора (rTFPI)

TFPI — фактор или LACI — фактор (липопротеин — ассоциированный ингибитор коагуляции) является мощным естественным ингибитором внешнего пути свертывания. Он контролирует обусловленный фактором Ха отрицательный «feed-back» — механизм и ингибирует комплексы TF/FVIIa/ФЛ и TF/FVIIa/ФЛ/Ха, которые через образование протромбиназы ведут к генерации тромбина, и, затем фибрина. Для TFPI характерны и другие потенциально антитромботические фармакологические свойства.

В нормальных физиологических условиях TFPI первично синтезируется в микроваскулярном эндотелии и в небольших количествах мегакариоцитами и макро-

фагами и не синтезируется нормальными гепатоцитами или эндотелием крупных сосудов (большого калибра); незначительные количества TFPI исходят из фибробластов, однако при активации этих клеток уровень TFPI увеличивается в 6—8 раз.

Таким образом, *In vivo* существует 3 пула TFPI: 80—85% связано с гликозаминогликанами эндотелиоцитов; 10% связано с липопротеинами в плазме и 3% представлено в тромбоцитах. TFPI имеет молекулярную массу 42000 Да и включает в себя 3 участка с ингибиторной активностью.

Ингибция каталитической активности комплекса TF/FVIIa/ФЛ/Ха осуществляется в 2 этапа:

- 1) средний домен TFPI связывает фактор Ха;
- 2) 1 домен TFPI связывает фактор VIIa в комплексе TF/VII/ФЛ.

Функция III домена не совсем ясна, хотя известно, что благодаря наличию С-терминального катионного «хвоста» TFPI может связываться с гликозаминогликанами на поверхности клеток.

В экспериментальных условиях при применении синтетических TFPI (синтезирован как TFPI с I и II доменами, так и TFPI, включающий все 3 домена) была установлена их протективная роль в возникновении тромбозов и ДВС-синдрома, обусловленных введением тканевого тромбoplastина и эндотоксина. Кроме того, был изучен эффект TFPI на рестеноз после повреждения интимы на модели животных. TFPI значительно снижал частоту возникновения рестенозов, обусловленных гиперплазией интимы после артериальных вмешательств. Это свидетельствует об особой роли TFPI при множестве сердечно-сосудистых заболеваний и состояний, протекающих с TF — индуцированной гиперкоагуляцией, таких как нестабильная стенокардия, атеросклероз, искусственные клапаны сердца, кавофильтр, чрезкожная транслюминальная ангиопластика и прочие состояния, обусловленные артериальной интервенцией.

Недавно был получен рекомбинантный TFPI, однако он проходит лишь клинические испытания за рубежом, а в России пока не зарегистрирован. Многочисленные исследования на животных показали значительное снижение реокклюзий после t-PA-индуцированного тромболитического артериальных тромбов при назначении rTFPI. Что касается фибриновых тромбов, то в этой ситуации rTFPI не снижал достоверно частоту реокклюзий. Дополнительные исследования показали, что высокие концентрации rTFPI могут предотвращать возникновение венозных тромбозов у кроликов, а 24-часовая инфузия TFPI предотвращает рестеноз в гиперлипидемической модели ангиопластического повреждения. Тем не менее, предстоит выяснить, обусловлен этот эффект ингибцией фактора Ха или ингибцией активности комплекса фактор VIIa-TF. В клинической практике ожидается, что rTFPI будет эффективен после тромболитического тромболитического тромбов, не вызывая при этом значительных изменений гемостатических параметров.

Препараты антитромбина III

Концентраты ATIII используются для лечения наследственного и приобретенного дефицита антитромбина с 1980 года. ATIII является ключевым белком в фармакологической коррекции свертывания крови. Он не только является сильным ингибитором тромбина, но и в какой-то мере снижает активность факторов IXa, Ха, и, в меньшей степени, плазмина и прекалликреина.

В настоящее время появилась возможность получения высокоочищенных белков в больших концентрациях. Для получения рекомбинантных факторов VIIIa, IXa, VIIa, уже давно используются клеточные культуры млекопитающих, однако несмотря на существующие технологические достижения, получение очищенного ATIII из культуры клеток млекопитающих связано с большими затратами, что, естественно, ограничивает промышленную разработку ATIII и нарушает соотношение цена/эффективность. Разработка метода модификации генома животных позволила существенно снизить затраты на производство рекомбинантного ATIII.

Технологию получения рекомбинантного АТIII можно представить следующим образом. На первом этапе человеческое клонированное ДНК, содержащее последовательность гена АТIII, связывается с геном, кодирующим β -казеин молока козы. Получившийся ген (BC6-трансген) вводят в ядро оплодотворенной яйцеклетки козы. 5—10% потомства будут носить этот ген. После интеграции гена в геном потомства, такой ген будет передаваться по наследству согласно законам Менделя, при наличии гена у особи, он является доминантным, а молоко от этой особи будет содержать рекомбинантный антитромбин в высокой концентрации. После выделения и очистки такого АТIII получается высокоочищенный препарат.

По химическому строению рекомбинантный антитромбин идентичен человеческому. Основное отличие заключается в гликозилировании олигоманнозными остатками аспарагина 155. Кроме этого, рекомбинантный антитромбин высокофукозилирован и содержит меньшее количество остатков сиаловой кислоты.

Рекомбинантный АТIII обладает четырехкратной аффинностью к гепарину по сравнению с плазменным аналогом. Такое увеличение аффинности является прямым следствием изменения степени гликозилирования.

До последнего времени концентрат АТIII («Кибернин», Behringwerke) обычно применялся в качестве заместительной терапии у больных с наследственным или приобретенным дефицитом АТIII. Однако уже появились сообщения об успешном использовании АТIII у здоровых пациентов для профилактики послеоперационного венозного тромбоземболизма. Важными преимуществами концентрата АТIII являются безопасность и отсутствие побочных эффектов. Концентрат АТIII является препаратом выбора у больных с наследственным дефицитом АТIII в родах, а также в предоперативной тромбопрофилактике. Кроме того, появились первые сообщения об успешном применении концентрата АТIII при гестозах, синдроме ДВС.

Нерекомбинантные препараты АТIII для заместительной терапии получают при использовании метода гепарин-аффинитивной хроматографии и последующей инактивацией при 60⁰ С в течение 10 часов. Этот процесс сопровождается вторичной гепарин-аффинитивной хроматографией.

Известно несколько препаратов для заместительной терапии дефицита АТIII. Антатив (Kabi Pharmacia AB), дистрибьютором которого является фирма Nyland. Препарат выпускается во флаконах объемом 10 мл, в которых находится 500 МЕ антитромбина.

Препарат Throbate-III (Bayer) — концентрат человеческого антитромбина. Выпускается во флаконах объемом 10 и 20 мл, с активностью антитромбина соответственно 500 и 1000 ЕД.

Эффективность препаратов антитромбина III при приобретенной недостаточности показана лишь в небольшом числе исследований. Сниженные концентрации антитромбина обнаруживаются у пациентов с острой формой ОПГ гестозов. Это снижение может быть нормализовано постоянной инфузией концентрата антитромбина, которая должна проводиться с учетом времени полужизни препарата (8,5±1,2 часа) для поддержания 100 % активности в течение 96 часов (средняя скорость введения 66,5±9 У/час). Эффективность концентрата антитромбина по сравнению с использованием ингибиторов протеиназ была показана в исследовании 39 человек с ДВС-синдромом акушерского генеза. Однако для полной характеристики использования концентрата антитромбина необходимо провести большие рандомизированные исследования.

Низкий уровень антитромбина обнаруживается у подавляющего большинства пациентов с ДВС-синдромом. Экспериментальные исследования показали, что ингибирование образования тромбина и внутрисосудистой коагуляции эффективно происходит при введении концентрата антитромбина. Кроме этого, рандомизированное исследование показало, что при введении концентрата антитромбина происходит снижение симптомов шока и ДВС — синдрома. Несмотря на то, что эти данные предварительные, они могут послужить стандартом в лечении ДВС — синдрома.

Для препаратов антитромбина характерна вирусная инактивация, что делает их практически безопасными в отношении вирусных инфекций. Кроме того, применение изолированного препарата антитромбина более безопасно в отношении развития аллергических реакций, чем применение СЗП.

Список литературы

1. Бишевский К.М. Антитромбин III и гепаринорезистентность плазмы при ДВС-синдромах, микроваскулитах и тромбозах. // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. — Новосибирск, 1984. — 19с.
2. Aebendschein D.R., Meng Y.Y., Torr-Brown S., Sobel B.E. Maintenance of coronary patency after fibrinolysis with tissue factor pathway inhibitor. // *Circulation*, 1995; 92: 944—949.
3. Antonini E., Asceira P., Menegatti E., Guarneri M. Multiple intermediates in the reaction of bovine beta-trypsin with bovine pancreatic trypsin inhibitor (Kunitz). // *Biopolymers*, 1983; 22(1): 363—375.
4. Aoki Y., Takei R., Mohri M., et al. Antithrombotic effects of recombinant human soluble thrombomodulin (rhs-TM) on arterial thrombosis in rats. // *Am. J. Hematol.*, 1994; 47: 162—166.
5. Asakura H., Jokaji H., Saito M., et al. Plasma levels of soluble thrombomodulin increase in cases of disseminated intravascular coagulation with organ failure. // *Am. J. Hematol.* 1991; 38: 281—287.
6. Bajaj M.S., Rana S.V., Wysolmerski R.B., Bajaj S.P. Inhibitor of the factor VIIa-tissue factor complex is reduced in patients with disseminated intravascular coagulation but not in patients with severe hepatocellular disease. // *J. Clin. Invest.* 1987; 79(6): 1874—1878.
7. Bertina R.M., Koeleman B.P.C., Koster T., et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. // *Nature*, 1994; 369: 64—67.
8. Bioze G.J.Jr. Tissue factor pathway inhibitor and the revised theory of coagulation. // *Annu. Rev. Med.* 1995; 46: 103—112.
9. Creasey A. A., Chang A.C., Feigen L., Wun T.C., Taylor F.B., Hinshaw L.B. Tissue factor pathway inhibitor reduces mortality from *Escherichia coli* septic shock. // *J. Clin. Invest.*, 1993; 91(6): 2850—2856.
10. Dahlback B. Physiological anticoagulation. Resistance to activated protein C and venous thromboembolism. // *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 923—927.
11. Dahlback B. Protein S and C4b-binding protein: components involved in the regulation of the protein C anticoagulant system. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 66: 49—61.
12. Drake T.A., Cheng J., Chang A., Taylor F.B.Jr. Expression of tissue factor, thrombomodulin, and E-selectin in baboons with lethal *E. coli* sepsis. // *Am. J. Pathol.* 1993; 142: 1458—1470.
13. Esmon C.T. Thrombomodulin as a model of molecular mechanisms that modulate protease specificity and function at the vessel surface. // *FASEB J.*, 1995; 9: 946—955.
14. Esmon C.T., Fukudome K. Cellular regulation of the protein C pathway. // *Sem. Cell. Biol.*, 1995; 6: 259—268.
15. Esmon N.L., Carroll R.C., Esmon C.T. Thrombomodulin blocks the ability of thrombin to activate platelets. // *J. Biol. Chem.*, 1983; 258: 12238—12242.
16. Fourrier F., Chopin C., Goudemand J., et al. Septic shock, multiple organ failure, and disseminated intravascular coagulation. Compared patterns of antithrombin III, protein C, and protein S deficiencies. // *Chest*, 1992; 101: 816—823.
17. Frhardtscn E., Fzban M., Madsen M.T., et al. Blocking of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) shortens the bleeding time in rabbits with antibody induced haemophilia A. // *Blood Coag. Fibrinol.*, 1995; 6: 388—394.
18. Girard T.J., Broze G.J. Tissue factor pathway inhibitor. // *Meth. Enzymol.*, 1993; 222: 195—209.

19. Goldberg S.L., Orthner C.L., Yalisove B.L., Elgart M.L., Kessler C.M. Skin necrosis following prolonged administration of coumarin in a patient with inherited protein S deficiency. // *Am. J. Hematol.*, 1991; 38: 64—66.
20. Griffin J.H., Evatt B., Wideman C., Fernandez J.A. Anticoagulant protein C pathway defective in majority of thrombophilic patients. // *Blood*, 1993; 82: 1989—1993.
21. Heeb M.J., Masters R.M., Tans G., Rosing J., Griffin J.H. Binding of protein S to factor Va associated with inhibition of prothrombinase that is independent of activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 2872—2877.
22. Heeb M.J., Mosher D., Griffin J.H. Activation and complexation of protein C and cleavage and decrease of protein S in plasma of patients with intravascular coagulation. // *Blood*, 1989; 73: 455—461.
23. Heeb M.J., Rosing J., Bakker H.M., Fernandez J.A., Tans G., Griffin J.H. Protein S binds to and inhibits factor Xa. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 2728—2732.
24. Hoist J., Lindblad B., Bergqvist O., et al. Antithrombotic properties of a truncated recombinant tissue factor pathway inhibitor in an experimental venous thrombosis model. // *Haemostasis*, 1993; suppl 1: 112—117.
25. Hubbard A.R., Jennings C.A. Inhibition of the tissue factor-factor VII complex: involvement of factor Xa and lipoproteins. // *Thromb. Res.*, 1987; 46(4): 527—537.
26. Kalafatis M., Rand M.D., Mann K.G. The mechanism of inactivation of human factor V and human factor Va by activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 31869—31880.
27. Kishida A., Ueno Y., Maruyama I., Akashi M. Immobilization of human thrombomodulin onto biomaterials. Comparison of immobilization methods and evaluation of untithrombogenicity. // *ASAIO J.* 1994; 40: M840—M845.
28. Levi M., ten Gate H., Bauer K.A., et al. Inhibition of endotoxin-induced activation of coagulation and fibrinolysis by pentoxifylline or by a monoclonal anti-tissue factor antibody in chimpanzees. // *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 114—120.
29. Lindahl A.K., Abildgaard U., Larsen M.L. Heparin induces release of extrinsic pathway inhibitor (EPI). // *Thromb. Res.* 1991; 50: 803—813.
30. Muller F.-M., Ehrental W., Hafner G., Schranz D. Purpura fulminans in severe congenital protein C V deficiency: monitoring of treatment with protein C concentrate. // *Eur. J. Pediatr.* 1996; 155: 20—25.
31. Murakami K., Okajima K., Uchiba M., et al. Activated protein C attenuates endotoxin-induced pulmonary vascular injury by inhibiting activated leukocytes in rats. // *Blood*, 1996; 87: 642—647.
32. Parkinson J.F., Koyama T., Bang N.U., Preissner K.T. Thrombomodulin: an anticoagulant cell surface proteoglycan with physiologically relevant glycosaminoglycan moiety. // *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1992; 313: 177—188.
33. Rapaport S.I. The extrinsic pathway inhibitor: a regulator of tissue factor-dependent blood coagulation [Review]. // *Thromb. Haemost.*, 1991; 66(1): 6—15.
34. Reitsma P.H., Poort S.R., Bernardi F., et al. Protein C deficiency: a database of mutations. For the Protein C & S Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 69: 77—84.
35. Richardson M.A., Gerlitz B., Grinnell B.W. Enhancing protein C interaction with thrombin results in a clot-activated anticoagulant. // *Nature*, 1992; 360: 261—264.
36. Rivard G.E., David M., Farrell C., Schwarz H.P. Treatment of purpura fulminans in meningococemia with protein C concentrate. // *J. Pediatr.*, 1995; 126: 646—652.
37. Rosing J., Hoekema L., Nicolacs GAF, et al. Effects of protein S and factor Xa on peptide bond cleavages during inactivation of factor Va and factor Va^{R506Q} by activated protein C. // *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 27852—27858.

38. Sandset P.M., Warn C.B., Maki S.L., Rapaport S.I. Immunodepletion of extrinsic pathway inhibitor sensitizes rabbits to endotoxin-induced intravascular coagulation and the generalized Shwartzman reaction. // *Blood*, 1991; 78(6): 1496—1502.
39. Sandset P.M., Warn C.B., Rao L.V., Maki S.L., Rapaport S.I. Depletion of extrinsic pathway inhibitor (EPI) sensitizes rabbits to disseminated intravascular coagulation induced with tissue factor: evidence supporting a physiologic role for EPI as a natural anticoagulant. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991; 88(3): 708—712.
40. Shen L., Dahlback B. Factor V and protein S as synergistic cofactors to activated protein C in degradation of factor VIIIa. // *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 18735—18738.
41. Solis M.M., Vitti M., Cook J. et al. Recombinant soluble human thrombomodulin: a randomized, blinded assessment of prevention of venous thrombosis and effects on hemostatic parameters in a rat model. // *Thromb. Res.*, 1994; 73: 385—394.
42. Solymoss S., Tucker M.M., Tracy P.B. Kinetics of inactivation of membrane-bound factor Va by activated protein C. // *J. Biol. Chem.*, 1988; 263: 14884—14890.
43. Speidel C.M., Eisenberg P.R., Ruf W., Edgington T.S., Abendschein D.R. Tissue factor mediates prolonged procoagulant activity on the luminal surface of balloon-injured aortas in rabbits. // *Circulation*, 1995; 92: 3323—3330.
44. Takano S., Kimura S., Ohdama S., Aoki N. Plasma thrombomodulin in health and diseases. // *Blood*, 1990; 76: 2024—2029.
45. Taylor F.J., Chang J.L., Ruf W, et al. Lethal *E. coli* septic shock is prevented by blocking tissue factor with monoclonal antibody. // *Circ. Shock*, 1991; 33(3): 127—134.
46. Uchiba M., Okajima K., Murakami K., Nawa K., Okabe H. Takatsuki K. Recombinant human soluble thrombomodulin reduces endotoxin-induced pulmonary vascular injury via protein C activation in rats. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1265—1270.
47. Walker F.J., Fay P.J. Regulation of blood coagulation by the protein C system. // *FASEB J.*, 1992; 6: 2561—2567.
48. Walker F.J., Sexton P.W., Esmon C.T. Inhibition of blood coagulation by activated protein C through selective inactivation of activated factor V. // *Biochem. Biophys. Acta* 1979; 571: 333—342.
49. Wildgoose P., Valentin S., Nordfang O. Evidence that the C-terminus of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) is essential for its interaction with lipoproteins. // *Circulation* 1992; 86(suppl 1): 815.
50. Wun T.C. Lipoprotein-associated coagulation inhibitor (LACI) is a cofactor for heparin: synergistic anticoagulant action between LACI and sulfated polysaccharides. // *Blood*, 1992; 79(2): 430—438.
51. Zhang Y., Deng Y., Luther T., Muller M., Ziegler R., Waldherr R., Stem D.M. Tissue factor controls the balance of angiogenic and antiangiogenic properties of tumor cells in mice. // *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 1320—1327.

Глава XV.

Медикаментозно обусловленные нарушения в системе гемостаза

В последнее время в связи с расширением спектра применяемых в медицине лекарственных препаратов, большую актуальность приобретает вопрос ятрогенных расстройств системы гемостаза, которые могут манифестировать как в форме кровотечений, так и тромботических осложнений.

Наиболее частыми медикаментозно обусловленными дефектами свертывания крови являются тромбоцитопатии и тромбоцитопении. Причиной же наиболее важных лекарственно обусловленных плазматических дефектов свертывания являются антикоагулянты и другие препараты с антикоагулянтной активностью. На рисунке 78 представлены возможные влияния лекарственных средств на систему свертывания. Уровень факторов свертывания может либо снижаться, либо их активность тормозится появлением антител, что клинически проявляется геморрагической наклонностью.

Повышение синтеза факторов свертывания или активности их (как, например, при злокачественных опухолях) проявляется, наоборот, тромботической наклонностью. Нарушения фибринолиза могут также быть причиной, как повышенного риска кровотечений, так и тромботических осложнений.

А) Геморрагические нарушения

1. Тромбоцитопении и тромбоцитопатии

Медикаментозно обусловленные тромбоцитопатии, как правило, возникают при применении нестероидных противовоспалительных препаратов (аспирин, индометацин и др.) и некоторых антибиотиков, в частности, пенициллина. При этом страдают 4 важные функции тромбоцитов (рис. 79): адгезия, агрегация, высвобождение фактора 3 тромбоцитов (фосфолипидные матрицы для протекания реакций коагуляционного каскада) и ретракция. Следует напомнить, что «прилипание» тромбоцитов к поврежденному эндотелию с «обнаженными» волокнами коллагена, называется адгезией тромбоцитов; соединение тромбоцитов между собой с образованием конгломератов (агрегатов) — агрегацией тромбоцитов. При этом «слипающиеся» друг с другом тромбоциты теряют свои мембраны и претерпевают структурные и функциональные метаморфозы, в частности из таких тромбоцитов высвобождаются различные субстанции — содержимое гранул тромбоцитов — фактор 3 тромбоцитов, АДФ и другие субстанции с высокой прокоагулянтной активностью. В процессе реакции высвобождения происходит усиление (акцелерация) интенсивности коагуляционных реакций вплоть до образования фибрина, поскольку увеличивается количества фосфолипидных матриц (фактор 3 тромбоцитов), которых происходит сборка важнейших теназных комплексов.

На конечном этапе свертывания тромбоциты также участвуют в ретракции сгустка. Длительное применение НПВС (табл. 65) способствует торможению агрегации тромбоцитов и, соответственно, реакции высвобождения. Как правило, ингибиторный эффект в отношении тромбоцитов развивается через 1—2 часа после

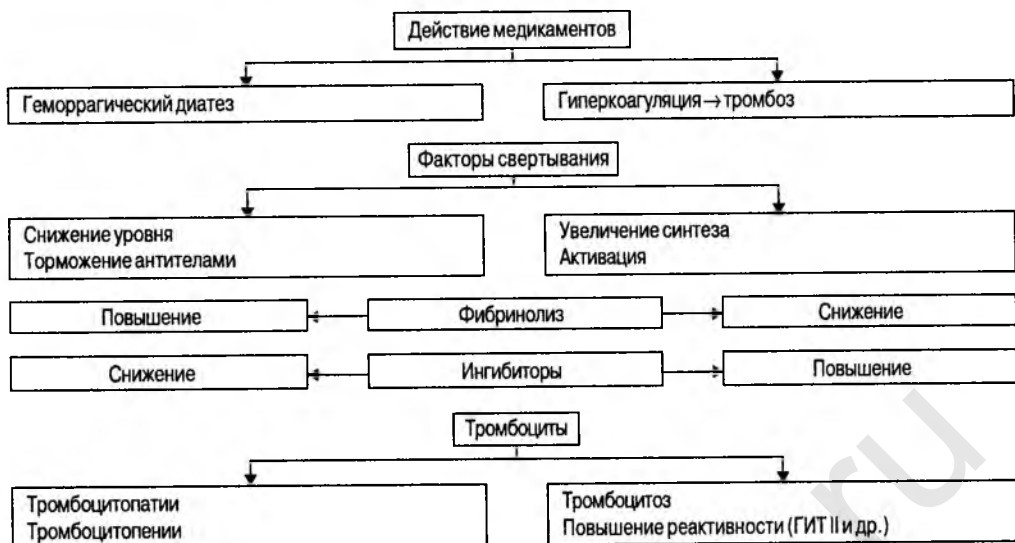


Рис. 78. Возможное влияние медикаментов на систему гемостаза.

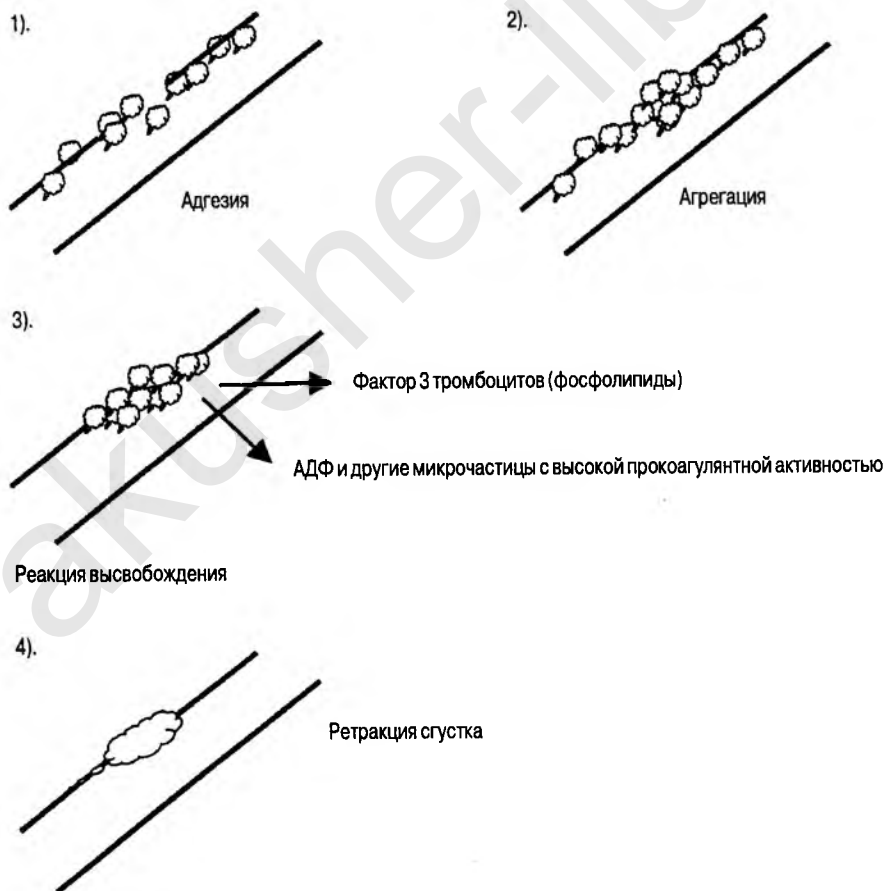


Рис. 79. Четыре важнейшие функции тромбоцитов.

перорального приема препарата и длится от 3 до 7 дней — т.е. ровно столько, сколько «живут» тромбоциты в кровотоке. Вновь образующиеся и поступающие в кровоток из костного мозга тромбоциты обладают нормальной агрегационной активностью.

Таблица 65.

Неспецифические противовоспалительные препараты и некоторые другие лекарственные средства, снижающие функциональную активность тромбоцитов.

Ацетилсалициловая кислота (аспирин)
Дипиридамол (курантил, персантил)
Фенилбутазон
Индометацин
Напроксен
Ибупрофен
Сульфинпиразон
Пенициллин
Карбенициллин
Эритромицин
Клофибрат и др.

В клинической практике следует учитывать, что назначение НПВС перед операцией может стать причиной повышенной кровопотери во время операции, поэтому назначение НПВС, а тем более сочетание различных НПВС друг с другом или с другими препаратами, потенцирующими геморрагическую наклонность (гепарины, спазмолитики, транквилизаторы) накануне операции противопоказано. Само собой разумеется, что эти препараты противопоказаны также пациентам с врожденной или приобретенной наклонностью к геморрагиям. НПВС противопоказаны также пациентам с уреимией или парапротеинемией, поскольку эти патологические состояния сопровождаются нарушением функции тромбоцитов.

Что же касается оперативного вмешательства, то оно должно проводиться не ранее чем через 7 дней после отмены аспирина или других НПВС. Нередко в клинической практике не учитывается, что тот же самый аспирин может входить в состав различных анальгетических и других препаратов, представляющих собой смесь различных лекарственных веществ.

Некоторые антибиотики также могут вызывать тромбоцитопатию, подобно НПВС. В частности, у пациентов, которые в связи с эндокардитом получают высокие дозы пенициллина G, наблюдается нарушение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов и удлинение времени кровотечения. При применении низких доз подобные эффекты не наблюдаются.

В то же время карбенициллин вызывает снижение функции тромбоцитов, подобное эффектам аспирина или фенилбутазона и значительно повышает риск кровотечения во время оперативного вмешательства. Достоверно известно, что эритромицин снижает уровень фактора X.

Причиной нарушения агрегационной активности тромбоцитов могут быть и препараты, применяемые для снижения уровня липидов крови, в частности, клофибрат, который ингибирует как коллаген — индуцированную, так и АДФ — индуцированную агрегацию и, кроме того, способствует удлинению времени «жизни» тромбоцитов в кровотоке.

С каждым годом количество появляющихся новых лекарственных препаратов растет. Естественно, достаточно трудно оценить вероятность влияния того или иного препарата на систему гемостаза. Однако в этих случаях не следует пренебрегать тщательным изучением механизма действия того или иного препарата и известными побочными эффектами, в особенности, когда в ближайшее время планируется хирургическое вмешательство или достоверно известно, что у пациента имеется наклонность к геморрагиям (врожденная или приобретенная).

2. Тромбоцитопения, индуцированная лекарственными средствами

Причиной развития тромбоцитопении могут стать многие препараты, основных же механизмов развития ее два:

- 1) ингибирование пролиферации мегакариоцитов и продукции тромбоцитов;
- 2) деструкция тромбоцитов в периферической крови.

Чаще всего повреждаются все элементы гемопоэза, что ведет к панцитопении.

Однако ряд препаратов могут быть специфичны по отношению к мегакариоцитам.

Причиной деструкции тромбоцитов, как правило, являются антитела. Тем не менее, ряд препаратов могут действовать непосредственно на тромбоциты без вовлечения иммунной системы.

Уникальной формой тромбоцитопении является гепарин — индуцированная, которая обуславливает развитие тромбофилического состояния. Этой форме тромбоцитопении посвящена отдельная глава.

Супрессия продуцирования тромбоцитов

Препараты химиотерапии.

Большинство химиотерапевтических и иммуносупрессивных препаратов при агрессивной терапии вызывают тромбоцитопению. Такие препараты как 6-меркаптопурин, метотрексат, бисульфан, циклофосамид, цисплатин и другие рутинно применяемые препараты вызывают миелосупрессию с последующей тромбоцитопенией. Хотя, как правило, страдают все элементы гемопоэза, именно тромбоцитопения часто лимитирует дозы химиопрепаратов. В настоящее время изучаются экспериментальные модели высокого риска развития тромбоцитопении на основании различных клинических и лабораторных данных, что могло бы позволить более успешно выделять пациентов группы риска по развитию тяжелой тромбоцитопении. В то же время известно, что интерлейкин-11 (IL-11) может оптимизировать химиотерапию и предотвращать, а в ряде случаев, купировать тромбоцитопению. Тромбопоэтин также может успешно применяться с этой целью. Другие химиопротекторные препараты, модулирующие эффекты химиотерапевтических препаратов на продукцию тромбоцитов, находятся на разных стадиях исследования. Миелотоксичность, ведущая к выраженной тромбоцитопении также характерна и для антивирусных препаратов, таких как зидовудин, применяемый для лечения ВИЧ.

Крайне редко отмечается выраженная тромбоцитопения при применении таких препаратов как актиномицин Д, цисплатин, сурамин, циклоспорин и аминоглутетимид; при этом не отмечается миелосупрессия, а количество мегакариоцитов остается в пределах нормальных значений, в связи с этим обстоятельством рассматривается возможность иммунного генеза тромбоцитопении (по типу «хининовой» тромбоцитопении).

Идиосинкратическая, индуцированная лекарствами аплазия костного мозга

Более сотни различных лекарственных средств потенциально могут вызывать апластическую анемию и, как следствие, тромбоцитопению. Это осложнение развивается, как правило, при длительном или прерывистом лечении и не зависит от дозы. Патогенез такого типа лекарственной гиперчувствительности все еще не достаточно ясен. Наиболее часто такие свойства проявляют антиконвульсанты, сульфаниламиды, соли золота, применяемые для лечения ревматоидного артрита, и нестероидные противовоспалительные средства (НПВС).

Препараты, повреждающие мегакариоцитопоэз

1. Анагрелид

Анагрелид является производным хиназолина и вызывает изолированную тромбоцитопению без значительного влияния на другие миелоидные элементы. Хотя механизм этого эффекта не полностью ясен, исследования *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют о нарушении процесса созревания мегакариоцитов.

Это свойство анагрелида позволило использовать его в лечении тромбоцитопении у пациентов с миелопролиферативным синдромом.

2. Алкоголь

При длительном употреблении (несколько месяцев или лет) алкоголя в больших количествах нередко развивается выраженная тромбоцитопения. В некоторых случаях дефицит витаминов и/или спленомегалия, вторичные по отношению к алкогольному циррозу печени, являются причиной тромбоцитопении. Кроме того, исследования *in vitro* и *in vivo* свидетельствуют, что этанол может проявлять относительно специфический эффект на мегакариоцитопоэз у некоторых лиц.

Тромбоцитопения, связанная с хроническим алкоголизмом, обычно умеренная, однако у пациентов с «экстремально» низким количеством тромбоцитов описаны геморрагические симптомы. Если при этом одновременно применяются лекарственные препараты, вызывающие тромбоцитопению или ингибирующие их функцию, риск кровотечений значительно увеличивается. После отмены алкоголя количество тромбоцитов обычно восстанавливается до нормальных значений в течение нескольких недель, однако «мягкая» тромбоцитопения иногда может сохраняться в течение длительного периода времени.

3. Эстрогены

Высокие дозы эстрогенов могут вызывать мегакариоцитную аплазию и выраженную тромбоцитопению в эксперименте на животных. Однако публикуются только спорадические сообщения о тромбоцитопении с мегакариоцитной гипоплазией у пациентов, получающих высокие дозы эстрогенов. Возможно, организм человека относительно резистентен к эстроген — индуцированной супрессии созревания мегакариоцитов.

4. Интерфероны

«Мягкая» или умеренная тромбоцитопения является частым побочным эффектом терапии интерферонами. В случаях преобладающей мягкой тромбоцитопении выраженность интерферон — индуцированной тромбоцитопении увеличивается. Интерферон- α и γ ингибируют пролиферацию мегакариоцитов *in vitro*, а также пролиферацию и дифференциацию стволовых клеток в костном мозге. Этот эффект может объяснять тромбоцитопению у пациентов, получающих интерфероны, однако молекулярные механизмы все еще не идентифицированы.

5. Вальпроевая кислота

Терапия эпилепсии вальпроевой кислотой более чем у 1/3 взрослых пациентов сопровождается развитием тромбоцитопении. Это осложнение дозозависимо и иногда купируется самостоятельно даже при продолжении терапии. У пожилых пациентов тромбоцитопения развивается чаще, чем у молодых. Клинические и *in vitro* исследования свидетельствуют об ингибции вальпроатом процессов созревания мегакариоцитов и продуцирования тромбоцитов. Однако в ряде случаев острая тромбоцитопения с выраженным геморрагическим синдромом свидетельствует, что индуцированные лекарственным средством антитела также могут быть причиной деструкции тромбоцитов.

Индукцированная лекарствами деструкция тромбоцитов «неиммунного» генеза

1. Десмопрессин

Десмопрессин (DDAVP) является одним из препаратов, применяемых с терапевтической целью у пациентов с болезнью Виллебранда (БВ) и некоторыми расстройствами функции тромбоцитов. Тем не менее, у пациентов с БВ 2В типа, характеризующейся наличием мутантного фактора фон Виллебранда (vWF) с высокой афинностью по отношению к тромбоцитарным vWF-рецепторам, инъекции DDAVP могут вызвать мягкую или выраженную тромбоцитопению. DDAVP и криопреципитат также могут быть причиной тромбоцитопении

у пациентов с БВ «тромбоцитарного» типа, характеризующейся наличием мутантных vWF-рецепторов на тромбоцитах.

2. Гемопозитические факторы роста и лейкоциты

Гранулоцито-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) вызывает острое падение количества тромбоцитов у некоторых пациентов. Исследования, проводимые в эксперименте на животных, свидетельствуют об увеличении функции тромбоцитов в селезенке и печени, возможно, в результате активации макрофагально-моноцитарной системы в этих органах. Подобным эффектом обладает и макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF).

3. Фактор некроза опухоли α (TNF- α) / интерферон γ

Лечение некоторых видов сарком с помощью TNF- α в комбинации с интерфероном γ ассоциируется с быстрым падением количества тромбоцитов более чем на 50% у небольшого процента пациентов. В качестве возможного механизма рассматривается влияние комбинации этих цитокинов на эндотелий, с последующими тромбоцитарно-эндотелиальными взаимодействиями и повышенным клиренсом тромбоцитов.

4. Интерлейкин-2 (IL-2)

«Мягкая», а в ряде случаев и выраженная тромбоцитопения наблюдаются при лечении опухолевых заболеваний высокими дозами интерлейкина-2. При этом мегакариоциты не повреждаются, а деструкция тромбоцитов, возможно, является результатом прямого действия IL-2 на тромбоциты, механизм которого пока не ясен.

5. Фактор VIII (свиного происхождения)

«Мягкая», а в ряде случаев и выраженная тромбоцитопения развивается у большинства пациентов с гемофилией, получающих заместительную терапию фактором VIII свиного происхождения. У этих пациентов, кроме того, изредка отмечаются сопутствующие симптомы гиперчувствительности (лихорадка, сыпь и пр.), а также выявляются маркеры активации тромбоцитов. Однако природа образующихся тромбоцит-активирующих иммунных комплексов, формируемых антителами к ксенопротейну, пока не известна.

6. Протамина-сульфат

Тромбоцитопения, как правило, «мягкая», развивается почти у 1/3 пациентов, получающих протамина-сульфат с целью нейтрализации гепарина (чаще у хирургических больных). В качестве возможного механизма рассматривается гипотеза прямого эффекта комплексов гепарин-протамин на тромбоциты.

Индукцированная лекарствами деструкция тромбоцитов иммунного генеза

Иммунно-обусловленная тромбоцитопения может быть вызвана множеством различных лекарственных препаратов. При этом патогенетические механизмы могут быть разными: в качестве триггеров могут выступать как непосредственно лекарственные средства, так и их метаболиты. Возможные механизмы, известные на сегодняшний день, представлены в таблице 66.

Таблица 66.

Механизмы индуцированной лекарствами иммунной тромбоцитопении.

Тип	Механизм	Пример лекарственного средства
Гаптен-индуцированные антитела	Лекарство ковалентно связывается с гликопротеином мембраны тромбоцита и функционирует как гаптен, индуцируя образование антител и иммунный ответ	Пенициллин

Тип	Механизм	Пример лекарственного средства
Тромбоцитопения «хининового» типа	Лекарство нековалентно связывается с гликопротеином мембраны тромбоцита, образуя «сложные» эпитопы или индуцируя конформационные изменения для специфических антител	Хинидин Хинин Сульфаниламиды Антибиотики
Индукция антител	Лекарство индуцирует образование истинных антител, которые связываются с гликопротеинами тромбоцитарной мембраны и не нуждаются в дополнительном введении лекарств	Соли золота Прокаинамид
Опосредованная иммунными комплексами	Лекарство связывается с нормальным протеином, образуя иммунногенные комплексы; антитела реагируют с этими комплексами, формируя иммунные комплексы, которые активируют тромбоциты через Fc-рецепторы	Гепарин
Антагонисты рецепторов фибриногена	Лекарство связывается с фибриногеновыми рецепторами тромбоцитов (GPIIb-IIIa), индуцируя конформационные изменения, которые распознаются антителами?	Тирофибан Эптифибатид
Специфические для данного лекарства	Антитела распознают тромбоцит-специфичные моноклональные антитела, связанные с их мишенями	Абсиксимаб (Рео-Про)

Механизмы иммунной тромбоцитопении, обусловленной лекарствами

1. Индукция гаптен-зависимых антител

В условиях физиологической нормы антителообразование индуцируют только макромолекулы, однако и низкомолекулярные соединения (гаптены), ковалентно связываясь с протеинами, могут стать триггерами образования иммуноглобулинов, специфичных по отношению к самым низкомолекулярным субстанциям. Когда впервые была клинически описана обусловленная лекарственным средством тромбоцитопения, было предположено, что причиной являются гаптен-зависимые антитела, направленные против лекарства, ковалентно связанного с одним или более протеинов в составе тромбоцитарной мембраны. Однако антитела не ингибировались назначением высоких доз растворимого лекарственного средства, что исключало гаптен-зависимую природу антител.

Исключение составляют пенициллин и его дериваты, которые индуцируют формирование гаптен-зависимых антител: как пенициллин, так и его дериваты способны спонтанно и ковалентно связываться с протеинами тромбоцитарной мембраны и в редких случаях вызывают тромбоцитопению. Как пенициллин-индуцированная гемолитическая анемия, так и тромбоцитопения обычно развиваются при длительном лечении высокими дозами пенициллина (несколько недель). Пациенты с установленной гиперчувствительностью к пенициллину, возможно, имеют большую склонность к развитию индуцированной лекарствами тромбоцитопении (ИЛТ) после применения производных пенициллина, хотя такая взаимосвязь полностью не доказана.

У некоторых пациентов возможен другой механизм развития тромбоцитопении, индуцированной пенициллином и его производными. Образующиеся антитела могут не быть гаптен-зависимыми, а иметь сходство с антителами, обнаруживаемыми у пациентов с ИЛТ так называемого «хининового типа».

2. ИЛТ «хининового типа»

Уже более 100 лет назад клиницисты отмечали развитие тяжелой, угрожающей жизни тромбоцитопении после лечения хинином. Развитие ИЛТ «хининового типа» связано с циркуляцией антител, реагирующих с тромбоцитами только при условии, что лекарственное средство находится в растворенной форме. Хотя многие препараты способны индуцировать образование таких антител, однако хинин, хинидин и сульфаниламиды в большей степени ответственны за развитие ИЛТ. Антитела «хининового типа» обладают рядом уникальных свойств:

1) они связываются с мишенями на тромбоцитарных мембранах в условиях более высокой концентрации лекарственного средства, чем это может быть достигнуто *in vitro*;

2) антитела обычно не связываются с тромбоцитами, предварительно «обработанными» сенсибилизирующим препаратом и затем отмытых;

3) антитела реагируют с гликопротеинами, присутствующими на мембранах тромбоцитов, как человека, так и приматов, но не других;

4) антитела могут диссоциировать от соответствующих мишеней, если сенсибилизированные тромбоциты суспендируются в буфере в отсутствие лекарственного препарата.

Такое «поведение» этих антител рознит их от гаптен-зависимых антител.

Каким образом сенсибилизирующий лекарственный препарат обуславливает связывание «лекарственно-обусловленных» антител со специфическими мишенями на тромбоцитарных мембранах без ковалентного связывания с мишенями на сегодняшний день еще не ясно.

Первая гипотеза подразумевала, что лекарственный препарат взаимодействует с антителами с образованием иммунных комплексов, которые, ассоциируясь с тромбоцитами, вызывают их деструкцию. Этот механизм получил название концепции «иммунных комплексов» и долгое время считался основополагающим в патогенезе ИЛТ «хининового типа». Тем не менее, в последние два десятилетия данная концепция была пересмотрена и отвергнута. Впоследствии были предложены альтернативные варианты механизмов связывания лекарственно-обусловленных антител с их мишенями (рис. 80).

Согласно одной из теорий, сенсибилизирующий препарат взаимодействует с одним или более гликопротеином тромбоцитарной мембраны с образованием эпитопа (возможно, состоящего из препарата и пептида), который непосредственно распознается антителом.

Большинство препаратов, индуцирующих ИЛТ «хининового типа» содержат гидрофобные элементы, что способствует связыванию с комплементарным доменом протеина. Тесное взаимодействие между препаратами и пептидным доменом протеина мишени способствует образованию «сложных эпитопов», для которых антитела являются специфическими (рис. 80 Б).

Другим альтернативным механизмом может быть следующий (рис. 80 А): препарат, связываясь с тромбоцитарной мембраной, вызывает конформационные изменения в протеине — мишени, которые и распознаются антителами. Возможно также, что препарат связывается с Fab-участком антитела и «реконфигурирует» его таким образом, что тот начинает проявлять специфичность по отношению к одному или более сайтов на гликопротеиновых мишенях, однако экспериментальные исследования пока не подтверждают эту теорию.

Антитела, индуцированные хинином или его диастереоизомеров, хинидином, специфичны для эпитопов тромбоцитарных гликопротеинов (GP) Ib-IX и/или IIb-IIIa.

препарат

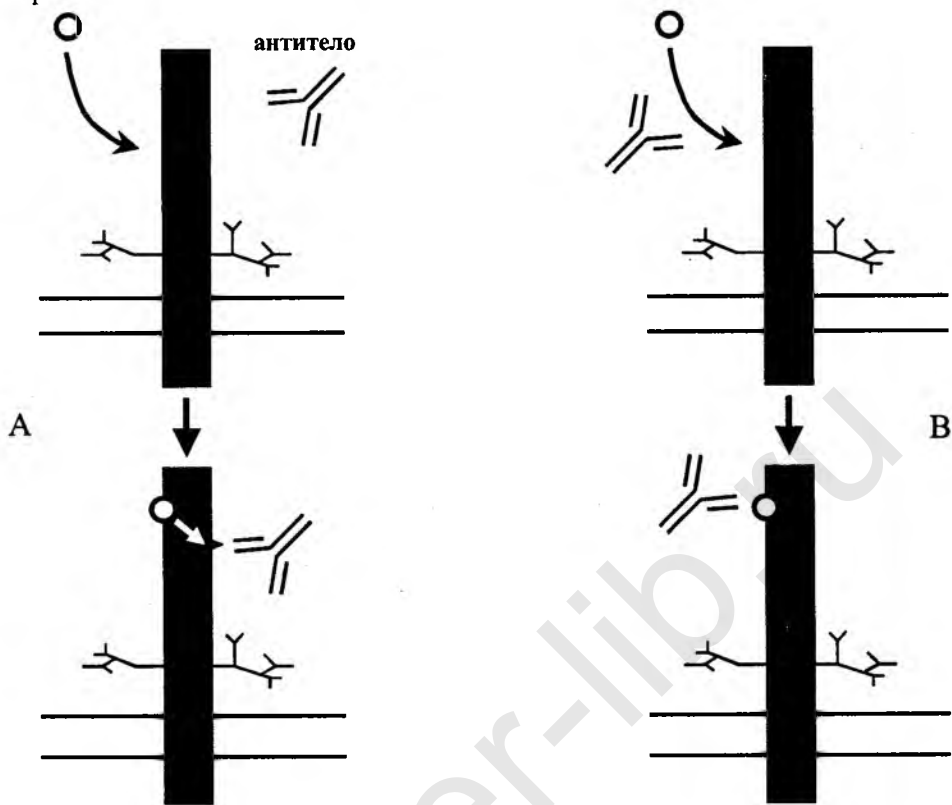


Рис. 80. Альтернативные варианты механизмов связывания лекарственно-обусловленных антител с их мишенями.

Ряд лекарственно-обусловленных антител взаимодействуют с GPIIb или GPIIIa в отдельности, в то время как другие нуждаются в обязательном наличии интактного гетеродимера для связывания.

Некоторые антитела специфичны для комплекса GPIb-IX.

Большинство сульфаниламид-индуцированных антител распознают только GPIIb-IIIa и требуют наличия только интактного гетеродимера для связывания. Недавно появились данные о тромбоцитарных молекулах адгезии эндотелиальных клеток-1 (PECAM-1, CD31) как потенциальных мишенях для лекарственно-обусловленных антител у группы пациентов, чувствительных к анти-тироидному препарату карбимазолу.

В настоящее время с целью уточнения механизмов взаимодействий антител с тромбоцитами, изучаются мишени и, в частности, непосредственно пептиды тромбоцитарных протеинов как возможные эпитопы, для которых специфичны лекарственно-индуцированные антитела. К таковым относятся короткий участок GPIX, короткие пептидные последовательности GPIIb и GPIIIa, которые были идентифицированы как связывающие сайты для хинин-зависимых антител.

3. Индукция аутоантител лекарственными средствами

Аутоиммунная гемолитическая анемия достаточно хорошо известна в клинической практике и относительно часто является побочным эффектом антигипертензивного препарата α -метилдопы, а также может развиваться у пациентов, получающих такие препараты как леводопа, прокаинамид и другие препараты.

Наиболее известными препаратами, вызывающими индукцию аутоиммунных антител являются соли золота, применяемые для лечения ревматоидного артрита, у которых индукция аутоантител, отвечающая на терапию глюкокортикоидами, спленэктомию и в/в иммуноглобулин развивается в 1% случаев.

В ряде случаев у пациентов с ИЛТ могут присутствовать «короткоживущие» антитела, которые связываются с тромбоцитами без необходимости наличия самого лекарственного средства.

Так, у пациентов с ИЛТ, получающих сульфаметоксазол (в том числе ко-тримоксазол, триметоприм) отмечается циркуляция как лекарственно-зависимых антител, так и собственно аутоантител. Каким образом индуцируют соли золота и другие препараты реактивные в отношении тромбоцитов антитела, все еще не известно.

4. Индуцированная лекарствами деструкция тромбоцитов иммунными комплексами

Как уже указывалось, формальная гипотеза иммунной тромбоцитопении «хинонового типа» подразумевает в качестве основной причины образование иммунных комплексов, в результате взаимодействия антител и лекарственных препаратов, для которых они специфичны. Однако в последние годы эта гипотеза также подвергается сомнению.

Соответственно и термин «иммунный комплекс», применяемый для описания механизмов, ответственных за развитие ИЛТ должен быть отвергнут.

Пожалуй, единственным исключением является гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ). И хотя молекулярный патогенез ГИТ еще не до конца изучен, абсолютно не вызывает сомнений, что иммунные комплексы, образующиеся при взаимодействии гепарина, тромбоцитарного фактора 4 (PF4) и антител имеют ключевое значение в патогенезе ГИТ. Подробнее механизмы ГИТ обсуждаются в отдельной главе.

5. Иммунная тромбоцитопения, индуцированная антагонистами рецепторов фибриногена

Антагонисты рецепторов фибриногена (АРФ), блокирующие связывание фибриногена с соответствующим тромбоцитарным рецептором (GPIIb-IIIa), являются новым, многообещающим классом антитромбоцитарных препаратов, используемых, в первую очередь для предотвращения реокклюзии после коронарной ангиопластики и для лечения нестабильной стенокардии. Однако во всех крупных клинических исследованиях этих препаратов у небольшого процента пациентов отмечалась острая тромбоцитопения, развивающаяся в течение нескольких часов после начала терапии. Характерно, что эти пациенты не имели гиперчувствительности к гепарину или к другим препаратам.

Частота данного осложнения у пациентов, получающих абсиксимаб, (Fab-фрагмент, специфичный для GPIIb-IIIa) составляет около 1—2% после первого приема препарата и несколько выше — после второго. Этот факт свидетельствует, что абсиксимаб-индуцированная тромбоцитопения должна быть, по сути, анти тело-опосредованной.

Тем не менее, недавно был доказан и альтернативный неиммунный механизм. Истинная тромбоцитопения, развивающаяся после назначения абсиксимаба, должна быть дифференцирована с псевдотромбоцитопенией — *in vitro* артефактом вследствие «склеивания» тромбоцитов в крови, антикоагулированной EDTA. С целью исключения псевдотромбоцитопении необходимо проведение повторного исследования количества тромбоцитов в цитратной (!) крови и антикоагулированной EDTA крови.

Низкомолекулярные АРФ-тирофибан и эптифибатид были недавно допущены к клиническому применению в США. Эптифибатид является циклическим гептапептидом, а тирофибан-синтетическим лигандным миметиком, имитирующим трипептидную последовательность: аргинин-глицин-аспартат (RGD).

Острая тяжелая тромбоцитопения развивается в среднем у 0,1—0,5% пациентов, получающих эти препараты. Однако поскольку не всегда учитывается преморбидный фон, а также факт одновременной терапии гепарином, которые потенциально могут быть причиной тромбоцитопении, до сих пор не достигнут консенсус относительно того, как много тромбоцитопенических эпизодов после лечения вызваны именно АРФ. Исследования у приматов и предварительные клинические исследования свидетельствуют, что деструкция тромбоцитов после применения различных препаратов — в том числе и экспериментальных лигандных миметиков, вызвана предсуществующими, естественно развивающимися антителами, специфичными по отношению к лиганд-связанным GPIIb-IIIa.

После взаимодействия с GPIIb-IIIa, лигандные миметики индуцируют конформационные изменения в гетеродимере (GPIIb-IIIa), что ведет к экспрессии эпитопов (лиганд-индуцированных связывающих сайтов, ЛИСС), распознаваемых некоторыми муриновыми моноклональными антителами.

Предполагается, что антитела, связанные с АРФ-индуцированной тромбоцитопенией, могут быть человеческим аналогом ЛИСС-специфичных моноклональных антител. Если это так, то эти антитела должны естественным образом синтезироваться в организме и «предсуществовать», так как тромбоцитопения может развиваться остро уже после первого введения лиганд-миметического препарата.

Лекарственные препараты как причина иммунной тромбоцитопении

Как уже отмечалось, сотни различных препаратов могут вызывать иммунную тромбоцитопению. В большинстве случаев связь подтверждается только в 1 или 2 сообщениях, при этом в иных источниках не учитываются другие факторы, одновременно присутствующие в качестве потенциальных каузальных факторов тромбоцитопении.

В связи с этим стали разрабатываться критерии «достоверности» причинной роли лекарственных препаратов в возникновении тромбоцитопении. Одними из наиболее удачных критериев являются критерии George et al., которые провели ретроспективный анализ всех англоязычных сообщений об ИЛТ, на основании чего идентифицировали 48 лекарственных препаратов, которые «достоверно установлены» как каузальные согласно 4 критериям (табл. 67).

Таблица 67.

Критерии, используемые для определения, является ли данный препарат причиной лекарственной тромбоцитопенической пурпуры.

Критерий	Описание
1	1) Прием данного препарата предшествовал тромбоцитопении и
2	2) тромбоцитопения полностью исчезла после отмены препарата.
3	3) Кроме данного препарата, другие лекарственные средства не применялись, или
4	4) после отмены данного препарата восстановилось нормальное число тромбоцитов на фоне приема других лекарственных средств.
Степень вероятности	
I	Определенно: критерии 1,2,3 и 4 присутствуют.
II	Возможно: критерии 1,2 и 3 присутствуют.
III	Вероятно: критерий 1 присутствует
IV	Маловероятно: критерий 1 отсутствует

Пятнадцать дополнительных препаратов, которые отвечали только трем критериям, были идентифицированы как «возможные» причины тромбоцитопении.

Особо следует отметить, что обнаружение факта взаимодействия антител с тромбоцитами в присутствии лекарственного препарата не рассматривалось в качестве диагностического критерия, исходя из двух соображений:

1) не было уверенности, что применявшийся метод исследования достаточно чувствительный;

2) лекарственно-зависимые антитромбоцитарные антитела иногда обнаруживаются у пациентов без проявлений тромбоцитопении.

Следует заметить, что в последнее десятилетие технологии выявления реактивных в отношении тромбоцитов алло-, ауто- и лекарственно-зависимых антител значительно усложнились.

В таблице препараты, входящие в категории «Уровень I» и «Уровень II» идентифицированы как «достоверные» и «возможные» причины тромбоцитопении согласно критериям George et al. Другие препараты рассматриваются другими исследователями как причина тромбоцитопении на основании лабораторных и других критериев.

Метаболиты лекарственных средств как причина иммунной тромбоцитопении

Хотя чаще выявление антител, реактивных по отношению к тромбоцитам в присутствии «подозреваемого» лекарственного препарата свидетельствует об ИЛТ, нередко имеют место отрицательные результаты, и антитела в присутствие лекарства не обнаруживаются, несмотря на наличие других критериев, подтверждающих развитие тромбоцитопении после назначения данного препарата. Объяснением этому феномену может быть образование *in vivo* метаболитов препарата, которые и являются причиной появления антител, в то же время *in vitro* эти метаболиты не образуются, а потому и антитела, реактивные к тромбоцитам в присутствие лекарственного препарата также не обнаруживаются. Такой феномен нередко имеет место у пациентов с индуцированной лекарствами гемолитической анемией.

В последние годы активно изучаются метаболиты, ответственные за развитие ИЛТ. К таковым относятся ацетаминофена сульфат, глициновый конъюгат парааминосалициловой кислоты, глюкуроновый конъюгат напроксена, неидентифицированный метаболит ибупрофена, которые способствуют связыванию антител с тромбоцитами.

Клинические проявления

Большинство препаратов, представленных в таблице 76 являются редкой причиной тромбоцитопении. Поскольку хинин, хинидин и сульфаметоксазол чаще являются триггерами тромбоцитопении «хининового типа», вполне оправдано у пациентов с остро возникшей тромбоцитопенией выяснить, принимали ли они эти препараты. При этом следует учитывать, что хинин может присутствовать в прохладительных напитках, коктейлях, аперитивах, а, следовательно, возможно попадание препарата в организм именно с пищевыми продуктами.

Практически всегда симптомы ИЛТ развиваются в течение дня после приема сенсibiliзирующего препарата. Соли золота, которые вводятся в форме депо и могут «задерживаться» в организме длительное время, составляют исключение из этого правила.

В процессе приема провоцирующего препарата, сенсibiliзированные пациенты часто жалуются на чувство жара, прилив крови, покраснение кожи и лихорадку, а затем озноб. Нередки и обморочные состояния.

Хотя острая тромбоцитопения развивается в течение нескольких часов после приема препарата, геморрагические клинические проявления часто в форме петехиальных геморрагий, пурпуры, кровотечений из желудочно-кишечного и мочевого тракта могут иметь место спустя 12—24 часов.

Геморрагические буллы слизистой щеки могут свидетельствовать о крайне низком количестве тромбоцитов, обычно менее 5 тыс./мкл. Как правило, сообщения о таких случаях чаще делают дантисты. При более высоком уровне тромбоцитов отмечаются десневая кровоточивость при чистке зубов щеткой. При отмене лекарственного препарата клинические признаки ИЛТ, как правило, купируются в течение 1—2 дней, а количество тромбоцитов возвращается к нормальным значениям в течение 3—4 дней. В ряде случаев тромбоцитопения персистирует в течение 1—2 недель. У пациентов с ИЛТ иногда развиваются и специфические антитела к эритроцитам или нейтрофилам, что клинически может проявляться гемолитической анемией и нейтропенией в дополнение к тромбоцитопении. У пациентов, чувствительных к хинину и некоторым другим лекарственным препаратам клинические проявления могут включать, в том числе гемолитико-уремический синдром (микроангиопатическая гемолитическая анемия, почечная недостаточность, тромбоцитопения).

Лабораторная диагностика, прогноз и принципы терапии

Для идентификации антител, которые реагируют с нормальными тромбоцитами в присутствии сыворотки больного с ИЛТ, используются различные методы исследования, однако они воспроизводимы только в условиях специализированной лаборатории. Антитела, индуцированные хинином, хинидином и сульфаметоксазолом обычно легко выявляются, однако отрицательные результаты окончательно не исключают вероятность наличия лекарственно-обусловленной этиологии. В таких случаях необходимы исследования с метаболитами этих препаратов, что повышает точность исследования. С целью безопасности оправдано введение первой дозы препарата в низкой дозе с последующим динамическим контролем количества тромбоцитов.

У пациентов с подозрением на острую ИЛТ, «подозрительный» лекарственный препарат необходимо немедленно отменить вплоть до подтверждения или исключения лекарственно-обусловленного генеза тромбоцитопении. Терапию, в случае необходимости, продолжают сходным по фармакологическому эффекту препаратом. У пациентов с выраженной тромбоцитопенией повышен риск внутрисерепных геморрагий, кроме того, возможно развитие фатального легочного кровотечения. Хотя глюкокортикоиды, как правило, не эффективны, их, тем не менее, назначают эмпирически (на случай, если имеет место тромбоцитопения, индуцированная аутоиммунными антителами).

В случаях выраженной тромбоцитопении показана трансфузия тромбоцитарной массы, в особенности, если тромбоцитопения вызвана АРФ, которые ингибируют функцию тромбоцитов в кровотоке. Обмен плазмы и/или в/в введение γ -глобулина рекомендуется у пациентов с остро выраженной ИЛТ. Однажды установленная, чувствительность к препарату, вызывающему ИЛТ, обычно присутствует перманентно. Поэтому следует избегать повторных назначений этого препарата.

Б) Тромбофилические нарушения

В последние годы вопрос ятрогенных тромбозов или, иначе, тромбозов, индуцированных лекарственными средствами (ТИЛ), приобрел особую актуальность. Уже несколько десятилетий отмечают ятрогенные тромбозы в результате применения лекарственных средств, в частности еще Jordan в 1961 году сообщил о связи между эстроген-содержащими оральными контрацептивами и предрасположенностью к «спонтанным» венозным тромбоэмболическим заболеваниям. В настоящее время уже известно, что в основном тромбоэмболические осложнения возникают у пациенток с предсуществующей тромбофилией (генетически обусловленной или приобретенной). Поэтому в клинической практике следует оценивать все возможные факторы тромбозов и эмболий (рис. 81).

Раннее распознавание возможной связи между лекарственными средствами и тромбоэмболическим осложнением может в прямом смысле спасти жизнь пациенту, как, например, в случае обширных артериовенозных тромбозов, развивающихся при синдроме гепарин-индуцированной тромбоцитопении. В настоящее время известны следующие ТИЛ:

1. Тромбозы, обусловленные применением антикоагулянтов (гепарин-индуцированная тромбоцитопения, варфарин-индуцированный некроз кожи);
2. Антифосфолипидные антитела (АФА) и тромбоз в результате применения некоторых лекарственных средств (см. ниже);
3. Тромбозы, осложняющие гемостатическую терапию (при использовании концентрата факторов свертывания, аналогов вазопрессина — DDAVP);
4. Тромбозы, вызванные использованием радиографических контрастных средств;
5. Тромбозы, обусловленные приемом глюкокортикоидов;
6. Эстроген-обусловленные тромбозы (КОК и ЗГТ);
7. Тромбозы, обусловленные химиотерапией.

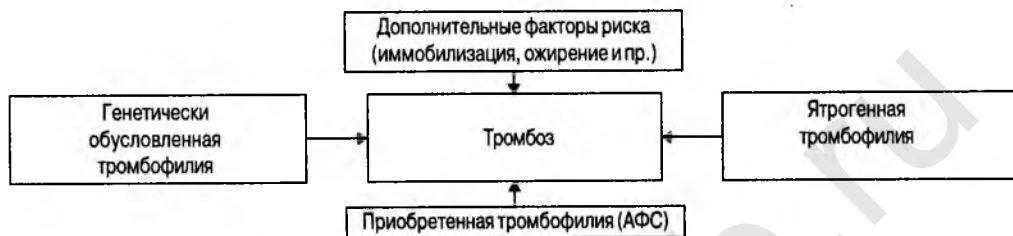


Рис. 81. Факторы риска тромбозов.

1. Тромбозы, обусловленные применением антикоагулянтов

А). Антагонисты витамина К и тромбозы

Варфарин и другие оральные антикоагулянты — кумарины и индандионы вызывают снижение концентрации в плазме карбоксилированных форм всех витамин-К-зависимых белков, включая антикоагулянты — протеин С и его кофактор — протеин S, а также факторы свертывания II, VII, IX и X.

При предсуществующей тромбофилии, обусловленной дефицитом протеина С или S, АФС, мутации FV Leiden, терапия варфарином может индуцировать транзиторное протромботическое состояние и способствовать снижению уровня протеинов С и S до наступления адекватного антикоагулянтного эффекта. Это может вести к прогрессированию тромбоза у пациентов с наследственным дефицитом антикоагулянтов, если оральные антикоагулянты назначаются без адекватного «гепаринового прикрытия». Большинство случаев «варфарин-индуцированного некроза кожи» (внезапное образование пурпуроподобной области инфаркта кожи с преимущественным поражением областей богатых жировой клетчаткой — ягодицы или бедро) развивается по этому механизму, хотя такие осложнения возможны у индивидуумов без врожденного дефицита протеина С и S. Поэтому начинать терапию варфарином у больных с врожденным дефицитом протеина С или S нужно очень осторожно и обязательно в сочетании с гепаринотерапией.

Подробнее проблемы варфарин-индуцированных тромбозов и некроза кожи изложены в главе VII.

Б). Гепарин-индуцированная тромбоцитопения и тромбозы (ГИТ)

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения является редким, однако одним из наиболее тяжелых тромботических ятрогенных осложнений.

Наиболее часто ГИТ развивается при применении нефракционированного гепарина. Подробнее вопросы патогенеза, клинических проявлений, диагностики и лечения ГИТ изложены в главе XVI.

2. Антифосфолипидные антитела (АФА), индуцированные лекарственными средствами и тромбоз

В настоящее время известно, что целый ряд лекарственных средств связан с появлением антифосфолипидных антител (АФА):

Хлорпромазин
Прокаионамид
Фенотиазин
Фенитоин
Фанзидар
Гидралазин
Хинидин
Хинин
 α -интерферон
Кокаин

Хлорпромазин и другие родственные лекарственные средства составляют наиболее важную в этом смысле группу. Было обнаружено, что более чем у 75% больных, получавших в качестве лечения хлорпромазин, в течение более чем 2,5 лет возникал волчаночный антикоагулянт.

Антикардиолипины (АКА) также могут быть обнаружены, равно как и антинуклеарные антитела. В большинстве случаев АФА представлены IgM. Однако, другие лекарственные средства, например прокаинамид, могут индуцировать развитие IgG.

Существует предположение, что увеличение риска тромбоза не является характерным свойством АФА, индуцированных лекарственными средствами. Например, при исследовании 219 больных с ВА, описанных Gastineau et al., тромбоз не отмечался ни у одного из 14 больных с ВА, индуцированным лекарственными средствами, тогда как у 26% больных из 205 со «спонтанным» ВА или ВА в рамках СКВ, отмечались артериальные и/или венозные тромбозы.

Несмотря на это, другие авторы в своих исследованиях все же отмечали случаи тромбозов у больных с АФА, индуцированными хлорпромазином.

АФА, которые появляются на фоне общей инфекции, также не связывают с повышенным риском тромбоза. Возможно, что АФА, индуцированные лекарственными средствами подобным же образом, не проявляют свойство увеличивать риск тромбоза. Однако, для окончательных выводов на сегодняшний день недостаточно данных. Поэтому необходимо с осторожностью назначать лекарственные средства, которые могут индуцировать образование ВА или АКА и, таким образом, увеличивать риск тромбоза у отдельных больных.

3. Тромбозы, обусловленные применением средств для лечения геморрагических расстройств и терапией эритропоэтином

Применение концентратов протромбинового комплекса в основном для лечения и профилактики кровотечений при гемофилии В может быть связано с развитием протромботического состояния и клинически проявляться тромбозами. То же касается DDAVP (аналог вазопрессина) и ингибиторов фибринолиза-транексамовой кислоты и ϵ -аминокапроновой кислоты, а также внутривенной терапии иммуноглобулином при иммунной тромбоцитопении (ИТП).

А). Концентраты протромбинового комплекса (КПК) и тромбоз

КПК содержат примерно одинаковое количество факторов свертывания II, IX и X и иногда фактор VII. Тромбозэмболические осложнения при их применении встречаются нередко и включают артериальный и венозный тромбозэмболизм, равно как и ДВС. Осложнения особенно вероятны, если КПК применяется у больных с тяжелыми заболеваниями печени. В таких случаях их применение абсолютно противопоказано.

Обнаружение маркеров активации коагуляции, таких как фибринопептид А, F1+2 фрагменты протромбина, комплексов тромбин-антитромбин (ТАТ), демонстрирует, что активация коагуляции *in vivo* является свойством КПК, назначаемого при гемофилии В.

Протромботический эффект КПК может быть обусловлен повышенным содержанием в нем зимогена, наличием активированных факторов свертывания и примесью активных, в смысле активации коагуляции, фосфолипидов.

Применение «очищенного» концентрата фактора IX при гемофилии В может снизить риск тромбозов: уже полностью доказана меньшая тромбогенность этого препарата по сравнению с КПК.

Концентрат фактора XI также представляет интерес, и в настоящее время изучается на предмет возможной тромбогенности.

Б). DDAVP и тромбоз

Этот аналог вазопрессина (десмопрессин) обычно используется при лечении болезни Виллебранда и мягкой гемофилии, а также при некоторых качественных тромбоцитарных нарушениях. Независимо от пути введения — интраназально или внутривенно — результатом его применения является повышение в плазме концентрации фактора Виллебранда и фактора VIII.

Хотя, в общем, DDAVP считается безопасным, его применение иногда (редко) может вести к развитию инфаркта миокарда и инсульта. Были отмечены также венозные тромбозы.

Несмотря на данные о применении DDAVP в ситуации высокого риска — в кардиальной хирургии, ввиду малого риска тромбоза, тем не менее, лучше избегать его назначения больным с симптоматикой артерио-окклюзионных заболеваний.

В). Ингибиторы фибринолиза и тромбоз

Много лет ингибиторы фибринолиза используются в качестве вспомогательных средств гемостатической терапии геморрагических расстройств, а также при лечении меноррагий. При этом отмечаются случаи интракраниальных и других тромбозов. Кроме того, обычно при применении этих средств риск возникновения тромбоза невелик, однако может быть высоким при сочетании с другими факторами риска, например постоперационное состояние. Это положение подтверждает тот факт, что только у 11 женщин из 238000, получавших транексамовую кислоту в связи с меноррагией, развился тромбоз.

Следует отметить, что применение ингибиторов фибринолиза при ДВС-синдроме представляет риск усиления ишемии тканей.

Г) Внутривенное применение иммуноглобулина при иммунной тромбоцитопении (ИТП)

Woodruff et al. описали 2 случая инсульта и 2 — инфаркта у пожилых пациентов, получавших лечение иммуноглобулином внутривенно в связи с ИТП. Все имели предрасполагающее заболевание или гипертензию. Frame и Crawford представили данные о внутривенном применении иммуноглобулина Scottish Blood Transfusion Service у 34 больных в возрасте старше 60 лет. Только 1 из 3 случаев смерти в течение 14 дней терапии иммуноглобулином был связан с инфарктом миокарда в результате тромбоза у мужчины с гипертензией. Весьма вероятно, что возросшее количество тромбоцитов может быть содействующим фактором, если риск тромбоза, в самом деле, связан с применением этого препарата при ИТП.

Д). Эритропоэтин

Обострение гипертензии и развитие тромбоза шунта широко освещается при применении эритропоэтина в связи с анемией при хронической почечной недостаточности. Как казуистика описаны случаи других тромбозов. Эритропоэтин широко используется для «улучшения достижений» в различных видах спорта

на выносливость, особенно в велосипедном спорте. Сообщения о внезапной смерти среди велосипедистов, часто вскоре после соревнования, связаны с приемом эритропоэтина. Повышенная вязкость крови, обусловленная повышенным гематокритом, в сочетании с дегидратацией могут объяснить такую связь.

4. Внутривенные контрастные вещества и тромбоз

Хотя инвазивная, радиологическая техника, включающая катетеризацию сосудов, подразумевает повышение риска тромбоза, возможно дополнительно он может быть обусловлен применением контрастных веществ, включающих более усовершенствованные «неионные» широко применяемые в настоящее время. Эти контрастные вещества имеют меньшую осмолярность, чем их «ионные» предшественники. Хотя тромбозы наблюдаются, они не являются обычным осложнением этой процедуры: Gabriel et al. обнаружили только 12 случаев необъяснимых коронарных тромбозов или «прилипших» сгустков крови на катетере у 10000 пациентов, подвергшихся кардиальной катетеризации. Несмотря на это, согласно данным исследований *in vitro*, контрастные вещества проявляют антикоагулянтный и, возможно, антиагрегационный эффекты.

Наибольшим эффектом контрастных веществ может быть образование фибрина.

Наиболее вероятно, что тромботический риск при катетеризации в большей мере зависит от техники селекции пациентов и других факторов риска как, например, вид катетера и прочие, чем от протромботических свойств контрастных веществ. Однако требуются дополнительные исследования для окончательного решения данного вопроса.

5. Глюкокортикоиды и система гемостаза

Пожалуй, кортикостероиды на сегодняшний день можно назвать одним из наиболее любимых нашими акушерами-гинекологами, препаратов. Его назначают беременным с «гиперандрогенией», при АФС, в случае обнаружения так называемых, «анти-ХГЧ-антител», а в некоторых учреждениях — даже при гестозах. Несмотря на то, что в мировой литературе уже давно пересмотрены вопросы целесообразности длительного применения глюкокортикоидов в акушерстве, в нашей стране глюкокортикоиды все еще применяются неоправданно широко.

Наиболее значимым является повышенный риск развития гипертензии, гестоза и преждевременных родов. Кортикостероиды нарушают процесс коллагенообразования и ведут к истончению околоплодных оболочек и преждевременному излитию околоплодных вод. При этом надо учитывать риск развития восходящей инфекции на фоне подавленного длительным приемом препаратов иммунитета.

Многочисленные исследования показали, что прием кортикостероидов во время беременности является независимым фактором, ведущим к рождению детей со сниженным весом, нарушенной адаптацией в раннем неонатальном периоде, а также на более отдаленных этапах развития.

Кроме того, длительное применение кортикостероидов ведет к реактивации вирусной инфекции и подавлению гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси у матери с нарушением стрессорной адаптации.

Патогенез остеопороза и связанных с ним переломов, включая аваскулярный некроз, при приеме кортикостероидов многокомпонентный. Препараты нарушают функцию остеобластов, препятствуют их созреванию, а также повышают активность остеокластов. Вероятны нарушения по типу вторичного гиперпаратиреозидизма: повышение чувствительности к паратгормону и снижение абсорбции кальция из кишечника.

Другими хорошо известными ятрогенными осложнениями являются нарушение толерантности к глюкозе, гестационный диабет, катаракта, изменение настроения и депрессии, бессонница, кожные проявления — стрии и аллопеция, язвы желудочно-кишечного тракта (риск усиливается при одновременном приеме нестероидных противовоспалительных препаратов).

Что же касается влияния кортикостероидов на систему гемостаза, то следует отметить, что большинство изменений в системе гемостаза ведут к состоянию гиперкоагуляции и активации коагуляционного каскада. Основные изменения в системе гемостаза, наблюдаемые при длительной терапии кортикостероидами, включают:

- Подавление фибринолиза;
- Повышение количества тромбоцитов «тромбоцитоз»;
- Повышение уровня ТАТ, F1+2 протромбина;
- Повышение капиллярной проницаемости;
- Влияние на функцию тромбоцитов незначительно;
- Васкулярная пурпура в результате дегенерации коллагена.

Подавление фибринолиза наряду с повышением уровней ТАТ и F1+2 свидетельствуют о протромботических эффектах кортикостероидов. В то же время повышение количества тромбоцитов объясняется усилением перехода тромбоцитов из костного мозга в кровотоки. Что касается влияния кортикостероидов на агрегационную активность тромбоцитов, то по последним данным, преднизолон не оказывает влияния на агрегационную активность, дексаметазон же незначительно ее снижает (в основном у женщин, но не у мужчин). В то же время гидрокортизон, по данным Mustard et al., блокирует образование простаглицлина в эндотелии и укорачивает время кровотечения.

Сосудистая пурпура, наблюдаемая при длительном применении кортикостероидов, объясняется дегенерацией коллагеновых волокон сосудистой стенки.

Исходя из указанных выше эффектов кортикостероидов на систему гемостаза совершенно очевидно, что применение их у беременных с тромбофилией (АФС, генетически обусловленные формы), а также у беременных с гестозом, который сопровождается ДВС, или с вирусной инфекцией будет объективно ухудшать как состояние системы гемостаза, так и, соответственно, клиническое течение беременности.

Поэтому мы считаем обоснованным применение кортикостероидов во время беременности только у пациенток с тяжелой аутоиммунной нозологией (СКВ, ревматоидный артрит и пр.) по витальным показаниям.

6. Эстроген-обусловленные тромбозы (КОК и ЗГТ)

К наиболее серьезным предрасполагающим факторам лекарственно обусловленных тромбофилии и тромбоза у небеременных женщин относятся гормональная контрацепция, гормональная заместительная терапия и «вспомогательная» репродукция, подразумевающая использование интенсивной гормональной терапии. Эти ситуации в последние годы все больше стали привлекать внимание, поскольку получили большое распространение, что повлекло за собой не только положительные эффекты, но и серьезные побочные.

А). Гормональная контрацепция и тромбофилические состояния

Комбинированные оральные контрацептивы (КОК), содержащие эстрогенный и гестагенный компоненты, являются высоко эффективными средствами контрацепции, которые используются огромным количеством женщин во всем мире. Впервые связь между приемом КОК и возникновением венозного тромбоза (ВТ) была выявлена около 35 лет назад, когда доктором Jordan было описано развитие ТЭЛА у женщины 40 лет после приема местранола и норэтинодрела в связи с эндометриозом. Позднее более полная информация о связи между КОК и ВТ была представлена в публикации The Royal College of General Practitioners в 1967 году. Отсутствие знаний о механизмах, посредством которых КОК приводят к развитию ВТ было важнейшим фактором, определяющим в течение последних 35 лет венозный и артериальный тромбоз эмболизм на фоне приема КОК.

Несмотря на 40-летний мировой опыт применения гормональных контрацептивов, проблемы, возникшие в связи с безопасностью их применения, продолжают оставаться предметом серьезных научных исследований. Следует признать, что тромботические осложнения, весьма характерные для КОК первого поколения, явились очень важным фактором, стимулирующим улучшение качества КОК последующих поколений. При этом исследованию системы гемостаза в прогнозировании возможных осложнений стало придаваться исключительно важное значение. Результатом этого можно считать громадный прогресс в улучшении качества КОК II и III поколений.

В результате многочисленных экспериментальных, клинических, медико-статистических исследований удалось снизить дозу эстрогенного компонента в составе комбинированных оральных контрацептивов (КОК) примерно в 5 раз (по сравнению с контрацептивами I поколения), а дозы гестагенов — в 5—20 раз. Качественный состав и дозировки контрацептивов и в настоящее время пересматриваются как на основании новых экспериментальных наблюдений, так и в связи с данными многочисленных когортных исследований медико-статистического и клинического характера.

В течение последних 30 лет в составе препаратов не только значительно уменьшилась доза прогестагенного компонента, но и, кроме того, разработаны новые типы прогестагенов. Все они являются производными 19-нортестостерона. В 80-е годы синтезированы прогестагены третьего поколения (дезогестрел, гестоден, норгестимат), отличительной особенностью которых является высокое сродство к рецепторам прогестерона и низкое — к рецепторам андрогенов.

Наиболее широко используемые в последние годы КОК II и III поколений отличаются, в основном, гестагенным компонентом: КОК II поколения содержат левоноргестрел или норгестимат, КОК III поколения — дезогестрел или гестоден.

Таким образом, в настоящее время в зависимости от дозы эстрогенного компонента ОК подразделяют на низкодозированные (содержащие $EE < 35\text{мкг}$) и высокодозированные (содержащие $EE > 35\text{мкг}$). По составу, согласно классификации, предложенной Международной медицинской консультативной группой экспертов IMAP КОК подразделяются на:

- а) комбинированные ОК (КОК)
- б) чистые прогестагены (мини-пили)

Поколение, к которому относят тот или иной КОК, определяется как дозой эстрогенного компонента, так и составом прогестагенного компонента; последний, в основном, отличает КОК II и III поколения:

- I поколение: $EE^* > 35\text{мкг}$
 - Прогестаген: Норэтинодрел
 - Этиндиол ацетат
- II поколение: $EE < 35\text{мкг}$
 - Прогестаген: Норэтистерон
 - Норгестрел
 - Левоноргестрел
- III поколение: $EE < 35\text{мкг}$
 - Прогестаген: Гестоден
 - Дезогестрел
 - Норгестимат

Примечание: * EE — этинилэстрадиол

В связи с появлением новых прогестагенов третьего поколения, обладающих высоким сродством к рецепторам прогестерона и, вследствие этого, высокой эффективностью, трехфазные КОК II поколения уступили место монофазной комбинированной контрацепции, как более надежному и удобному методу

предохранения от беременности. Еще один привлекательный фактор — антиандрогенный эффект этих препаратов. Кроме того, КОК III поколения практически не оказывают влияния на массу тела, в меньшей степени взаимодействуют с другими лекарственными препаратами, в отличие от КОК предшествующих поколений.

Низкодозированные КОК наиболее приемлемы для подростков и молодых женщин с установившимся менструальным циклом, так как при применении низкодозированных КОК эффект ингибирования гипоталамо-гипофизарной системы проявляется позднее и менее выражен, что положительно сказывается на репродуктивном здоровье.

В то же время, мини-пили являются препаратами выбора для кормящих матерей (с 6 недель после родов), женщин позднего репродуктивного возраста, а также при противопоказании к приему эстрогенов. Мини-пили, содержащие только прогестагенный компонент, практически не оказывают влияния на углеводный и липидный обмен, функции печени и систему гемостаза и не повышают риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы. Применение мини-пили возможно при наличии пороков сердца, поверхностных тромбозов, а также при гипертонической болезни. Однако и мини-пили не лишены побочных эффектов, присущих гестагенному компоненту (депрессия, увеличение массы тела, скудные менструации и пр.).

Хотя, как уже указывалось, КОК II и III поколения выгодно отличаются от КОК I поколения меньшим количеством стероидов и качественным изменением прогестагенов, тем не менее, они не предотвращают полностью тромбозомножественных осложнений. Объяснение этому явлению стало возможно благодаря выяснению непосредственных эффектов стероидов на гемостаз, открытию ряда генетически обусловленных нарушений гемостаза, предрасполагающих к тромбозу, а также признанию роли антифосфолипидных антител и АФС в патогенезе тромбофилических состояний.

Согласно опубликованным данным с 1960 г по 1993 г было довольно сложно определить относительный риск тромбозов при приеме КОК вследствие гетерогенности исследований. Тем не менее, относительный риск впервые возникшего тромбоза в процессе приема КОК составляет в среднем 2,9 с 95% интервалом вероятности.

Относительный риск, определенный в результате проведения исследований типа «случай-контроль» был значительно выше, чем риск, выявленный при когортных исследованиях. В то же время данные когортных исследований считаются более достоверными.

Выяснилось, что значительную роль играет и возраст женщины, принимающей КОК: у молодых женщин риск венозного тромбоза в 2 раза выше, чем артериального. В то же время у женщин старше 30 лет увеличивается риск возникновения артериальных тромбозов.

В конце 80-х проводился ряд когортных исследований и исследований типа «случай-контроль» в отношении определения риска возникновения инфаркта миокарда, связанного с приемом КОК. Определенный в результате относительный риск повышался в 2—4 раза при приеме КОК, хотя последние исследования констатируют значительное его снижение. Инфаркт миокарда редко возникает у молодых женщин — основных пользователей КОК, особенно в отсутствии факторов риска, например, курения.

После того как в эпидемиологических исследованиях последних лет выявили взаимосвязь между приемом КОК и повышенным риском возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, были предприняты попытки снижения этого риска путем изменения состава препаратов. Действительно, уменьшение концентрации эстрогенного компонента в КОК снижало риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний, в частности, снизился риск возникновения инфаркта миокарда. Однако различные варианты гестагенного компонента мало влияли на

дальнейшее снижение риска сердечно-сосудистых заболеваний. Так относительный риск фатального ВТ и ТЭЛА составил 2,1, нефатального тромбоза глубоких вен — 3,8, поверхностного ВТ, тромбоза глубоких вен и ТЭЛА — 2,7. Последние эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что использование так называемых прогестинов «третьего поколения» не только не снижает, но даже увеличивает имеющийся риск. В то же время предварительные данные ряда исследований показывают, что использование дезогестрела и гестодена не увеличивает риск возникновения инфаркта миокарда при приеме КОК (табл. 68).

Таблица 68.

Риск возникновения инфаркта миокарда, связанный с приемом различных видов прогестинов, определенный в исследованиях типа «случай-контроль» (данные GPRD).

Характеристика контрацептивной схемы	Относительный риск (95% доверительный интервал)	Случай	Контроль
Текущий прием левоноргестрел-содержащих КОК	1,0	5	18
Текущий прием дезогестрел-содержащих КОК	0,7(0,1—8,2)	1	5
Текущий прием гестоден-содержащих КОК	0,6(0,1—6,4)	1	6
Прием КОК в прошлом	0,9(0,2—4,5)	4	15

Изучение сердечно-сосудистых осложнений при приеме ОК осложняется отсутствием рандомизированных контролируемых исследований. Однако, согласно последним исследованиям, по данным Lidegaard и соавт., риск церебральных тромбозов в 1,8 раз выше при приеме ОК первого поколения, в 2,37 раз — при приеме ОК второго поколения и в 1,32 раза — при приеме ОК третьего поколения. Однако статистически достоверными оказались лишь результаты исследований ОК второго поколения. Тем не менее, в этом исследовании прослеживается интересная особенность: ОК третьего поколения в большей степени повышают риск венозного тромбоза, нежели артериального. В то же время выявлена зависимость между степенью риска артериального тромбоза от дозы эстрогенного компонента: чем выше концентрация ЭЕ, тем выше риск тромбоза (при концентрации 50 мкг — 2,65; при концентрации 40 мкг — 1,60 и 20 мкг — 1,59).

Что касается эффекта прогестинов, то более высокий риск артериальных тромбозов характерен для прогестинов ОК второго поколения — левоноргестрела и норгестимата (2,43 и 7,09) в противоположность прогестинам ОК третьего поколения — дезогестрела и гестодена (1,62 и 1,24, соответственно). В то же время, по данным исследований в 1997 году риск церебральных тромбозов оказался выше для ОК третьего поколения.

Риск инфаркта миокарда по данным Transnational group достоверно выше при приеме ОК второго поколения (2,35), чем при приеме ОК третьего поколения (0,82).

Таким образом, ОК увеличивают риск, как церебральных тромбозов, так и инфаркта миокарда. При этом по последним данным, ОК третьего поколения, возможно, незначительно безопаснее. Однако, как уже указывалось, важное значение имеет преморбидный фон и наличие таких дополнительных факторов риска артериальных тромбозов, как возраст, продолжительность приема ОК, гиперлипидемия, гипергомоцистеинемия и курение.

Интересно отметить, что риск артериального тромбоза при приеме КОК не подтверждается в экспериментальных моделях на животных. Данные исследова-

ний последних лет свидетельствуют, что показатели гемостаза в течение приема КОК изменяются (обычно в пределах нормы), при этом повышается активность систем и коагуляции, и фибринолиза.

Влияние КОК на показатели гемостаза изучалось в нескольких коротких по продолжительности исследованиях и крупных эпидемиологических исследованиях (WHO, NPHS, PROCA) с привлечением здоровых лиц и лиц из таких групп риска как курильщики, больные сахарным диабетом или пациентки с гиперандрогенией. Изменения, связанные с приемом КОК третьего поколения представлены на рис. 82, где они разделены на про/антикоагулянтные и про/антифибринолитические.

Неблагоприятными изменениями коагуляции являются и те, что приводят к снижению концентрации антикоагулянтных белков, и те, что повышают концентрацию прокоагулянтных белков. Благоприятным является лишь повышение активности системы фибринолиза. Исключением являются дезогестрел-содержащие КОК III поколения: дезогестрел способствует повышению уровня TAFI и, тем самым, ингибции фибринолиза. Этот вывод подтверждается результатами коагуляционных тестов и исследований фибринолиза, а также тестов на вязкость и агрегацию тромбоцитов цельной крови. В связи с вышеуказанным вполне объяснимо и повышение концентрации молекулярных маркеров, как коагуляции, так и фибринолиза.

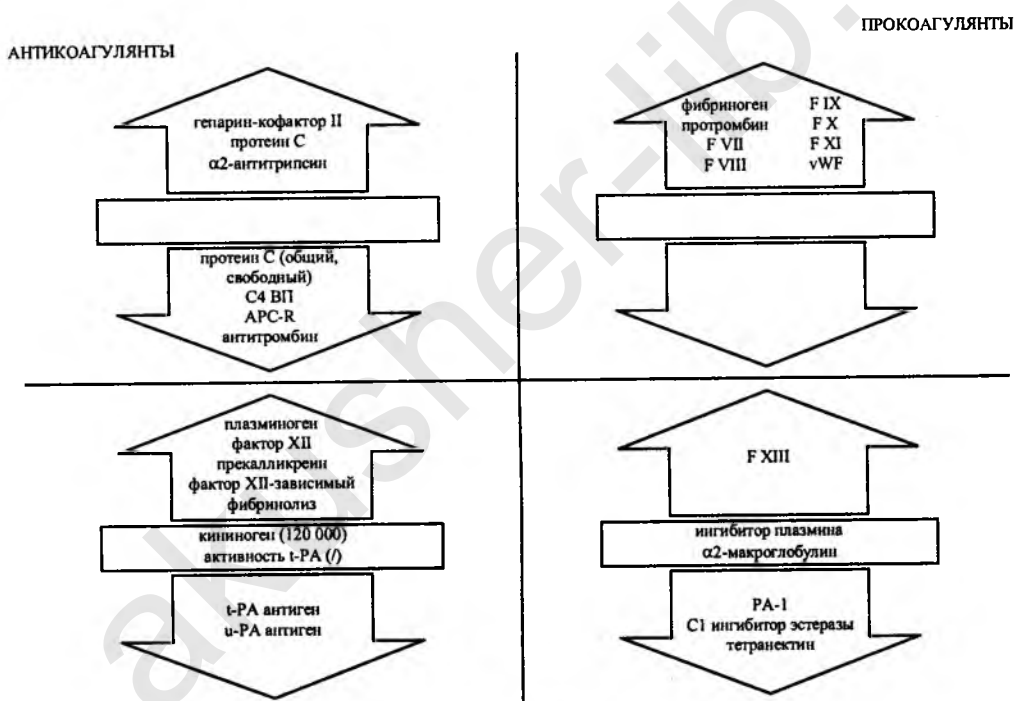


Рис. 82.

Выраженность изменений, вызванных КОК, уменьшается при снижении дозы эстрогенного компонента до 50 мкг и ниже. Однако при низких концентрациях эстрогенов эффекты прогестагенов выходят на передний план. Если принять во внимание КОК, содержащие этинилэстрадиол в концентрации 30—35 мкг и прогестаген дезогестрел, гестоден и норгестимат (которые относятся к третьему поколению) можно классифицировать изменения, основываясь на их выраженности. Несмотря на вышеуказанное упоминание об изменениях в «пределах нормы», градация может быть проведена с точки зрения биологических вариантов, интер- или интраиндивидуального коэффициента вариаций (КВ). На рис. 83 ин-

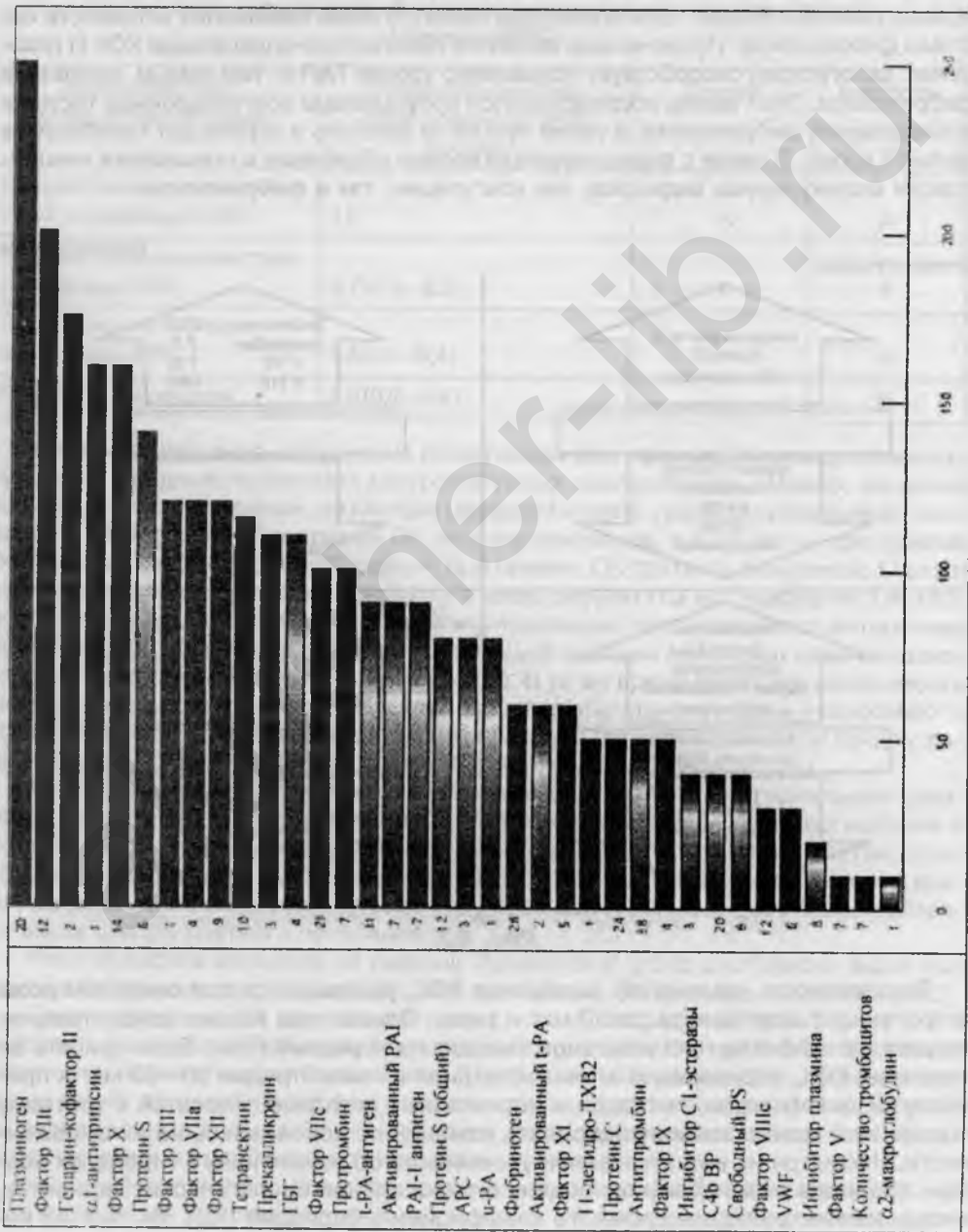


Рис. 83. Интериндивидуальные коэффициенты вариаций показателей системы гемостаза при приеме ОК, содержащих 30—

35 мкг этинилэстрадиола и прогестагены III поколения (включая моно- и многофазные препараты) в процентах.

По оси ординат — показатели системы гемостаза. Черная полоса — повышение; серая — уменьшение.

териндивидуальные КВ проведенных исследований взяты за основу, на базе которой рассчитаны средние показатели гемостаза опубликованных исследований.

В настоящее время уже не вызывает сомнений, что оральные контрацептивы (ОК) увеличивают риск тромбозов, как венозных, так и артериальных. Оральные контрацептивы обладают комплексным действием: и эстрогенный, и гестагенный компоненты влияют на механизмы свертывания. К наиболее характерным изменениям системы гемостаза относится повышение концентрации фибриногена и протеина С, снижение уровня протеина S и укорочение протромбинового и активированного частичного тромбoplastинового времени. Кроме того, отмечается снижение чувствительности к активированному протеину С (APC). Такая приобретенная резистентность к активированному протеину С (APC-R) практически эквивалентна таковой при гетерозиготной форме мутации фактора V Leiden. Однако, в отличие от генетически обусловленной, приобретенная APC-R не выявляется после отмены оральных контрацептивов. В то же время состояние APC-R у лиц с гетерозиготной мутацией гена фактора V Leiden при приеме ОК эквивалентно APC-R при гомозиготной мутации фактора V Leiden. Как свидетельствуют многочисленные данные, в том числе и полученные нами, даже в отсутствие клинических проявлений, в условиях генетических или приобретенных форм тромбофилии, имеют место изменения в системе гемостаза, характеризующиеся повышенной готовностью к тромбозу. КОК же обладает синергичным эффектом с генетической и приобретенной тромбофилией в отношении риска развития венозных тромбозов.

Для понимания влияния КОК на гемостаз необходимо учитывать различное действие эстрогенов и гестагенов контрацептивов на коагуляционно-фибринолитические механизмы, а также различное действие на артериальные и венозные сосуды (артериальный и венозный тромбоз).

Эстрогены повышают продуцирование глобулинов печенью, включая факторы VII, X и фибриноген. Также отмечается повышение уровней протромбина, плазминогена, факторов IX и XII, снижение АТ-III, уменьшаются также время свертывания крови и венозный кровоток.

Под влиянием КОК увеличивается содержание фибриногена и витамин К-зависимых факторов свертывания крови — протромбина, факторов VII, IX, X, XII. Этот эффект зависит от дозы эстрогена в КОК: низкодозированные препараты (30мкг ЭЭ и 150мкг левоноргестрела) повышают уровень VII и X факторов в меньшей степени, чем высокие дозы эстрогенов. Изолированное увеличение уровня факторов означает, что имеет место потенциальная гиперкоагуляция без признаков активации внутрисосудистого свертывания крови и тромбоза.

Согласно данным Cretsas и соавт., КОК снижают также уровень АТ III. Вероятно, снижение активности АТ-III под воздействием синтетических эстрогенов является больше результатом гемодилюции (из-за задержки солей и воды в организме), чем результатом снижения синтеза или увеличения потребления АТ-III. В настоящее время активность и концентрацию АТ-III в организме нельзя рассматривать по отдельности. Эти параметры обычно находятся в обратной зависимости в условиях патологической активности гемостаза. В последние годы было дано объяснение причины резкого снижения активности АТ-III на фоне нормальной или повышенной концентрации АТ-III у больных с ДВС-синдромом в акушерской, гинекологической и кардиологической практике.

Указанный феномен заключается в образовании неактивного комплекса тромбин-антитромбин (ТАТ) (более 3 мг/л), который является ранним маркером тромбофилии и появляется гораздо раньше, чем развивается внутрисосудистое фибринообразование.

Несмотря на то, что выявлено множество точек приложения КОК в системе гемостаза, до сих пор не ясно, какой эффект является ведущим в увеличении риска тромбоза. Скорее всего, большее значение имеет исходное состояние системы гемостаза, наличие скрытых его дефектов (как, например, при гене-

тических формах тромбофилии или при АФС), которые усугубляются эффектами КОК на свертывание крови.

Существует и другое мнение о природе гиперкоагуляционного состояния, возникающего на фоне приема КОК. Veamont и соавт. указывают важную патогенетическую роль антиэстрогенных антител. По их данным у 33% здоровых женщин, принимающих КОК, развиваются антитела к эстрогенам; и у 72% женщин с тромботическими проявлениями на фоне приема КОК обнаруживаются антиэстрогенные антитела. Однако при более детальном анализе возможных причин тромботических осложнений были обнаружены такие предрасполагающие факторы как повышенный уровень гомоцистеина в крови, курение (в течение всей жизни и в старшем возрасте). Albengres и соавт. также обнаружили у 32% пациенток, принимавших КОК, антиэстрогенные антитела (в контрольной группе у 13%), однако не обнаружили связи между наличием этих антител и тромбозом.

Риск венозного тромбоза при приеме КОК «второго поколения» относительно ниже, чем при приеме КОК «первого поколения», что в первую очередь связано с более низким содержанием эстрогенного компонента. Одновременное наличие других факторов риска венозного тромбоза, таких как ожирение, варикозное расширение вен нижних конечностей, а также семейный анамнез тромбозов (включая фактор V Leiden и другие наследственные дефекты) повышает риск венозной тромбоземболии в несколько раз при приеме КОК.

Более высокий риск артериального тромбоземболизма при приеме ОК связан с такими сопутствующими факторами риска, как курение, диабет, артериальная гипертензия, мигрень и семейный анамнез артериальных тромбозов.

ОК «третьего поколения» создавались с целью снижения риска артериальных тромбозов. Тем не менее, согласно последним данным, качественное изменение прогестинов, несмотря на снижение содержания эстрогенного компонента, стало причиной увеличения риска венозного тромбоземболизма. Так, согласно данным Bloemenkamp, ОК «третьего поколения», содержащие дезогестрел, повышают риск тромбоза в 3,7 раза, а у женщин с мутацией фактора V Leiden — в 50 раз! По данным Rosing и соавт., ОК «третьего поколения» способствуют развитию приобретенной APC-R. Возможно, это наиболее характерная особенность ОК «третьего поколения», связанная с качественным изменением прогестагенного компонента. Согласно последним данным только дезогестрел-содержащие КОК, в отличие от других, не содержащих дезогестрел, ингибируют фибринолиз через повышение уровня TAFI (тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза). Т.о., помимо того, что повышается уровень факторов свертывания крови и имеет место тромбинемия, к этому еще добавляется подавление второй линии противотромботической защиты — системы фибринолиза. Если же у женщины изначально имеется генетический дефект фибринолиза (например, полиморфизм гена PAI-1 или TAFI-1), то риск тромбоза значительно возрастает. Особо осложняет ситуацию факт, что такие пациентки малочувствительны к антикоагулянтной терапии. Косвенным подтверждением изложенному выше является тот факт, что в основном тромботические осложнения при приеме ОК «третьего поколения» встречаются у женщин с предшествующей тромбофилией, и в особенности с мутацией фактора V Leiden, когда изначально имеет место состояние APC-R.

Хотя вопрос о безопасности ОК «второго» и «третьего» поколений все еще остается дискуссионным, большее число исследователей склоняется к мысли о большей «тромбоопасности» дезогестрел-содержащих ОК «третьего поколения». Так, согласно данным Lanque и соавт., тромбоземболия легочной артерии возникла у двух пациенток вскоре после «перехода» с ОК «второго» поколения на ОК «третьего» поколения.

Несмотря на то, что уже с момента появления гормональных контрацептивов и по сей день изучается степень их эффективности и безопасности, следует отметить, что физиологическая беременность представляет большую «тромбоопасность», нежели ОК «второго» и «третьего» поколений. Так, согласно статистике,

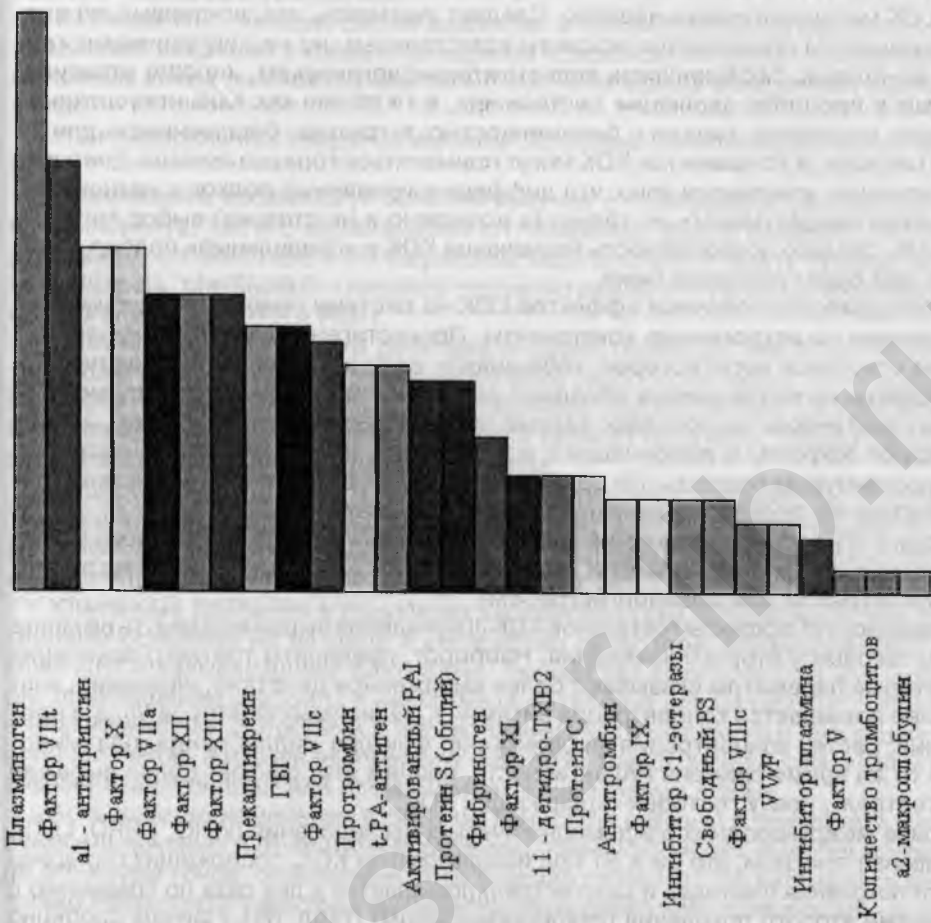


Рис. 84. Сравнение эффектов КОК II (слева) и III (справа) поколений на систему гемостаза.

риск венозных тромбозов во время беременности составляет 6 на 10000. Риск венозного тромбоземболизма в общей популяции — 1 на 10000, а при приеме ОК — 2,3—3 на 10000. Однако сравнивать риск тромбоза при беременности и при приеме ОК методологически неверно. Следует учитывать, что, во-первых, во время беременности проявляются эффекты естественных, но не синтетических гормонов; во-вторых, беременность является физиологическим, хорошо отрегулированным в процессе эволюции состоянием, в то время как КОК искусственно имитируют состояние, схожее с беременностью; в-третьих, беременность длится всего 9 месяцев, в то время как КОК могут применяться гораздо дольше. Учитывая вышеуказанное, становится ясно, что дифференцированный подход к назначению КОК должен подразумевать не только (а возможно и не столько) выбор того или иного КОК, сколько правомерность назначения КОК и «правильный» подбор пациенток, о чем будет изложено ниже.

За большинство побочных эффектов КОК на систему гемостаза, в основном, ответственны их эстрогенные компоненты. Прогестагены первого поколения, к которым относится норэтистерон, «повышают» дозу эстрогенов, так как некоторые продукты их метаболизма обладают эстрогенной активностью. Другие прогестины практически не обладают какими либо эффектами сами по себе, а лишь модулируют эффекты в комбинации с эстрогенами, проявляя анти-эстрогенную или андрогенную активность. По сравнению с левоноргестрелом, гестагены третьего поколения проявляют меньшую андрогенную активность.

Рисунок 84 отражает различия между эффектами гестагенов второго и третьего поколения (монофазными и многофазными: 30—35 мкг этинилэстрадиола с норгестрелом или левоноргестрелом).

Очевидно, что эффекты гестагенов КОК III поколения выражены ничуть не меньше, чем таковые у второго поколения. Наоборот, препараты третьего поколения на некоторые параметры оказывают более выраженное действие, например, значительно повышается концентрация витаминов К-зависимых факторов VII, X и протромбина, растет концентрация фибриногена, фактора Виллебранда, плазминогена. В то же время снижена PAI активность, причем этот эффект более выражен у дезогестрел-, чем у гестоден-содержащих КОК.

Четыре международных эпидемиологических исследования (WHO, GPRD, LETS, Transnational) показали, что риск ВТ при использовании КОК, содержащих гестагены третьего поколения (гестоден и дезогестрел) повышается в два раза по сравнению с гестагенами второго поколения (левоноргестрелом) (табл. 69). Причем особенно высок риск ВТ в начале приема и при использовании препаратов третьего поколения.

Таблица 69.

Относительный риск ВТ при приеме препаратов, содержащих прогестины третьего и второго поколения.

Название исследования	Относительный риск		
	На начало приема	Длительный прием	Общий
Transnational:			
GPRD	2,7	1,4	1,5
DSG	9,2	1,8	1,9
GSD	5,6	1,8	1,8
WHO	5,4	2,4	2,2—3

Различные виды эстрогенов, входящих в состав КОК по-разному влияют на гемостаз. Например, при приеме этинилэстрадиола и эстриол сукцината женщинами в постменопаузе, первый из них повышает концентрацию F VIII, а второй

снижает. Эффекты этинилэстрадиола значительно более выражены в отношении факторов VII, IX, X, антитромбина и плазминогена. Эффекты эстрогенов зависят еще и от способа их введения.

Как известно, концентрация вещества в плазме является результатом двух процессов: секреции в кровь и выведения (клиренса) из крови. Эстрогены и прогестагены влияют на показатели гемостаза, изменяя их выведение (клиренс) печенью.

При пероральном введении влияние эстрогенов значительно менее выражено.

Изменения в крови могут быть связаны как с изменением синтеза изучаемого компонента, так и с изменениями его клиренса. Важно отметить, что некоторые факторы гемостаза и молекулярные маркеры могут иметь схожие механизмы клиренса. Механизмы клиренса особенно важны в отношении влияния КОК на содержание u-PA, t-PA и PAI-1.

Важнейшим механизмом действия половых гормонов, таких как 17-бета-эстрадиол и прогестерон, является нарушение экспрессии генов. Этот эффект может быть и непрямой, то есть опосредуемым повреждением внутриклеточного баланса кальция, хотя чаще встречается прямой механизм повреждения в результате связывания гормона рецептором.

Рецепторы эстрогенов и прогестерона относятся к семейству стероидных/тиреоидных рецепторов и являются лиганд-активируемыми ядерными факторами, способными изменять транскрипцию, связываясь со специфической последовательностью ДНК.

Клеточные различия в регуляции экспрессии гена эстрогенами или прогестероном основаны на разнице в экспрессии рецептора, взаимодействии с другими ДНК-связывающими факторами, такими как коактиваторы или супрессоры, превращении стероида в неактивный метаболит или метаболит с утраченной специфичностью. Эстрогены и прогестагены участвуют также в регуляции транскрипции генов, изменяя экспрессию факторов транскрипции, связываясь с факторами транскрипции или превращая их в неактивную форму.

Большинство изменений в системе гемостаза связаны с факторами, синтезируемыми печенью. Относительно ограниченная информация имеется относительно структуры генов, ответственных за влияние гормонов. До настоящего момента только промотор XII фактора выявлен как функционально отвечающий на воздействия эстрогенов. В экспериментах было показано, что транскрипция гена XII фактора усиливается в 6 раз при введении крысам после овариэктомии 17-β-эстрадиола.

Недостаточно данных относительно экспрессии факторов гемостаза в других типах клеток или тканей.

При воздействии эстрогенами на матки неполовозрелых крыс было продемонстрировано усиление экспрессии тканевого фактора в клетках стромы и эпителия, что доказывает регуляцию этого фактора половыми гормонами. Прогестерон увеличивает количество мРНК тканевого фактора в клетках стромы после инкубации в течение трех дней, этот эффект еще более усиливается в присутствии эстрогенов. Однако было замечено, что эстрогены не влияют на экспрессию тканевого фактора моноцитами периферической крови или культурой ткани эндотелиальных клеток.

В исследованиях синтез фактора Виллебранда усиливался в два раза в клетках эндотелия человека под воздействием 17-β-эстрадиола после инкубации в течение 3—5 дней.

Несколько исследований показали, что экспрессия u-PA не зависит от воздействия эстрадиола на стромальные клетки эндометрия человека. С другой стороны прогестерон снижает концентрацию u-PA в этих клетках. Этот эффект не

является результатом снижения синтеза мРНК, а скорее связан с повышенным выделением PAI-1 и повышением удельного веса u-PA рецепторов.

В экспериментах была показана также возможность t-PA гена отвечать на воздействия половых гормонов. Стимулирующее действие эстрогенов в отношении t-PA было продемонстрировано на линии раковых клеток молочной железы человека MCF-7. Реакция t-PA при этом связана с участием 7.1kb фрагмента промотора t-PA. Воздействия прогестерона на t-PA опосредуются 9.5kb фрагментом промотора. В клетках эндометрия человека прогестерон способен также повышать концентрацию t-PA мРНК.

Основным, если не единственным источником t-PA в плазме крови являются клетки эндотелия, выстилающие сосудистую стенку. *In vitro* исследования показали, что 17-β-эстрадиол, этинилэстрадиол и прогестерон не влияют на синтез t-PA этими клетками. Наличие рецепторов эстрогенов доказано в культурах эндотелиальных клеток аорты, пупочной вены, коронарных артерий, их присутствие *in vitro*, возможно, зависит от состояния культуры, наличия эстрогенов, а также техники исследования. Не так давно был выявлен новый эстрогеновый рецептор ERR. До конца не ясно, экспрессируется ли он в эндотелиальных клетках, данные об этом могут пролить свет на возможные механизмы действия эстрогенов. Рецепторов к прогестерону в эндотелиальных клетках еще не обнаружено, что, вероятно, объясняет «нечувствительность» эндотелия к прогестерону.

Существует несколько источников PAI-1 в плазме крови. К таким клеткам-производителям относятся эндотелиальные клетки, гепатоциты, гладкомышечные клетки и адипоциты. Несмотря на то, что 17-β-эстрадиол и этинилэстрадиол не повышают синтеза PAI-1, в клетках-производителях были найдены рецепторы к эстрогенам. Однако эти данные нуждаются в дальнейшем подтверждении и осмыслении.

Отсутствие эффектов прогестерона на некоторые клетки может быть вызвано отсутствием в них прогестероновых рецепторов. Интересно, что в клетках стромы эндометрия человека, синтез PAI-1 мРНК стимулируется прогестероном и блокируется антагонистами прогестероновых рецепторов. Эстрадиол, не влияя на синтез PAI-1 как такового, усиливает эффект прогестерона.

В заключение следует отметить, что нет убедительных данных о том, что половые гормоны непосредственно влияют на экспрессию факторов свертывания в процессе приема препаратов, за исключением фактора XII. Возможно, влияние на факторы осуществляется не на этапах трансляции, а при посттрансляционных перестройках.

Молекулярные маркеры, такие как активированные пептиды, фермент-ингибиторные комплексы коагуляции и фибринолиза информативны в отношении ферментных процессов, происходящих в системе *in vivo*, и служат маркерами тромбинемии и тромбофилии.

Нет достоверных данных, указывающих на изменение базисной активации тромбоцитов в ответ на применение КОК. Показатели состояния тромбоцитов и сосудистой стенки, такие как тромбоцитарный фактор-4 и тромбомодулин не изменяются. Не изменяются также и агрегационные параметры тромбоцитов в плазме. Однако при проведении подобных тестов с цельной кровью отмечается незначительное повышение, особенно возрастает концентрация в плазме крови метаболитов тромбосана A2, 11-дегидро-тромбосана B2 в плазме (20—40%). Согласно нашим данным (Пузырькова И., Джангидзе М.А. и соавт., 1999—2001), измененные тромбоцитарные реакции являются первым признаком активации системы свертывания и проявляются в сроки от 6 до 9 мес. Для большинства современных низкодозированных препаратов изменение функциональной активности отмечается к 9 месяцу приема КОК. Этот срок является пограничным для решения вопроса о возможности пролонгирования контрацепции и обычно требует дополнительных диагностических тестов.

С увеличением сроков контрацепции указанные изменения прогрессируют.

По мнению многих авторов, умеренная активация тромбоцитов, которая не приводит к их потреблению и развитию тромбоцитопатии, не требует какого-либо профилактического лечения. Тем не менее, при увеличении сроков контра-

цепции до 18—24 мес. прогрессирование нарушений свертывания крови может инициироваться через тромбоцитарное звено системы гемостаза. Указанные факты в наших исследованиях явились основанием для назначения профилактического приема аспирина в постоянном или прерывистом режиме (каждые 48 ч) в дозе 50—100 мг. В процессе гормональной контрацепции препаратами «Тризистон» и «Ригевидон», аспирин и другие антиагреганты достаточно широко используются.

Патогенетической основой прерывистого применения аспирина является тот факт, что во время 48 часового перерыва между приемами аспирина, по-видимому, преобладает простаглицлиновый эффект сосудистой стенки. Тромбоксановый эффект тромбоцитов редуцирован до уровня, при котором невозможно спонтанное склеивание или адгезия тромбоцитов к структурам сосудистой стенки за счет необратимого ингибирования циклооксигеназы той части тромбоцитов, которые находились в кровотоке после приема аспирина. Новое поколение тромбоцитов, появившееся в кровотоке после прекращения действия аспирина обеспечивает полноценный эффект сосудистой стенки. При этом количественное содержание «неаспиринизированных тромбоцитов» настолько мало (1/10—1/20 часть от количества циркулирующих тромбоцитов), что они сами не могут образовать тромб даже в системе микроциркуляции.

Немаловажную роль играет нарушение баланса между тромбоксаном и простаглицлином. Эти простаглицлины обладают противоположным действием на сосуды и свойства тромбоцитов. Простаглицлин, как известно, вызывает расширение сосудов и является мощным ингибитором агрегации тромбоцитов, тогда как тромбоксан А₂ обладает вазоконстрикторными и проагрегационными свойствами. Снижение уровня простаглицлина и повышение тромбоксана А₂ у женщин, применяющих КОК, предрасполагает к венозному стазу. Взаимодействие этих двух метаболитов простаглицлинового синтеза нормализуется под действием других препаратов, например, аспирина. Применение малых доз аспирина изменяет баланс в сторону повышения активности простаглицлина. Кроме того, имеются данные, что длительное применение КОК вызывает снижение выработки простаглицлина, обладающего способностью снижать агрегацию тромбоцитов, однако, при этом не увеличивается риск развития тромбозов.

Повышение активации коагуляции определяется при измерении фибринопептида А — «осколка» реакции превращения фибриногена в фибрин. Данный показатель повышается до 96% в ходе приема препаратов третьего поколения, содержащих 30—35 мкг этинилэстрадиола, и меньше — при приеме ОК, содержащих 20мкг эстрадиола.

В последних исследованиях, в том числе и наших, использовались такие показатели как протромбиновый фрагмент 1+2 (F1+2) и тромбин-антитромбиновый комплекс (ТАТ), которые так же повышаются при приеме КОК и отражают активацию коагуляции.

Среди изменений в системе фибринолиза следует выделить повышение концентрации комплексов плазин-ингибитор плазмина. Повышается концентрация и продуктов деградации фибрина, таких как D-димер.

Было отмечено, что индивидуальное соотношение между ТАТ и продуктами деградации фибрина не меняются при приеме КОК. По-видимому, возникают определенные механизмы балансировки, которые, однако, достаточно зыбки и подвержены изменениям.

Основным вопросом остается объяснение повышенного риска венозного тромбоза, вызванного КОК и возможной роли различных видов гестагенов. Большинство исследователей склоняются к мысли, что при этом повышен лишь относительный риск, а абсолютный риск остается незначительным и затрагивает лишь небольшую группу женщин.

Большим шагом вперед в понимании механизмов свертывания крови у принимающих КОК женщин явилось выявление связи между недавно открытыми наследственными дефектами коагуляции и приемом КОК. Наличие мутации фактора V Leiden (FVL) повышает риск возникновения тромбоза глубоких вен в восемь

раз, использование оральных контрацептивов повышает риск в 4 раза соответственно, при их комбинации риск должен повышаться в 30 раз; в действительности же отмечено увеличение риска в 35—50 раз (табл. 70).

Таблица 70.

Абсолютный риск возникновения тромбоза глубоких вен.

FVL	KOK	Количество случаев на 100.000 женщин
-	-	8
-	+	30
+	-	57
+	+	285

Основой возникновения нарушений при сочетании FVL и KOK может быть нарушение противосвертывающей системы, с участием протеинов C и S. Так как FVL и KOK являются факторами риска, их совместное действие может проявляться у многих женщин.

По данным Waselenco и соавт., (1998), риск венозного тромбоза у пациенток с мутацией фактора V Leiden составляет 28—50 на 10000 пациентов-лет. Наибольший риск присутствует в первый год приема ОК. Rintelen и соавт. в 1996 году обследовали 29 женщин с гомозиготной формой мутации фактора V Leiden: 25 из них имели тромбоэмболические проявления. Двенадцать женщин в этом исследовании принимали ОК в течение 6—150 месяцев до тромбоэмболического проявления. Согласно большому числу последних исследований, ОК являются одним из важнейших предрасполагающих факторов венозного тромбоэмболизма у женщин с мутацией фактора V Leiden. Rosental et al. в 1995 году обнаружили, что у трех женщин из шести, принимающих ОК, тромбоэмболические осложнения возникли уже в течение первого месяца приема. Было обнаружено, что у женщин с гетерозиготной формой мутации фактора V Leiden прием ОК также повышает риск тромбоза (Vandenbroucke и соавт., 1994).

По данным Bloemenkamp и соавт., в большей степени риск тромбозов у женщин с мутацией фактора V Leiden повышается (в 50 раз) при приеме ОК третьего поколения. Это становится понятно, если учесть, что для ОК третьего поколения, как указывалось выше, характерно состояние приобретенной APC-R (в особенности для дезогестрел-содержащих). Генетически обусловленная APC-R многократно усугубляется приобретенной APC-R на фоне приема ОК третьего поколения. Таким образом, имеет место «двойной удар» по системе протеина C вплоть до полного его выключения из противосвертывающей системы.

Важной генетической причиной тромбофилии является мутация протромбина G20210A. Эта мутация обнаруживается у 2% здоровых лиц и у 18% лиц с семейным анамнезом венозного тромбоэмболизма. Риск венозного тромбоэмболизма у гетерозиготных носителей гена G20210A повышен в три раза. Характерной особенностью тромбоэмболических осложнений у пациенток с мутацией протромбина G20210A является преобладание церебральных венозных тромбозов. Особо следует отметить и тот факт, что и для мутации протромбина, и для ОК характерно повышение уровня протромбина в плазме, что наиболее вероятно, и является основной причиной реализации протромботического состояния при приеме ОК в виде тромбоэмболических осложнений.

В связи с гипергомоцистеинемией, как фактором риска венозных и артериальных тромбозов, следует особо отметить, что, с одной стороны, дефицит витаминов B6, B1, B12 и фолиевой кислоты, являясь одним из основных побочных эффектов KOK (эстрогензависимых), могут быть причиной приобретенной ги-

пергомощистеинемии. С другой стороны, если изначально имеет место генетически обусловленная гипергомощистеинемия вследствие мутации гена MTHFR C677T, то при приеме КОК, особенно II поколения, где содержание эстрогенного компонента относительно высокое (по сравнению с КОК III поколения), уровень гомощистеина в крови значительно повышается, что соответственно влечет и повышение риска артериальных тромбозов. Дефицит протеина S также может повышать риск тромбозов у пациенток, принимающих КОК, хотя, согласно данным ретроспективного исследования, у 34 пациенток с дефицитом протеина S (тип 1) не обнаружили высокого риска тромбозов при приеме КОК. Тем не менее, в другом исследовании у трех пациенток с тромбозэмболическими осложнениями на фоне приема КОК, было обнаружено низкое содержание свободного протеина S. Таким образом, в настоящее время низкий уровень свободного протеина S относят к факторам, увеличивающим риск тромбоза у пациенток, получающих КОК.

Дефицит AT III — основного естественного антикоагулянта — также является независимым фактором риска тромбозов при приеме КОК. По данным Girolani и соавт., у 15% пациенток с наследственным дефицитом AT III триггером венозного тромбозэмболизма явилось назначение КОК. Характерно, что тромбозэмболические осложнения при этом уже развиваются в течение первого-второго месяца приема КОК.

На сегодняшний день накоплен большой мировой опыт, свидетельствующий о значительном повышении риска тромбозэмболизма при приеме КОК у пациенток с дефицитом протеина S. Но данным Bauersachs и соавт., дефицит протеина S является причиной повышения риска тромбозэмболических осложнений у пациенток, получающих КОК почти в 15 раз. Таким образом, учитывая патогенез различных форм тромбофилии и влияние КОК на систему гемостаза, становится ясным однонаправленное их действие в отношении риска тромбозэмболических осложнений.

Возвращаясь к клиническим проявлениям тромбофилии у обследованных нами пациенток, следует отметить, что тромботические проявления у 3 женщин с генетически обусловленной тромбофилией манифестировали уже в первые месяцы приема КОК: у 2 женщин на 2—3 месяце, и у 1 уже в первом цикле приема КОК. Ниже приводится описание 2 клинических случаев тромбоза.

Клинический пример №1.

У пациентки Л., 18 лет, развился илеофemorальный тромбоз на втором месяце приема КОК III поколения (мерсилон). Половая жизнь с 17 лет, беременностей в анамнезе не было. До назначения КОК пациентке были проведены скринирующие исследования на предмет тромбофилии: уровни ТАТ, Д-димера, функция тромбоцитов были в пределах нормальных величин. Проба на волчаночный антикоагулянт была отрицательной в трех скринирующих исследованиях. Семейный анамнез не был отягощен, у пациентки также не было тромбозов в анамнезе. Поэтому тромботическое проявление на фоне приема КОК было неожиданным и послужило причиной для более подробного анализа семейного анамнеза и проведения исследований, направленных на выявление генетической формы тромбофилии.

Уровни AT III и протеина S были в пределах нормальных значений. Однако при проведении ДНК-диагностики было выявлено наличие гетерозиготной мутации гена метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T и гетерозиготной мутации гена фактора V Leiden. Таким образом, имел место мультифакториальный генез тромбофилии. Уровни маркеров тромбофилии были значительно повышены: комплексы ТАТ $5,5 \times 10^{-6}$ г/л; Д-димер >3 мкг/мл. При более тщательном анализе семейного анамнеза выяснилось, что у матери пациентки был отягощенный акушерский анамнез (привычное невынашивание, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты). У деда по отцовской линии — рак толстого кишечника. Родителям пациентки также был проведен ДНК-анализ. При этом у матери была выявлена гетерозиготная мутация фактора V Leiden, у отца — гомозиготная мутация MTHFR C677T.

Пациентка была переведена на антикоагулянтную терапию. Были рекомендованы альтернативные методы контрацепции.

Анализируя приведенный клинический случай, следует отметить, что молодой возраст пациентки, когда тромботический анамнез может еще отсутствовать вследствие отсутствия дополнительных триггеров (беременность, оперативное вмешательство и пр.); должен особо настораживать при назначении КОК. В таких случаях можно ограничиваться выяснением не только тромботического семейного анамнеза, но и выяснять акушерский и общесоматический анамнез у родителей, учитывая роль генетических дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу в патогенезе акушерских осложнений, онкологических и др. заболеваний.

Идеально при назначении КОК юным пациенткам проводить генетические исследования на предмет выявления генетических дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу, хотя следует признать, что эти исследования не всегда и не везде возможно осуществить не только из-за их дороговизны, но и, в первую очередь, из-за отсутствия возможности диагностики в широкой практике.

Клинический пример 2.

Пациентка К., 30 лет. В анамнезе — 1 искусственный аборт на ранних сроках беременности без осложнений. Соматический анамнез неотягощен. Ранее от беременности предохранялась барьерными методами. После искусственного аборта стала предохраняться от беременности КОК II поколения Три-Реголом. На третьем месяце приема КОК стала отмечать боли в икроножных мышцах, мигрень. При первичном скрининге у пациентки маркеры тромбофилии (ТАТ, Д-димер) были в пределах верхней границы нормы ($2,5 \times 10^{-6}$ г/л; 0,5 мкг/мл, соответственно); проба на ВА была отрицательной, функция тромбоцитов также была в пределах верхней границы нормы ($Tma = 48 \pm 2,5$ с различными агонистами). Проведенные вторично скринирующие исследования на третьем месяце приема КОК обнаружили тромбофилию: уровень ТАТ был повышен до $4,5 \times 10^{-6}$ г/л, Д-димера — до 3 мкг/мл. Функция тромбоцитов также была повышена: Tma составила 69%; 80; и 75% для АДФ 1×10^{-3} М, ристоминина и адреналина, соответственно. Проба на ВА оказалась положительной (в скринирующем тесте dRVVT и подтверждающем с использованием фосфолипидов тромбоцитарного происхождения (лизат тромбоцитов)). Учитывая выраженные лабораторные признаки тромбофилии и клинические проявления с целью исключения генетически обусловленной причины тромбофилии, был проведен ДНК-анализ на мутации генов фактора V Leiden, протромбина G20210A и MTHFR C677T. С помощью хромогенных субстратов определялась концентрация естественных антикоагулянтов АТ III и протеина С. В результате проведенных исследований была выявлена гомозиготная мутация MTHFR C677T. При доплерометрии был обнаружен тромбоз глубоких вен левой голени. Пациентке была начата терапия антикоагулянтами, фолиевой кислотой и витаминами группы В. Были рекомендованы альтернативные методы контрацепции.

Характерно, что в семейном анамнезе у пациентки не было тромботических осложнений, хотя у отца в возрасте 50 лет отмечались приступы стенокардии. При генетическом анализе у отца пациентки была выявлена гомозиготная мутация MTHFR C677T, у матери — гетерозиготная форма той же мутации.

Таким образом, гипергомоцистеинемия и АФА (ВА) были причиной мультифакториальной тромбофилии, которая на фоне ОК — дополнительного триггера реализовалась в форме тромбоза глубоких вен. Здесь же следует отметить, что наличие приступов стенокардии у отца в довольно молодом возрасте должно было насторожить в процессе скрининга в отношении гипергомоцистеинемии, которая, как известно, является причиной ранней заболеваемости коронаров и тромбозов.

Подводя итог, следует еще раз отметить, что современная гормональная контрацепция явилась большим достижением клинической медицины, поскольку способствовала утверждению современной концепции планирования семьи, повышению качества жизни женщин. Гормональная контрацепция в значительной

степени ограничивает число нежелательных беременностей, играя доминирующую роль в профилактике абортов, угрожающих здоровью и жизни женщины. Таким образом, гормональная контрацепция, в конечном итоге, является одним из интегральных факторов, снижающих материнскую смертность. Ятрогенные же эффекты в виде нарушений гемостаза и тромбоэмболических осложнений, обнаруженные еще 40 лет тому назад, в начале применения гормональной контрацептивов, способствовали все предыдущие годы значительному совершенствованию качества современных контрацептивов за счет снижения эстрогенного компонента и качественного изменения прогестагенного компонента.

Тем не менее, несмотря на это, последние 10—15 лет полностью избежать ятрогенных тромботических осложнений не удалось. Во многом пониманию этих явлений способствовало открытие в последние 7 лет целого ряда ранее не известных скрытых генетически обусловленных дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу (мутация FV Leiden, мутация протромбина G20210A, синдром липких тромбоцитов, дефект Wein-Perzing, гипергомоцистеинемия и пр.). Другим важнейшим фактором, объясняющим возникновение сосудистых и внутрисосудистых расстройств при применении современных контрацептивов явилось установление роли циркуляции антифосфолипидных антител (АФА) и антифосфолипидного синдрома (АФС) при целом ряде состояний организма, среди которых важнейшее значение для обсуждаемой проблемы имеет бактерио- и вирусносительство, наличие стертых форм системных заболеваний, прием ряда медикаментов. Циркуляция АФА является одним из важнейших факторов развития приобретенной формы тромбофилии. Сочетание скрытых форм генетической и приобретенной тромбофилии является крайне неблагоприятным фоном для применения даже современных низкодозированных КОК. Проблема осложняется еще и тем, что пользователями современных контрацептивов часто являются молодые женщины, что не исключает у них наличия генетической предрасположенности к тромбозам.

В связи с этим мы считаем оправданной при рекомендации гормональной контрацепции оценку семейного тромботического анамнеза. При этом следует обратить внимание не только на наличие тромбозов и тромбоэмболий у отца, матери, братьев, сестер, но и инфарктов, инсультов, привычного невынашивания, тяжелых гестозов, преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты и пр. При подозрительном анамнезе желательным проведение скринирующих и специальных исследований системы гемостаза.

Важно отметить, что наиболее ценным скринирующим методом исследования системы гемостаза в подобных случаях является определение маркеров тромбофилии — мономеров фибрина, комплексов ТАТ, Д-димера, а также агрегации тромбоцитов, определение АФА. Использование в качестве скрининга таких методов, как определение уровня фибриногена, АЧТВ, АВР, ПИ, не оправдано в связи с их неинформативностью.

Диагностически важным критерием является уровень гомотеина в крови, высокие концентрации которого диктуют необходимость выявления генетического дефекта и/или соответственно приобретенных факторов гипергомоцистеинемии.

К сожалению, весьма часто диагностика генетической формы тромбофилии осуществляется уже после тромботического эпизода. Возможно, в будущем генетические исследования тромбофилии будут в нашей стране общедоступны, что позволит при необходимости резко повысить уровень скрининга при назначении ОК.

Следует также отметить, что в свете полученных за последние годы данных о роли генетических форм тромбофилии в патогенезе осложненного течения беременности, современное их выявление приобретает огромное прогностическое значение.

Согласно исследованиям, проведенным в нашей клинике (Джангидзе М., 2001), наличие комбинированных форм тромбофилии (сочетание двух и больше генетических форм или генетических и приобретенных форм тромбофилии) наиболее часто является причиной тромботических проявлений уже в первые меся-

цы приема ОК. Так, из 474 женщин без семейного и личного тромботического анамнеза у 39 (8%) к 3 месяцу обнаружили признаки тромбофилии (Джангидзе М. и соавт., 2001), о чем свидетельствовало повышение уровня маркеров тромбофилии ТАТ, Д-димера, функции тромбоцитов. Из них у 17 (3% из общего числа обследованных или 44% из имевших тромботические осложнения) была выявлена генетическая причина тромбофилии.

Следует отметить, что проведение гемостазиологического скрининга и даже предварительный контроль маркеров тромбофилии далеко не всегда позволяет выявить наличие генетических форм тромбофилии. Как правило, подозрение на их наличие возникает при клинических проявлениях тромбофилии в первые 3—6 месяцев гормональной контрацепции.

Б). Заместительная гормональная терапия и тромбофилические состояния

Препараты для заместительной гормональной терапии применяются женщинами уже несколько десятилетий. Однако, если в 1970 году лишь небольшой процент женщин «отваживался» принимать гормональные препараты, то с 90-х годов прошлого столетия препараты ЗГТ стали широко использоваться женщинами во всем мире. Во многом это связано с появлением такого понятия, как «качество жизни». Основной целью ЗГТ вначале являлось купирование менопаузальных симптомов, однако позднее исследования показали, что препараты ЗГТ могут оказывать и другие положительные эффекты. Поскольку было обращено внимание на то, что после менопаузы у женщин возрастает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний и быстро прогрессирует остеопороз, появилось гипотеза о протективном эффекте ЗГТ в отношении сердечно-сосудистых заболеваний и развития остеопороза.

Известно, что, если в возрасте до 50 лет соотношение сердечно-сосудистых заболеваний составляет 1 : 2, то к 80 годам — 1 : 1. Заболевания коронарных сосудов, вызванные атеросклерозом относительно редки у женщин в пременопаузе. Поскольку же известно, что атеросклероз связан с нарушением липидного обмена, у женщин в пременопаузе липидный профиль более благоприятный, чем у мужчин — ровесников и женщин в постменопаузе. Помимо нарушений липидного обмена, изменения в системе гемостаза также являются важным фактором риска острого инфаркта миокарда и инсультов.

Известно, что высокий уровень фибриногена повышает риск развития ИМ в 2 раза — эффект, сравнимый с таковым холестерина. Повышение уровня фактора VIII : С (что имеет место часто при субклинических и клинически проявляющихся сосудистых заболеваниях) ассоциируется соответственно с повышением уровня vWF. В большинстве клинических исследований же демонстрируется связь между повышением уровня этих факторов и заболеваниями коронарных сосудов сердца. С повышенным риском фатального острого инфаркта миокарда ассоциируется и высокий уровень фактора VIII. Центральную роль в возникновении коронарных и мозговых тромбозов играют тромбоциты. В настоящее время исследования сконцентрированы на изучении генетических нарушений на уровне поверхностных рецепторов тромбоцитов.

Несмотря на интенсивное изучение в последние годы феномена «старения», единого объяснения происходящим при этом изменениям на клеточном уровне по-прежнему нет. В настоящее время проповедуется две теории: теория повреждения клетки «накопления ошибок» и теория «запрограммированности» (рис. 85).

Так называемая «теория катастрофической ошибки» подразумевает, что во время синтеза белков могут происходить «случайные» ошибки, что соответственно ведет к быстрому накоплению содержащих такие «ошибки» молекул и нарушению нормальной их функции, а, следовательно, и функций клеток. А поскольку с возрастом такие «ошибки» накапливаются, то соответственно и функциональные возможности клеток, органов, систем органов и организма в целом снижаются. В качестве основных источников «ошибок» на уровне синтеза белков рассматриваются свободные радикалы и

гликозилирование (рис. 86). Высоко реактивные свободные радикалы, взаимодействуя с ключевыми клеточными компонентами, ведут к повреждению функции клеток.

- Теория повреждения клетки — накопления ошибок
- Теория программированности

Рис. 85. Теории старения.



Рис. 86. Теория повреждения клетки.

Неэнзиматическое гликозилирование основных клеточных компонентов, включая ДНК и белки, ведет к перекрестному связыванию и аккумуляции перекрестно связанных белков в клетках и тканях, оказывая негативные эффекты на функционирование клеток, в частности, биосинтез и энергетические системы клетки.

Теория «запрограммированности» подразумевает, что процесс старения является результатом генетической программы, аналогичной генетическим программам, контролирующим эмбриогенез и рост. Существует мнение, что, по меньшей мере, несколько генов вовлечены в генетический контроль максимальной продолжительности жизни. Недавно в экспериментах *in vitro* было показано, что активация теломеразы в человеческих клетках может значительно замедлить физиологическое старение.

Широкий спектр физиологических изменений нормального процесса старения развивается независимо от заболеваний. В связи с этим при ведении гериатрических пациентов необходимо учитывать снижение функциональных резервов всех органов и систем.

С современной точки зрения теория «запрограммированности» процесса старения (рис. 87) и смерти кажется наиболее привлекательной, учитывая последние успехи в изучении процесса апоптоза — «запрограммированной» смерти клеток — в патогенезе множества заболеваний, и, в первую очередь, в процессе атероматоза и атеросклероза, а также онкологических заболеваний. Однако не следует сбрасывать со счетов и то, что наряду с «запрограммированным» старением, повреждением и смертью клеток, важнейшую дополнительную роль могут играть и свободные радикалы, и гликозилирование — как экзогенные повреждающие факторы.

Возможно, некоторая «неразбериха» в механизмах старения, апоптоза, атеросклероза, липидного обмена и эндотелиальных нарушений, а также неучет ряда изменений в системе гемостаза (как приобретенных, так и генетически обусловленных) стала причиной весьма разноречивых результатов широкого применения ЗГТ.

Поскольку было обнаружено, что эстроген-содержащие препараты у женщин в постменопаузе положительно влияют на липидный профиль, было предположено (с нашей точки зрения весьма легковесно), что ЗГТ может значительно снизить риск развития сердечно-сосудистых осложнений. Следует заметить, что эта идея зародилась в те времена, когда исключительной, если не единственной, причиной возникновения атеросклероза, ИБС, острого ИМ и инсульта считали высокий уровень холестерина и ЛНП в крови.

Наблюдательные исследования в начале 80-х годов подтвердили гипотезу о кардиопротективном эффекте ЗГТ. Было отмечено значительное снижение частоты сердечно-сосудистых заболеваний и смерти от этих заболеваний.

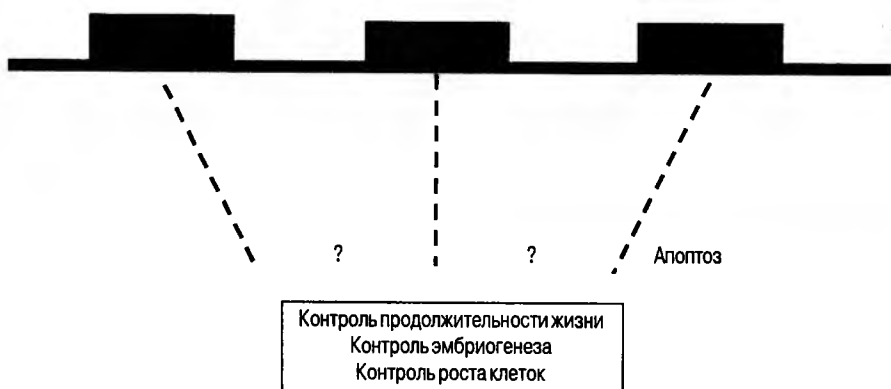


Рис. 87. Теория программированного старения.

На фоне первых весьма обнадеживающих результатов, весьма неожиданным для многих исследователей вопросом ЗГТ оказалось, что ЗГТ ассоциируется с повышенным риском тромбозов и тромбозоболоческих осложнений.

При первом изучении побочных эффектов ЗГТ в 1974 году было отмечено некоторое преобладание среди пациентов с венозными тромбозами и тромбоземболиями женщин, получавших ЗГТ (14% и 8% соответственно). Тем не менее, в последующих исследованиях не выявлялось увеличение частоты возникновения тромбозов на фоне ЗГТ (Young, 1991; Devor, 1992). H. Bounamex et al. (1996) также не обнаружил существенных изменений параметров гемостаза, особенно при трансдермальном пути введения.

В более поздних исследованиях был отмечен более высокий риск развития венозных тромбозов (в 2—4 раза выше, чем у женщин, не получающих ЗГТ). В дальнейшем исследования типа «случай-контроль» и проспективные наблюдательные исследования также подтвердили взаимосвязь между ЗГТ и венозными тромбозами. Характерно, что наибольший риск развития венозных тромбозов отмечается в первый год приема ЗГТ. Увеличение частоты тромбозов было обнаружено как при пероральном, так и при трансдермальном пути введения ЗГТ; как при использовании конъюгированных эстрогенов, так и эстрадиола.

Противоречивость результатов ранних и поздних исследований, по меньшей мере, обусловлена 3 факторами:

— во-первых, несовершенством объективных диагностических методов выявления венозных тромбозов в ранних исследованиях;

— во-вторых, низкой распространенностью использования ЗГТ в ранних исследованиях, в связи с чем были получены недостоверные результаты в определении разницы относительного риска; так, в ранних исследованиях частота применения ЗГТ среди здоровой популяции женщин составляла 5—6%;

— в-третьих, неучетом возможного наличия скрытых генетических форм тромбофилии и/или АФС.

Тот факт, что как при гормональной контрацепции, так и при ЗГТ частота тромбозов выше в течение первого года, свидетельствует в значительной степени о существовании дополнительных факторов риска, в частности скрытой генетической тромбофилии (мутация FV Leiden, мутация протромбина G20210A и др.) или АФС. Что касается последнего, то следует отметить: часто АФС игнорируется, поскольку отягощенный акушерский анамнез (синдром потери плода, тяжелый гестоз, ПОНП) не учитывается при назначении препаратов ЗГТ, не говоря уже о лабораторном выявлении антифосфолипидных антител. Результаты исследования HERS (The Heart and Estrogen/progestin Replacement Study), кроме того, свидетельствуют и о повышении риска артериальных тромбозов у пациентов с генетически обусловленной и приобретенной (АФС) тромбофилией на фоне ЗГТ.

Весьма интересны в свете вышеизложенного результаты одного рандомизированного исследования (EVTET, 2000) по применению ЗГТ у женщин с венозными тромбозами в анамнезе. Исследование было прекращено досрочно на основании полученных результатов: частота рецидивов составила 10,7% в группе пациенток с тромбозами в анамнезе на фоне ЗГТ и 2,3% — в плацебо-группе.

Все случаи тромбозов были отмечены в течение первого года ЗГТ. Большинство женщин с рецидивом венозного тромбоза на фоне приема ЗГТ имели генетически обусловленный (мутация фактора V Leiden) или приобретенный (антифосфолипидные антитела) дефект гемостаза. При повторном анализе Оксфордского исследования типа «случай-контроль» риск тромбозов был выше у женщин с резистентностью к APC. По данным Rosendaal et al., если риск ТГВ при наличии мутации FV Leiden или мутации протромбина G20210A повышается риск в 4,5 раза, а ЗГТ повышает риск развития венозных тромбозов в 3,6 раз, то при их сочетании отмечается увеличение риска в 11 раз. Таким образом, ЗГТ, также как и КОК обладает синергичным эффектом с генетической и приобретенной тромбофилией в отношении риска развития венозных тромбозов. Недавно появились сообщения о повышении риска развития инфаркта миокарда у пациенток с мутацией протромбина G 20210A и гипертензией на фоне ЗГТ в 11 раз.

Биологические эффекты ЗГТ на систему гемостаза схожи с таковыми КОК, однако следует учесть, что если пользовательницами КОК являются в основном молодые женщины, то ЗГТ — женщины в пери- и постменопаузе, что увеличивает риск развития тромбозов, поскольку кроме эффектов ЗГТ, возможных скрытых тромбофилических нарушений, накладываются еще и возрастные особенности функционирования системы гемостаза (табл. 71).

Таблица 71.

Изменения в системе гемостаза, обусловленные ЗГТ и возрастом.

Лабораторный тест	Возраст	ЗГТ
Фактор VII	+	+, N
Фактор X	+	N или +
Фактор VIII:C	+ / N	+ / N
Фибриноген	+	-
Антитромбин III	-	- / N
Протеин С	+	N / + ?
Протеин S	N	-
TAT	+	N / +
F1+2	+	N / +
Плазминоген	-	+ / N
t-PA	-	+
PAI-1	+	-
PAР	?	+
Растворимый фибрин	?	+
APC-R	+ / N	+

«N» — норма

«-» — снижение

«+» — повышение

Влияние ЗГТ на гемостаз интенсивно изучается, но на сегодняшний день известно, что имеет место активация коагуляции. Весьма противоречивы данные об эффектах ЗГТ на отдельные факторы свертывания, однако известно, что наряду с активацией коагуляции активируется и фибринолиз, о чем свидетельствует повышение уровня t-PA, снижение PAI-1.

Что касается влияния ЗГТ на фактор VII, то здесь необходимо отметить, что при пероральном приеме неконъюгированных эстрогенов его уровень повышается, в то время как в большинстве исследований при приеме комбинированных препаратов или трансдермальном пути введения уровень фактора VII не меняется или слабо снижается.

В отличие от эффектов КОК и беременности, ЗГТ снижает уровень фибриногена (как комбинированные, так и чисто эстрогенные препараты ЗГТ). Поскольку высокие уровни фактора VII и фибриногена ассоциируются с высоким риском кардиоваскулярных заболеваний, то их снижение может быть успешным в снижении этого риска. Тем не менее, успех снижения уровня фибриногена (уровень фактора VII снижается реже) может быть сведен к минимуму влиянием ЗГТ на естественные антикоагулянты — снижением уровней АТ III, протеина С и протеина S. Хотя в некоторых исследованиях отмечается повышение уровня протеина С и отсутствие влияния на протеин S ЗГТ, однозначно определяется во всех исследованиях появление резистентности к APC. А если учесть, что с возрастом APC-R, не связанная с мутацией фактора V Leiden, также может появляться (вследствие возможного увеличения фактора VIII:C), то риск развития тромбозов также возрастает. И, конечно, вероятность тромбоза значительно увеличивается, если в дополнение к двум, указанным выше причинам, добавляется еще и скрытая форма мутации фактора V Leiden или другие формы тромбофилии.

Маркеры тромбофилии, такие как ТАТ, F1+2, фибринопептид А и растворимый фибрин, повышаются на фоне ЗГТ. Несмотря на различные эффекты ЗГТ на отдельные факторы свертывания, все они свидетельствуют об активации свертывающей системы. Повышение же уровней Д-димера и комплексов плазмин-антиплазмин свидетельствует, что при ЗГТ повышена не только коагуляционная активность, но также повышен фибринолиз.

Однако в некоторых исследованиях не обнаруживается увеличение уровней F1+2, ТАТ или Д-димера. В тех же случаях, когда обнаруживается активация коагуляционного каскада и фибринолиза, корреляция между уровнем повышения маркеров тромбинемии и фибринолиза отсутствует. Это свидетельствует о том, что активация фибринолиза на фоне ЗГТ не является «ответом» на повышение коагуляционной активности.

Поскольку липопротеин (а) (Lpa) является независимым фактором риска атеросклероза и ИБС, его определение у женщин, получающих ЗГТ также представляет большой интерес. Lpa обладает структурным сходством с плазминогеном и, конкурируя с плазминогеном, повышенный его уровень ингибирует фибринолитическую активность. У женщин в постменопаузе уровень Lpa обычно повышен, что может влиять на протромботическую тенденцию. По данным некоторых исследований ЗГТ снижает уровень Lpa, что, возможно, отчасти объясняет снижение PAI-1 на фоне ЗГТ и активацию фибринолиза.

ЗГТ обладает широким спектром биологических эффектов. Помимо указанных выше, на фоне ЗГТ отмечается снижение растворимого Е-селектина наряду с другим растворимым маркером воспаления, ICAM (молекулы межклеточной адгезии). Тем не менее, результаты PEPI трайла (Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions) и других исследований свидетельствуют о повышении уровня С-реактивного белка, что усложняет интерпретацию заявленных ранее противовоспалительных эффектов ЗГТ.

Рассуждая об антиатерогенных эффектах ЗГТ, нельзя обойти стороной вопрос о влиянии на уровень гомоцистеина. В последние годы гипергомоцисте-

инемия рассматривается как независимый фактор риска и атеросклероза, и ИБС, и вено-окклюзионных заболеваний, поэтому влияние ЗГТ на уровень гомоцистеина представляет большой интерес. Согласно имеющимся на сегодняшний день данным, ЗГТ снижает уровень гомоцистеина в плазме. Так, в двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании 390 здоровых женщин в постменопаузе, проведенном Walsh et al., после 8 месяцев терапии конъюгированными эстрогенами (0,625 мг/день в сочетании с медроксипрогестероном ацетатом — 2,5мг/день) или применения селективного модулятора эстрогеновых рецепторов, ралоксифена, отмечалось снижение уровня гомоцистеина (в среднем на 8% по сравнению с плацебо-контролем). Безусловно, это является положительным эффектом ЗГТ.

Одним из наиболее рано выявленных эффектов ЗГТ является нормализация липидного обмена, при этом отмечается повышение уровня ЛВП, снижение ЛНП и повышение уровня триглицеридов.

Хотя ранее было отмечено кардиопротективное влияние ЗГТ вследствие благоприятного влияния на липидный профиль, функцию эндотелия (рис. 88) (благодаря некоторым противовоспалительным эффектам), последние данные (HERS и др.) демонстрируют, что в первый год ЗГТ повышен риск не только венозных тромбозов, но и наблюдается также незначительное повышение риска инфаркта миокарда. Учитывая вышеуказанное, вопрос об отдаленной эффективности ЗГТ для профилактики сердечно-сосудистых осложнений остается нерешенным и требует последующих исследований, в то же время риск тромботических осложнений повышен в 3,5—4 раза (таблицы 72,73).

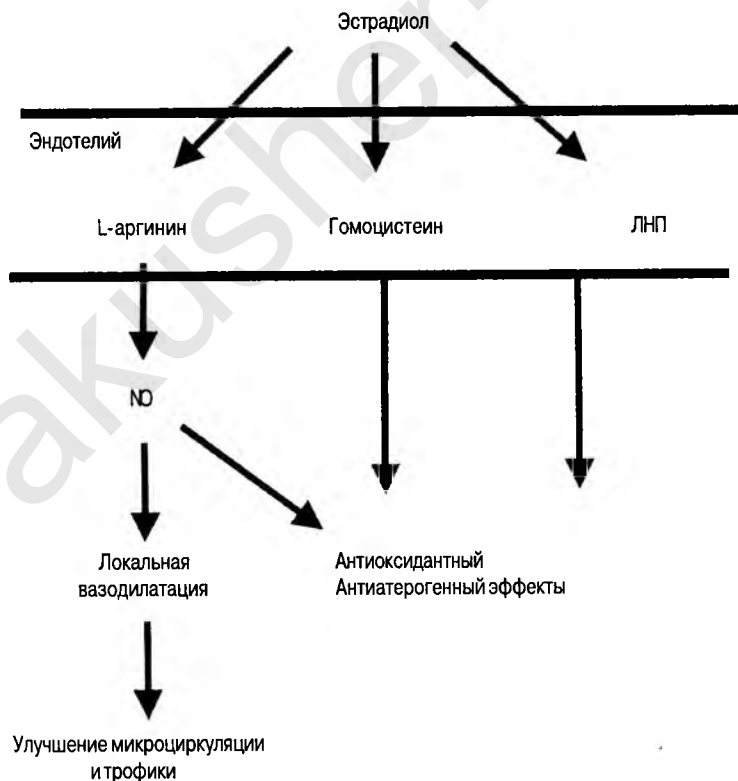


Рис. 88. Протективные эффекты эстрогенов.

Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) —

проспективное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование по вторичной профилактике повторных инфарктов миокарда у женщин в постменопаузе и ИБС с помощью ЗГТ

Таблица 73.

HERS.

- Количество женщин 2763
- Средний возраст 66,7 лет
- Тип ЗГТ: конъюгированные эстрогены 0,625 мг + 2,5 мг медроксипрогестерона ацетат
- Длительность исследования 4,1 год

Исследования HERS и Nurses' Health Study (NHS), кроме того, показали, что положительный эффект ЗГТ в профилактике заболеваний коронарных сосудов в значительной степени зависит от функционального состояния эндотелия коронарных сосудов. В связи с этим при назначении ЗГТ следует учитывать возраст пациентки и соответственно оценивать степень повреждения коронарных артерий. В условиях «сохранного», функционирующего эндотелия ЗГТ (как только эстрогенными препаратами, так и комбинированными) у здоровых женщин в постменопаузе значительно улучшают эндотелиальную функцию, вазодилаторный ответ, липидный профиль, кроме того, в значительной степени тормозит экспрессию медиаторов воспаления и возможно, снижает уровень гомоцистеина — важнейшего фактора атеросклероза и заболеваний коронарных сосудов (таблицы 74—80).

Таблица 74.

Результаты HERS.

- Риск нефатального инфаркта миокарда и других проявлений ИБС на 50% выше в течение первого года приема ЗГТ
- Риск снижается после 3-х лет приема ЗГТ
- Риск венозных тромбозов повышается в 2,7 раза

Таблица 75.

На основании результатов HERS и др исследований по вторичной профилактике American Heart Association не рекомендует ЗГТ женщинам в постменопаузе для вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний

Таблица 76.

Nurses' Health Study (NHS) —

наблюдательное исследование по первичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний женщин в постменопаузе с помощью ЗГТ и эффектами длительной ЗГТ
Длительность исследования 20 лет (1976—1996)

Таблица 77.

NHS: кардиопротективные эффекты у относительно молодых здоровых женщин в постменопаузе

- Количество женщин: 86 000
- Возраст 34—59 лет
- Тип ЗГТ: чистые эстрогены или комбинированные препараты
- Длительность исследования: 12 лет

Таблица 78.

Результаты NHS.

- Риск развития сердечно-сосудистых заболеваний на 40% меньше при приеме заместительной гормональной терапии чистыми эстрогенами и на 61% меньше при комбинированной ЗГТ по сравнению с женщинами, не получающими ЗГТ

Women's Health Initiative (WHI) —

Рандомизированное плацебо-контролируемое исследование по первичной профилактике заболеваний коронарных сосудов и оценка риска/положительных эффектов ЗГТ у здоровых женщин в постменопаузе

Таблица 80.

- Количество женщин: 16608 в возрасте 50—79 лет с «интактной» маткой
- Планируемая длительность: 8,5 лет
- Тип ЗГТ: комбинированные препараты:
 - 0,625 мг конъюгированные эстрогены
 - + 2,5 мг медроксипрогестерона
- Исследование досрочно прервано в связи с полученными данными и по заключению комитета по безопасности исследований через 5,2 лет

Пожилой возраст и атеросклеротическое повреждение сосудов сопровождается снижением функциональной активности эндотелия (антитромботической) и, в частности, снижением количества эстрогеновых рецепторов, что соответственно значительно снижает потенциальный кардиопротективный и васкулопротективный эффекты ЗГТ. Таким образом, кардиопротективный и эндотелиопротективный эффекты ЗГТ в настоящее время все больше рассматриваются в связи с так называемой концепцией «здорового» эндотелия. В связи с этим положительные эффекты ЗГТ отмечаются у относительно молодых женщин в постменопаузе без заболеваний коронарных сосудов или других коронарных факторов риска, или инфаркта миокарда и/или тромбозов в анамнезе. Более высокий риск артериального тромбоэмболизма связан с такими сопутствующими факторами риска, как возраст, курение, диабет, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, гипергомоцистеинемия, мигрень и семейный анамнез артериальных тромбозов.

Возвращаясь к крупным исследованиям, следует в этой связи отметить, что исследования HERS по вторичной профилактике артериальных заболеваний у 2500 женщин с заболеваниями коронарных сосудов с помощью ЗГТ в течение более чем 5 лет показали увеличение числа венозных тромбозов без положительного эффекта на артериальные заболевания.

В большом плацебо-контролируемом исследовании же Women's Health Initiative (WHI) по первичной профилактике, в котором участвовало 30 000 женщин, в первые два года отмечалось увеличение как частоты инфарктов миокарда, так и венозных тромбозов (табл. 81).

Таблица 81.

Результаты WHI.

- Заболевания коронарных сосудов увеличились на 29%
- Инсульты увеличились на 41%
- Венозный тромбоэмболизм увеличился в 2 раза
- Инвазивный рак молочной железы увеличился на 26%
- Колоректальный рак снизился на 37%
- Остеопоретические поражения снизились на 23%

Результаты WHI свидетельствуют, что постменопаузальные гормоны, содержащие 0,625 мг конъюгированного эстрадиола и 2,5 мг медроксипрогестерона ацетат не должны использоваться для первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний

Что касается влияния ЗГТ на частоту инсультов, то данные большинства исследований свидетельствуют, по меньшей мере, об отсутствии положительного эффекта в отношении предотвращения инсультов.

Длительные наблюдательные исследования (как NHS), свидетельствуют об умеренном повышении риска развития инсультов на фоне ЗГТ. При этом отмечается повышение относительного риска в зависимости от дозы эстрогена. Риск при применении комбинированных препаратов почти на 40% больше, чем в отсутствие ЗГТ (рис. 89).

Дозо-зависимый эффект конъюгированных эстрогенов четко продемонстрировали исследования NHS (рис. 90). Доза эстрогена 0,625 мг и более достоверно повышала риск инсультов у пользовательниц ЗГТ.

Что же касается противоречивости эффектов ЗГТ на заболевания коронарных сосудов, то NHS установило, что уже только смена образа жизни на менее «разрушительный» позволяет редуцировать риск развития заболеваний коронарных сосудов более чем на 80%. В таблице 82 указаны основные составляющие «здорового» образа жизни, которые были сформулированы NHS на основании когортного исследования 84129 женщин, не принимающих ЗГТ без сердечно-сосудистых заболеваний, диабета или рака.

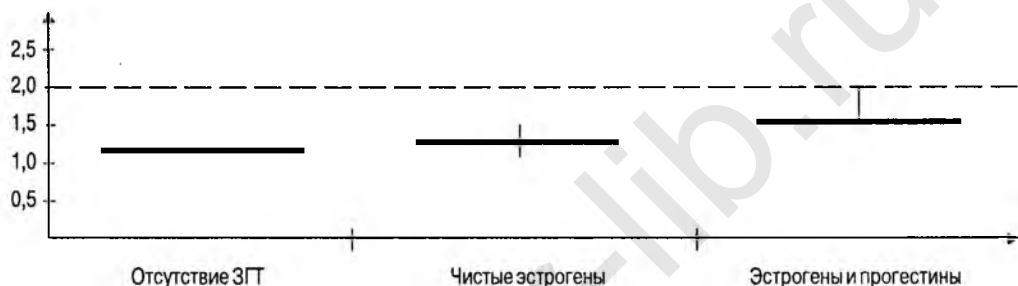


Рис. 89. Риск развития инсульта на фоне ЗГТ (Nurses' Health Study, 1976–1996)

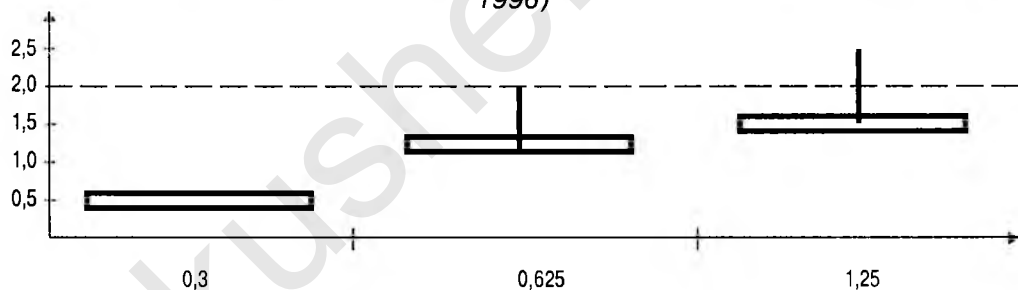


Рис. 90. Риск развития инсульта в зависимости от дозы эстрогенов в процессе ЗГТ (Nurses' Health Study, 1976–96).

Таблица 82.

Компоненты образа жизни, ведущего к уменьшению сердечно-сосудистых заболеваний на 90% у женщин в постменопаузе (по сравнению с женщинами, не получающими ЗГТ и не придерживающихся здорового образа жизни) по данным Nurses' Health Study.

- Умеренная физическая нагрузка: 30 минут быстрой ходьбы в день.
- Умеренный вес: индекс массы тела ≤ 25 .
- Умеренное здоровое питание: высокое содержание в рационе овощей и фруктов, низкая гликемическая нагрузка с относительно высоким соотношением полиненасыщенные: насыщенные жиры.
- Отсутствие курения.
- Умеренное потребление алкоголя: 0,5—2 стакана вина в день.

Несмотря на множество исследований, посвященных влиянию ЗГТ на здоровье, продолжительность жизни и качество жизни, многие вопросы все еще далеки от разрешения и требуют дополнительных исследований.

Одним из наиболее интересных вопросов нам представляется взаимодействие ЗГТ и антифосфолипидных антител (АФА). В данном случае речь идет не о циркуляции АФА в рамках АФС, а как о феномене, свойственном процессу старения и интенсификации процесса апоптоза с возрастом, который в свою очередь может способствовать появлению АФА. В связи с этим интересен вопрос: если циркуляция АФА у женщин в постменопаузе (в отсутствие клинических признаков АФС и заболевания коронарных сосудов) — феномен, связанный со старением и интенсификацией апоптоза, не может ли ЗГТ, «замедляя» процесс старения и улучшая эндотелиальную функцию, способствовать исчезновению «старческих» АФА?

Хотя исследование еще не закончено, возможно, при подтверждении нашей гипотезы, раннее назначение ЗГТ здоровым женщинам будет способствовать не только ослаблению симптомов менопаузы, но и предотвращать развитие АФА и АФС. Предотвращение циркуляции связанных с возрастом АФА важно еще и потому, что в сочетании с другими возрастными изменениями эндотелия и факторов коагуляционного каскада, фибринолиза и естественных ингибиторов свертывания, риск тромботических осложнений многократно возрастает. В связи с этим мы разделяем концепцию начала ЗГТ еще при «здоровом» эндотелии, т.е. как можно раньше.

Подводя итог, постараемся коротко объединить имеющиеся сегодня данные об эффектах ЗГТ:

— ЗГТ клинически демонстрирует улучшение состояния и самочувствия женщин в пери/постменопаузе, включая уменьшение приливов, потливости, по-видимому, предотвращает прогрессирование остеопороза и уменьшает проявления атрофических изменений в мочеполовой системе.

— ЗГТ, возможно, обладает положительным эффектом только при условии «здорового» эндотелия, предотвращая развитие заболеваний коронарных сосудов, улучшая вазодилататорный ответ, липидный уровень и, возможно, снижая уровень гомоцистеина, а также снижая экспрессию многих медиаторов воспаления. В условиях атеросклеротического повреждения коронарных сосудов ЗГТ не оказывает кардиопротективный эффект, однако риск тромбозов повышается.

— ЗГТ повышает риск развития венозного тромбоза в 3,5—4 раза.

— Влияние ЗГТ на систему гемостаза аналогично таковому КОК.

— Учитывая возраст пользовательниц ЗГТ и наличие коморбидных состояний риск развития тромбозов у них выше, чем у, в основном, молодых пользовательниц КОК.

— ЗГТ, по крайней мере, не снижает риск инсультов, а по некоторым данным повышает его. При использовании конъюгированных препаратов риск развития инсульта на 40% выше, чем у женщин, не получающих ЗГТ. Кроме того, риск развития инсульта коррелирует с дозой эстрогенов в препарате ЗГТ.

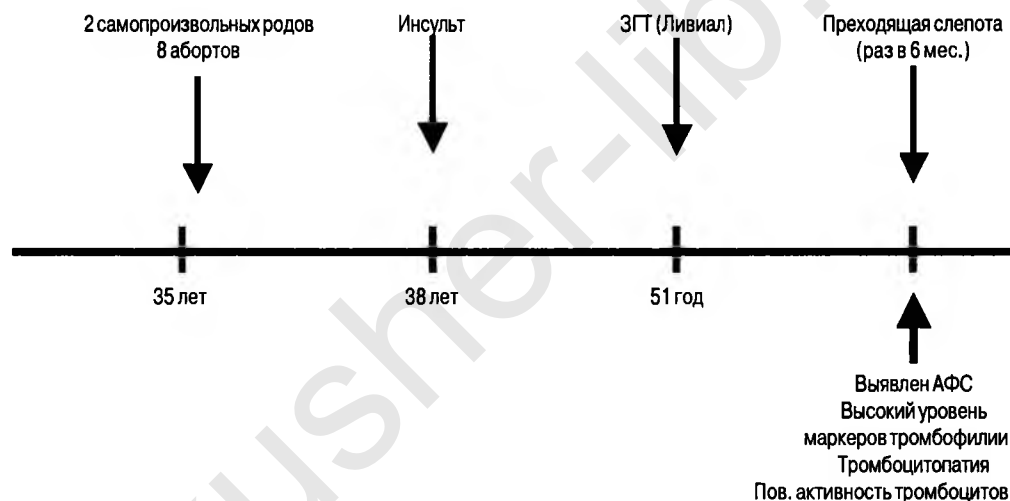
Анализируя эти результаты, невольно складывается впечатление, что негативные эффекты ЗГТ перевешивают положительные. Однако избежать негативных эффектов ЗГТ можно только в том случае, если до назначения ЗГТ оценить возможные факторы риска. Как уже указывалось пользовательницы ЗГТ, в отличие от юных пользовательниц КОК, часто имеют коморбидные заболевания, а также отягощенный соматический и акушерский анамнез. С одной стороны это увеличивает потенциальный риск тромбозов, а с другой позволяет заподозрить наличие генетически обусловленной или приобретенной тромбофилии (АФС). Если у женщин перед назначением КОК достаточно сложно судить о возможном наличии у них генетических дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу, а генетические исследования у всех женщин перед назначением КОК достаточно дороги и потому нецелесообразны (исследования проводятся только в случае семейного тромботического анамнеза), то у женщин в пост- и перименопаузе ситуация не-

сколько иная. Тщательно должен исследоваться как семейный, так и личный тромботический анамнез, а также, что немаловажно, акушерский, поскольку на сегодняшний день известно, что до 70% осложнений беременности (синдром потери плода, тяжелые гестозы, ПОНП) связаны с нарушениями в системе гемостаза — как приобретенными (АФС), так и генетически обусловленными. Крайне важно учитывать общесоматический анамнез (мигрени, артериальная гипертензия, болезни почек, неврологические проявления и пр.), так как клинические проявления АФС чрезвычайно разнообразны.

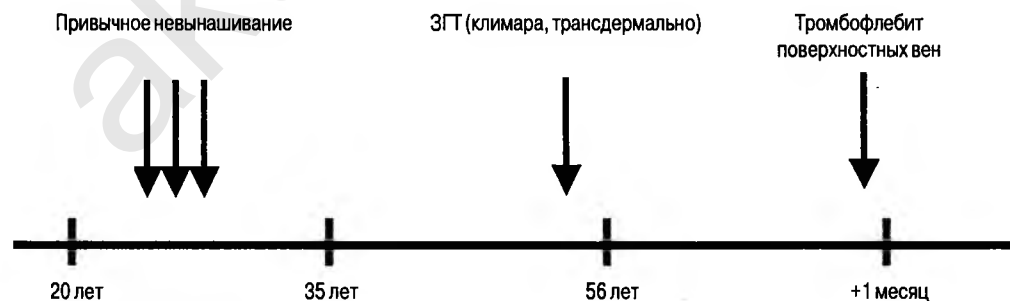
В свете вышеизложенного, отбор пациенток для исследования на предмет наличия скрытой генетически обусловленной тромбофилии или АФС перед назначением ЗГТ значительно облегчен по сравнению с пользовательницами КОК.

Выявление же скрытой генетически обусловленной тромбофилии или АФС с нашей точки зрения является противопоказанием к назначению ЗГТ. На рисунке 91 в виде схемы представлены два клинических случая тромботических осложнений с АФС на фоне ЗГТ. Исключение, возможно, может составлять генетически обусловленная гипергомоцистеинемия, поскольку существуют данные о снижении уровня гомоцистеина на фоне ЗГТ. Тем не менее, возможности применения ЗГТ у пациенток с генетически обусловленной гипергомоцистеинемией требуют дальнейшего изучения.

Пациентка Н.



Пациентка М.



Генетическая тромбофилия (—)
 Антифосфолипидный синдром (+): ВА
 Повышена функция тромбоцитов
 Синдром потери плода, тромбоз

Рис. 91.

И все же с нашей точки зрения оправдан скрининг на предмет генетической или приобретенной тромбофилии как перед назначением ОК, так и ЗГТ всем пациенткам несмотря на дороговизну их, поскольку отсутствие личного или семейного тромботического анамнеза не исключает наличие тромбофилии, а, возможно, лечение и реабилитация больных с тромбоемболическими осложнениями обойдется намного дороже.

Кроме того, помимо отсутствия скрытой или явной тромбофилии, на успех ЗГТ можно рассчитывать только у относительно молодых пациенток с сохранной функцией эндотелия. По сути, эффекты ЗГТ у молодых здоровых пациенток, у относительно пожилых пациенток с атеросклерозом коронарных артерий и рядом коморбидных заболеваний, у пациенток со скрытой или явной тромбофилией можно сравнить с феноменом весов: что перевесит — положительные эффекты, отрицательные эффекты или возможно равновесие (рис. 92).

Понятно, что целью врача является достичь, по меньшей мере, состояния равновесия, не говоря уже о перевешивании положительных эффектов. А это возможно только при тщательном анализе возможных причин отрицательных эффектов еще до назначения ЗГТ.

Как правило, женщины со скрытыми формами тромбофилии в молодом, репродуктивном возрасте в абсолютном большинстве случаев являются пациентками акушеров-гинекологов, так как скрытые дефекты гемостаза в молодом возрасте в основном проявляются в форме невынашивания беременности, тяжелых гестозов, преждевременных родов, отслойки плаценты, неудач ЭКО и пр., и реже — тромботическими осложнениями.

В то же время в пери- и постменопаузе эти же женщины — уже пациентки широкого круга специалистов, помимо гинекологов-кардиологов, хирургов, невропатологов и пр., поскольку скрытая тромбофилия реализуется в форме венозных и артериальных тромбозов, инфарктов, инсультов (в том числе на фоне ЗГТ или вследствие появления коморбидных заболеваний — сахарный диабет, атеросклероз, ожирение и пр.).

В заключение, прежде чем сформулировать в виде тезисов основные положения по применению ЗГТ, хотелось бы заметить, что с философской точки зрения ЗГТ, безусловно, вмешательство в природный процесс старения. Если исходить из теории физиологической запрограммированности процесса старения, сопровождающегося усилением апоптоза, а, следовательно, и повышением протромботических тенденций, то, возможно, угасание функции яичников и снижение уровня продуцируемых ими гормонов, которые, как известно, являются факторами, повышающими коагуляционные свойства крови, является своеобразной защитной функцией стареющего организма. Так стоит ли искусственно вмешиваться в этот тысячелетием отлаженный процесс? А может, ключ к долголетию и молодости совсем другой — на уровне генов? Возможно, в будущем положительные эффекты, достигаемые на сегодняшний день ЗГТ, будут достигнуты другими методами терапии? Только успешное дальнейшее развитие генетики и молекулярной медицины может дать ответы на эти вопросы. А пока ... краткое резюме по ЗГТ.

1). ЗГТ приводит к субъективному улучшению самочувствия и состояния женщины в пери/постменопаузе, включая уменьшение приливов, потливости. Предотвращает прогрессирование атеросклероза, урогенитальных расстройств и, возможно, остеопороза.

2). ЗГТ при условии «здорового», неповрежденного эндотелия предотвращает развитие заболеваний коронарных сосудов, улучшая вазодилатацию, липидный спектр и, возможно, снижает уровень гомоцистеина, а также экспрессию медиаторов воспаления.

3). В условиях атеросклеротического поражения сосудов ЗГТ не оказывает кардиопротективного эффекта. Риск развития тромбоемболии в 3—4 раза выше. Влияние ЗГТ в этом смысле на систему гемостаза аналогично КОК.

ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ГОРМОНАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Здоровая женщина в пери-/постменопаузе

Отрицательные эффекты

Повышение уровня факторов свертывания, APC-R
Повышение риска венозных и артериальных тромбозов

Положительные эффекты

Субъективное улучшение самочувствия
Уменьшение приливов/потливости
Уменьшение прогрессирования атеросклероза
Уменьшение ЛНП, гомоцистеина (?)
Эндотелиопротективные эффекты
Уменьшение урогенитальных нарушений, изменений крови
Кардиопротективный эффект
Уменьшение PAI-1
Уменьшение L_{pa}



ЗАМЕСТИТЕЛЬНАЯ ГОРМОНАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ

Женщина в пери-/постменопаузе с эндотелиопатией и/или тромбофилией (генетически обусловленной, приобретенной — АФС)

Отрицательные эффекты

Повышение уровня факторов свертывания, APC-R
Истощение естественных антикоагулянтов
Повышение уровня PAI-1
Повышение риска венозных и артериальных тромбозов
Повышение риска инфаркта миокарда
Повышение риска инсульта

Положительные эффекты

Уменьшение приливов/потливости
Уменьшение прогрессирования остеопороза
Уменьшение ЛНП, гомоцистеина (?), L_{pa}
Уменьшение урогенитальных нарушений



Рис. 92.

4). Учитывая возраст принимающих ЗГТ и наличие коморбидного состояния риск развития тромбозов выше, чем у молодых женщин, принимающих КОК.

5). При использовании комбинированных препаратов риск развития инсульта повышается на 40%.

6). Необходимые исследования системы гемостаза перед назначением ЗГТ:

- Семейный тромботический анамнез (в том числе личный);
- Невынашивание беременности в анамнезе;
- Гестоз в анамнезе;
- Преждевременная отслойка плаценты в анамнезе;
- Скринирующие тесты на выявление скрытой тромбофилии: ТАТ, F1+2, D-димер, АФА;
- Тесты на генетические формы тромбофилии.

7). Критерии возможности назначения ЗГТ по данным исследования гемостаза:

- При отрицательных результатах возможно назначение ЗГТ и проведение скринирующих тестов 1 раз в 3 месяца (ТАТ, D-димер, функция тромбоцитов);
- При положительных результатах дальнейшая ЗГТ не показана.

Искусственные (вспомогательные) репродуктивные технологии и тромбоемболические осложнения

Тромбоемболические осложнения после стимуляции яичников, в том числе в рамках программы ЭКО, не так часты, однако весьма серьезны, поскольку локализация тромбозов не ограничивается тромбозом верхних и нижних конечностей, но также включает ТЭЛА, тромбоз мозговых сосудов, сонных артерий, верхней полой вены, нижней полой вены и пр. Однако чаще встречаются тромбозы сосудов верхних конечностей или церебральные тромбозы. Почти в 80% случаев эти осложнения связаны с развитием синдрома гиперстимуляции яичников (СГЯ).

Следует заметить, что если эффекты КОК и ЗГТ на систему гемостаза изучаются достаточно интенсивно и уже накоплены некоторые знания о механизмах влияния их на систему свертывания крови, то эффекты гормональной стимуляции яичников и, соответственно, применяющихся с этой целью гормональных препаратов, изучены в меньшей степени.

В настоящее время уже не вызывает сомнений, что половые гормоны могут индуцировать гиперкоагуляционное состояние, однако для реализации его в форме тромбозов и/или тромбоемболии, как правило, необходимо наличие других факторов. В первую очередь, к таким факторам следует отнести предсуществующую генетическую или приобретенную предрасположенность к тромбозам (скрытые тромбофилические состояния), а также наличие таких факторов риска как курение, ожирение, сахарный диабет, атеросклероз и пр.

Влияние половых гормонов на сосудистую стенку, сосудистый тонус и кровоток

Присутствие рецепторов для половых стероидов на сосудистых перицитах свидетельствует, что половые стероиды могут прямо действовать на сосудистую стенку. Половые стероиды вызывают дилатацию периферических вен и снижение кровотока, что согласно триаде Вирхова — один из факторов, способствующих тромбозу. Недавно было показано, что и периферические артериолы также могут расширяться в процессе стимуляции яичников. Однако, только сниженный кровоток — редко является единственной причиной активации внутрисосудистого свертывания крови, тем не менее, если тромбоцитический процесс стимулирован, то он усиливается в условиях замедления кровотока или стаза.

Известно, что эстрогены и КОК, как правило, повышают адгезивные свойства тромбоцитов. Последние же исследования у пациенток программы ЭКО пролили новый свет на роль тромбоцитов. Результаты этих исследований свидетельствуют, что TF высвобождается не только из адвентиции сосудистой стенки, но и из циркулирующих моноцитов; это «высвобождение» прямо коррелирует с концентрацией эстрадиола в сыворотке. Взаимодействие активированных гранулоцитов и тромбоцитов многократно увеличивает продукцию FVII циркулирующими моноцитами. Это, в свою очередь, свидетельствует, что активация коагуляционного каскада, требующая «кооперации» TF с FVII и Ca^{2+} может происходить и без повреждения сосудистой стенки в условиях повышенных концентраций стероидных гормонов при ЭКО.

Изменения в коагуляционной, фибринолитической и естественной антикоагулянтной системах при стимуляции яичников в рамках ЭКО

В условиях стимуляции яичников на уровне коагуляционных факторов, как оказалось, влияют не столько уровни сывороточных концентраций эстрадиола (которые иногда в 10 раз выше, чем в регулярном физиологическом менструальном цикле), сколько биохимические изменения, развивающиеся после индукции овуляции хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ). Все детали этих изменений до сих пор еще не изучены. Однако достоверно известно, что если после стимуляции яичников человеческим менопаузальным гонадотропином (МГЧ) концентрация факторов свертывания в фазу пролиферации остается в

пределах нормативных значений, то после индукции с помощью ХГЧ уровни фибриногена, факторов II, V, VII, VIII и IX, достоверно увеличиваются (табл. 83), хотя при этом уровень сывороточного эстрадиола снижен.

Клинические исследования свидетельствуют, что эстрогены при стимуляции яичников прямо «не ответственные» за биохимические изменения, способствующие развитию СГЯ и гиперкоагуляции. В пользу этой гипотезы свидетельствует хотя бы тот факт, что у пациенток с недостаточностью фермента 17,20-десмолазы, которые после индукции овуляции с помощью ХГЧ имеют низкий уровень сывороточного эстрадиола, развиваются биохимические изменения, клинически проявляющиеся как СГЯ.

Таблица 83.

Изменения в системе гемостаза при СГЯ.

Параметры	Лечение	
	После ХГЧ	МГЧ
Протромбин (FII)	↑	—
Фактор V	↑	—
Фактор VII	↑	—
Фактор VIII	—	—
Фактор Виллебранда	?	—
Фактор IX	↑	—
Фактор X	—	—
Фактор XI	?	—
Фактор XII	?	—
Фибриноген	↑	?
Прекалликреин	↓	?
Антитромбин III	↓	—
Протеин С	?	—
ТАТ	↑	?
Плазминоген	↑	?
РАР	↑	?
Д-димер	↑	?

(—) — уровень не меняется

(?) — нет исследований

(↑) — повышается

(↓) — понижается

После назначения ХГЧ обнаруживается активация не только коагуляционного каскада, но и фибринолиза, о чем свидетельствуют повышенные концентрации плазминогена, снижение уровня ингибитора α 2-плазмина и повышенные концентрации фибрина/фибриногена (Д-димер). Этот «фибринолитический феномен» развивается спустя несколько дней после проявления «протромботического феномена». Такой отсроченный фибринолитический ответ свидетельствует о развитии так называемого репаративного фибринолиза в рамках компенсированного ДВС-синдрома (внутрисосудистого микротромбообразования). Забегая несколько вперед следует подчеркнуть, что появление маркеров репаративного

фибринолиза (Д-димера, комплекса плазмин-антиплазмин (РАР)), неблагоприятный прогностический признак, требующий коррекции с помощью антикоагулянтной терапии.

Однако, безусловно, прямым маркером тромбинемии и тромбофилии является повышение уровня молекулярных комплексов тромбин-антитромбин, которые могут служить для оценки эффективности противотромботической профилактики в динамике.

Концентрация протеина С при стимуляции яичников повышается, что, вероятно, обусловлено эстрадиолом и является компенсаторной реакцией на повышение уровня факторов свертывания V и VIII.

Уровень АТ III в условиях стимуляции яичников (в основном ХГЧ) достоверно снижается, что является одним из основных лабораторных проявлений тромбофилии.

Исходя из этих данных, необходимо отметить, что если у женщины изначально присутствует АФС или генетическая тромбофилия (мутация FV Leiden, мутация протромбина G20210A, MTHFR C677T, полиморфизм гена PAI-1 4g/4g или другие тромбогенные дефекты фибринолиза и/или тромбоцитов), то снижение и без того угнетенных естественных противотромботических механизмов, многократно повышает риск тромботических осложнений, в том числе и фатальных.

В контексте предсуществующей тромбофилии ЭКО и связанной с ним стимуляции яичников, хотелось бы обратить внимание практических врачей на то, что:

1) у пациенток со скрытой тромбофилией часто имеют место неудачные попытки ЭКО (что напрямую связано с тромбофилией и влиянием ее на имплантацию плодного яйца, инвазию в дальнейшем трофобласта и плацентацию);

2) часто ЭКО необходимо женщинам с СПКЯ и инсулинорезистентностью, которые помимо приобретенного повышения уровня PAI-1 за счет инсулинорезистентности часто имеют полиморфизм гена PAI-1 (4g/g), который также способствует повышению уровня PAI-1 в плазме, а значит угнетению фибринолиза. В сочетании с повышением уровня факторов свертывания в процессе стимуляции яичников это снижает успех ЭКО и повышает риск тромботических осложнений.

3) стимуляция яичников в рамках программы ЭКО у пациенток с комбинированными формами тромбофилии (сочетании нескольких генетических дефектов друг с другом или с циркуляции АФА) может стать причиной опасных для жизни тромботических осложнений.

4) риск развития тромботических осложнений повышается при развитии СГЯ.

Синдром гиперстимуляции яичников

Стимуляция яичников в рамках «вспомогательной» репродукции может сопровождаться СГЯ разной степени тяжести (табл. 84). Центральную роль в развитии СГЯ играет ХГЧ (как экзогенный, так и эндогенный при наступлении беременности).

Таблица 84.

Классификация синдрома гиперстимуляции яичников по степени тяжести.

Степень тяжести	Проявления
Легкая: I степень	Тошнота, рвота, напряжение передней брюшной стенки, диарея, увеличение размеров яичников.
Умеренная (средняя): II степень	Проявления, характерные для I степени + асцит.
Тяжелая: III степень	Асцит или плевральный выпот, гемоконцентрация >45%, олигурия <30 мл/час, задержка жидкости в тканях, диспноэ, нарушение газов крови, электролитные нарушения, коагулопатия.

Синдром характеризуется массивным выходом жидкости из кровотока во внесосудистое пространство, сопровождающимся гемоконцентрацией, повышении-

ем вязкости крови, снижением дилуции активированных факторов свертывания, что, в свою очередь, часто становится причиной тромбозэмболических осложнений (наряду с изменениями уровней факторов свертывания крови, естественных ингибиторов свертывания и фибринолиза).

В патогенез СГЯ вовлечены простагландины, гистамин и серотонин, яичниковая проренин-ренин-ангиотензиновая система, интерлейкин-2 (IL-2), а также сосудистый эндотелиальный фактор роста/фактор сосудистой проницаемости (VEGF/VPF). В последнее время большее внимание стало уделяться именно VEGF/VPF, поскольку было обнаружено, что: 1) проницаемость сосудистой стенки повышается при инкубации с VEGF/VPF-содержащими субстанциями (например, фолликулярный и перитонеальный секрет); 2) клетки гранулы экспрессируют ген VEGF/VPF; 3) эта экспрессия повышается в присутствии ХГЧ.

Хотя патогенетические механизмы, ведущие к клиническим проявлениям СГЯ еще далеки от полного понимания, тем не менее, к основным звеньям патогенеза на сегодняшний день относят активацию коагуляционной системы и изменение реологических свойств крови (гемоконцентрация) (рис. 93).

Практические рекомендации

Поскольку «вспомогательная» репродукция (стимуляция яичников и гормональная индукция овуляции) сопряжена с риском тромбозэмболических осложнений, а также в целях оптимизации ЭКО и некоторого снижения частоты неудачных попыток, возможно, будут полезны следующие рекомендации:

- Все женщины, готовящиеся к ЭКО, должны быть скринированы на предмет наличия скрытой или явной тромбофилии. С этой целью необходимо тщательно изучить личный и семейный тромботический анамнез. В подозрительных случаях (при положительном тромботическом анамнезе — исследования на предмет генетической тромбофилии и/или АФС).

- Оценить дополнительные факторы риска тромбоза:

- ожирение
- курение
- атеросклероз
- диабет

- Критически оценить предыдущие неудачные попытки ЭКО (возможно, они связаны с наличием скрытой тромбофилии). Идеально провести исследования на предмет наличия тромбофилии (генетически обусловленной и приобретенной (АФС)).

- Критически оценить акушерский анамнез, если таковой имеется, в том числе семейный (привычное невынашивание беременности, антенатальная гибель плода, тяжелый гестоз и т.д.). Это может также дать основание для поиска возможной тромбофилии.

- При выявлении факторов риска тромбоза, показана антикоагулянтная профилактика НМГ в профилактических дозах или малыми дозами гепарина (5 тыс. Ед 2 раза в сутки).

- С целью оценки эффективности проводимой антикоагулянтной терапии оптимален мониторинг молекулярных маркеров тромбинемии и фибринолиза-комплексов ТАТ, PAP, Д-димера.

Терапия СГЯ

Основные принципы терапии СГЯ подразумевают восстановление физиологической осмоляльности в сосудистом русле за счет восполнения объема коллоидными растворами.

С патогенетической точки зрения идеально замещение свежзамороженной плазмы (СЗП), поскольку она не только повышает внутрисосудистое онкотическое давление, но и содержит необходимые в условиях ДВС ингибиторы свертывания крови наряду с факторами свертывания, что способствует восстановлению гемостазиологического баланса. Однако потенциальный риск аллергических реакций и трансмиссии вирусных инфекций также повышается.

С этой точки зрения более предпочтителен человеческий альбумин. Однако минусом его является отсутствие естественных ингибиторов свертывания и факторов коагуляции, а так же относительная дороговизна. Возможно, возмещение объема кристаллоидными изотоническими растворами и физиологическим раствором. Хорошо себя зарекомендовал и гидроксипропилированный крахмал (HES), который, обладая прекрасными онкотическими свойствами, не меняет кислотно-щелочной баланс и не аллергенен.

Объем ежедневных инфузий может превышать 3000—3500 мл/день в зависимости от массы тела, функции почек: почечная секреция должна быть более 30 мл в час. При необходимости почечная перфузия может быть повышена инфузией допамина в концентрации 2—4 мг допамина/кг/ 24 часа.

НПВС (такие, как индометацин), которые ингибируют циклооксигеназу — ключевой фермент в метаболизме простагландинов, которые играют важнейшую роль в патогенезе СГЯ — также могут быть целесообразны при лечении СГЯ.

Применение ингибиторов АПФ ограничивается эмбриотоксическим эффектом. Антигистаминные препараты и ингибиторы H1-рецепторов патогенетически оправданы при лечении СГЯ.

Антикоагулянты, в частности, НМГ, значительно улучшают прогноз и позволяют избежать самых тяжелых осложнений — ТЭЛА и тромбоза мозговых сосудов.

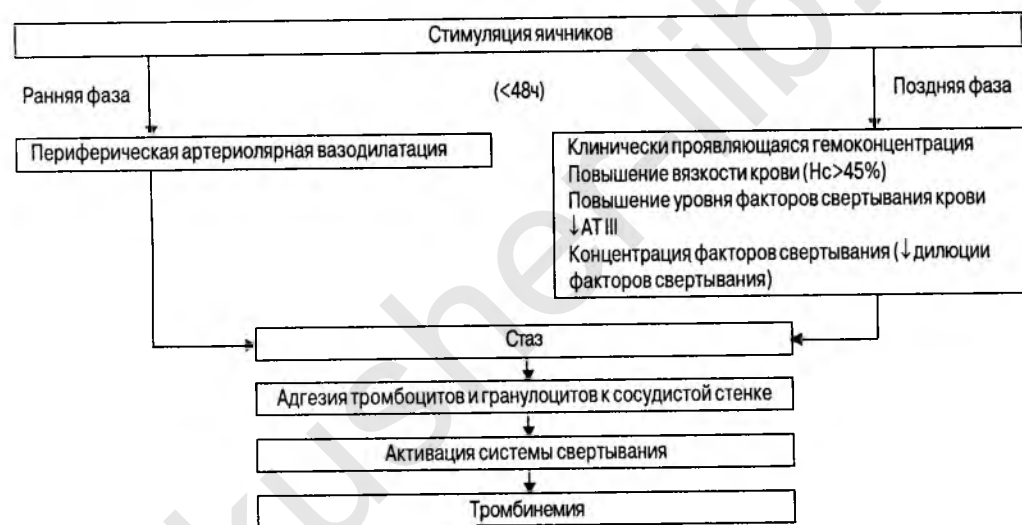


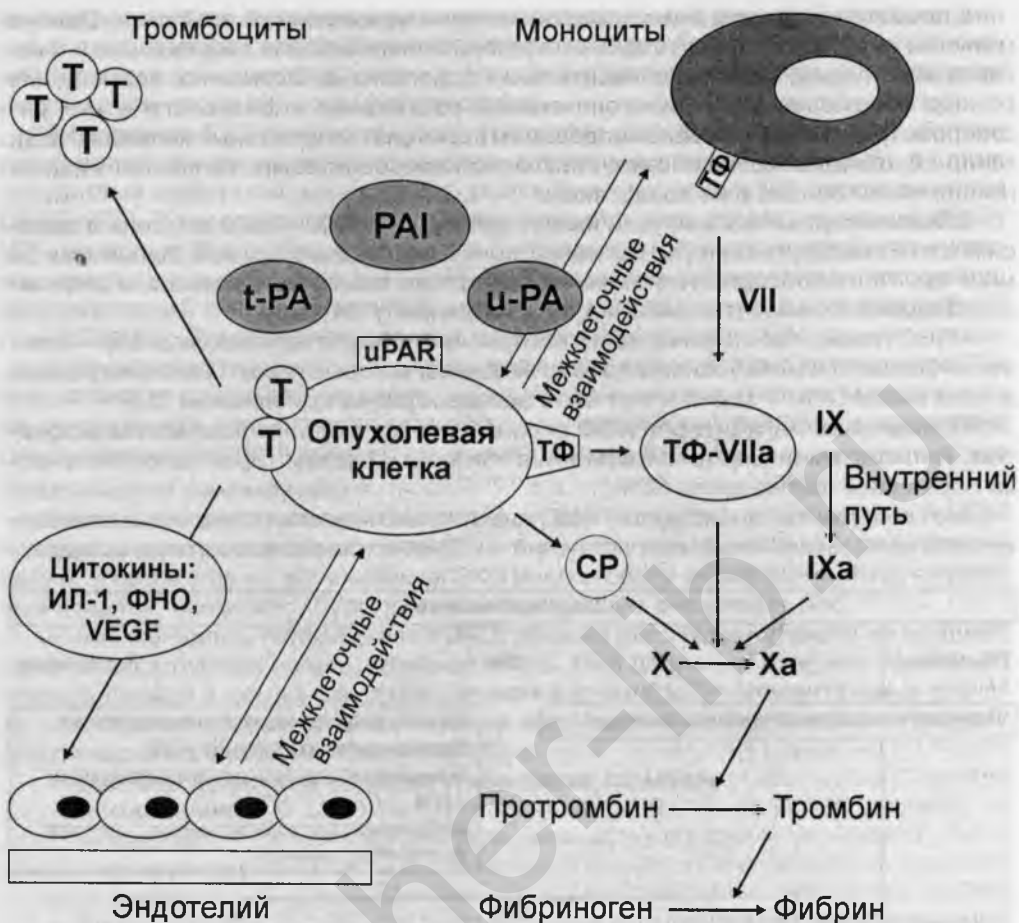
Рис. 93. Возможные механизмы патогенеза активации коагуляции при СГЯ.

7. Тромбозы, обусловленные химиотерапией

Прежде чем обсуждать проблему химиотерапии и связанных с ней ятрогенных тромбофилий необходимо особо отметить, что любой злокачественный процесс сам по себе является фактором повышенного риска тромбозов и тромбоэмболий. Еще в 1865 году выдающийся французский ученый и врач А.Труссо указал на связь между раком и мигрирующими тромбофлебитами и флеботромбозами, подчеркнув, что последние можно рассматривать в качестве первых симптомов скрыто протекающего и невыявленного роста злокачественной опухоли, на много месяцев опережающими клинические проявления новообразования.

Выступая в 1865 году с докладом в Hotel-Dieu в Париже А.Труссо говорил:

«Господа, те из Вас кто вместе со мной занимается клинической практикой, наверняка заметили, что существуют определенные заболевания, которые започинаются благодаря множеству различных ситуаций, при которых они встреча-



- TF — тканевой фактор
 t-PA — активатор плазминогена тканевого типа
 u-PA — активатор плазминогена урокиназного типа
 u-PAR — рецептор активатора плазминогена урокиназного типа
 ФНО-х — фактор некроза опухоли х
 Т — тромбоциты
 CP — цистеиновая протеиназа
 ИЛ-1 — интерлейкин-1
 VEGF — сосудистый эндотелиальный фактор роста

Рис. 94. Взаимодействие опухолевой клетки с компонентами системы гемостаза.

ются. Я хочу поговорить о plegmasia alba dolens. Вы помните, как мы вместе наблюдали белые болезненные отеки не только в раннем послеродовом периоде, но чаще у больных обоих полов с симптомами легочного кровохарканья или внутренней злокачественной опухоли. Это редкий случай генерализованного внутрисосудистого свертывания с возможным вовлечением всех четырех конечностей. Что же это за состояние, когда кровь приобретает тенденцию к спонтанному свертыванию? Это кахексические состояния вообще, и в частности при раке и туберкулезе...»

Несмотря на то, что уже более 130 лет назад было указано на взаимосвязь между опухолевым процессом и тромбозами, только последние 10—15 лет стали активно изучаться механизмы возникновения тромбофилии при злокачествен-

ных процессах. Во многом это объясняется успехами последних лет в области гемостазиологии и молекулярной биологии. Опухолевая клетка взаимодействует практически со всеми компонентами системы гемостаза (рис. 94).

При этом выяснилось, что система гемостаза напрямую связана с ростом и распространением (метастазированием) опухоли. Это, в свою очередь позволило сформулировать гипотезу, согласно которой противотромботическая терапия не только предотвращает развитие тромбозов и преждевременную смерть онкобольных от тромбоэмболических осложнений, но и, возможно, замедляет рост и распространение опухолевого процесса. Однако эта гипотеза в настоящее время изучается во многих научных центрах в мире.

Вторая важная проблема, которой во времена Труссо еще не было, но которая чрезвычайно актуальна в настоящее время — это химиотерапия и ее эффекты на систему гемостаза, которые многочисленны и неоднозначны, что определяется как видом химиотерапии, так и характером опухоли. Тем не менее, в последние годы все больше накапливается данных о большой частоте тромбозов у онкобольных на фоне химиотерапии.

Основной проблемой диагностики ТГВ является невыраженность клиники (< 55%) и недостаточная интерпретация симптомов. Основные существующие ныне клинические исследования направлены на скрининговые процедуры (стандартизированные диагностические методы) и методы оценки частоты случаев в течение времени. Более того, в широкой клинической практике до сих пор не обращается внимания на существование связи между химиотерапией и тромбозами. Следовательно, если мы не ожидаем появления тромбоза, мы вряд ли распознаем его. Все это вместе с увеличением амбулаторного ведения таких пациентов (это снижает качество наблюдения за пациентами) может приводить к факту, что во многих исследованиях по цитостатическому лечению тромбозы не играют особой роли, поскольку диагностируются лишь случаи с явными клиническими признаками тромбоза.

Данные, приведенные ниже по частоте ТГВ, основаны на исследованиях, описывающих тромбоз как возможное проявление химиотерапии (табл. 85). Согласно результатам 6 исследований с общим количеством пациентов 3101, получавших адьювантную химиотерапию по поводу рака молочной железы без гормональной терапии (тамоксифен или медроксипрогестеронаацетат МПА), средняя частота тромботических осложнений была 4,5% (1,3—10%). В четырех из этих исследований была обнаружена средняя частота ТГВ — 4,2% при адьювантной химиотерапии по сравнению с 4,8% в сочетании с антрациклином. Частота ТГВ при химиотерапии по поводу метастазов рака молочной железы в 4 исследованиях 334 пациентов была 9,8%.

В 4 исследованиях во время конкурентной терапии тамоксифеном и химиотерапии по поводу нематастатического рака молочной железы у 1102 пациентов средняя частота ТГВ была 4,8% (3,1—9,3%). Это более чем в 2 раза больше по сравнению со средним значением в 1,7% (разброс 0%—5,6%), определенным в 8 исследованиях по монотерапии тамоксифеном у 3184 пациентов без метастазов. При 5 исследованиях по монотерапии тамоксифеном или торемифеном у 3370 пациентов с метастатическим раком молочной железы не было выявлено увеличения частоты ТГВ (среднее значение 2,1 %; разброс 0,8 — 3,2%) по сравнению с адьювантной монотерапией тамоксифеном. Репрезентативное исследование Stockholm Breast Cancer Study Group не выявило значительных различий в частоте госпитализаций по поводу ТГВ у 2365 пациенток в постменопаузе, которым беспорядочно назначалась либо адьювантная терапия тамоксифеном (49/1188; 4,1%), либо никакой гормональной терапии (45/1177; 3,8%; HR:1,06 доверительный интервал CI 95% :0,71—1,6; $p>0,05$). В 6 исследованиях по применению высоких доз монотерапии МПА (500—1200 мг в день), включающих 1225 пациенток с метастатическим раком молочной железы средняя частота ТГВ была 4,06% (разброс от 0,9 до 14,5% по сравнению с 4,13% (3,5 — 4,7%) у 407 пациенток (из 4 работ), получавших мегэстрола ацетат (МА).

Частота артериальных и венозных тромбозов во время терапии цитостатиками при раке яичников и молочной железы.

Режимы химиотерапии	Авторы	Стадия	Пациенты	Артериаль- ные тромбозы n(%)	Венозные тромбозы n(%)	
Циклофосфамид (метотрексат) флуорацил (CMF) без тамоксифена, MPA	R.Weiss	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	433	0	22(5,1%)	
	T.Saphner	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	603	-	9(1,5%)	
	M.N.Levine	T ₁₋₂ N ₀₋₁ M ₀	102	0	9(8,8%)	
	S.E.Rifkin	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	300	0	4(1,3%)	
	M.N.Levine	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	159	0	7(4,4%)	
	A.Palanga	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	16	4(2,5%)	2(12,5%)	
	L.Goodnough	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	159	-	20(12,6%)	
	A.Manni	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	110	7(0,8%)	11(10,0%)	
	J.G.Wall	T ₁₋₂ N ₀₋₁ M ₀	901	6(5,3%)	-	
	J.G.Wall	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	113	0	-	
Антрациклин адриамицин или эпирубин, циклофосфамид (АС, ЕС) без тамоксифена, MPA	P.C.Clahsen	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	1292	0	27(2,1%)	
	G.-F.v.Tempelhoff	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	50	1(0,3%)	5(10,0%)	
	T.Saphner	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	321	3(0,9%)	8(2,3%)	
	K.I.Prichard	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	353	1(1,0%)	33(9,3%)	
	M.N.Levine	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	103	-	4(3,9%)	
Тамоксифен и CMF и/или антрациклин	D.Fisher	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	383	-	12(3,1%)	
	S.E.Rifkin	T ₁₋₃ N ₀ M ₀	303	-	11(3,6%)	
	R.Bober-Sorcinelli	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀₋₁	52	-	7(13,5%)	
	P.A.Canney	FIGO III-IV	83	0	10(12,0%)	
	G.-F.v.Tempelhoff	FIGO Ib-IV	47	-	5(10,56%)	
	K.D.Pemberton	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	89	4(1,1%)	5(5,6%)	
	K.I.Prichard	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	352	-	5(1,4%)	
	D.Fisher	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	367	0	6(1,6%)	
	S.E.Rifkin	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	295	-	0	
	D.Fisher	T ₁₋₃ N ₀ M ₀	1318	-	12(0,0%)	
*Тамоксифен плюс другая химиотерапия цисплатин антрациклин (циклофосфамид) Тамоксифен	R.R.Love	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	70	-	1(1,42%)	
	C.C.Mamby	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	32	39(5,9%)	0	
	C.C.McDonald	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₀	661	4(1,8%)	15(2,8%)	
	D.F.Hayes	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	215	-	5(2,3%)	
	L.Beex	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	1975	0	15(0,8%)	
	A.Lipton	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	220	0	7(3,2%)	
	M.Castigl.-Gertsch	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	64	3(2,0%)	2(3,1%)	
	M.Geshanovich	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	149	6(1,38%)	2(1,3%)	
	D.F.Hayes	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	433	2(0,6%)	12(2,77%)	
	Торемифен	M.Geshanovich	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	314	-	4(1,27%)
		F.Pannuti	T ₁₋₃ N ₀₋₂ M ₀	62	-	1(1,6%)
	MPA (медроксипрогестеронацетат в высокой дозе)	M.Castigl.-Gertsch	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	55	-	8(14,5%)
		G.Bastert	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	94	-	2(2,1%)
		K.Pollow	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	846	-	13(1,5%)
		GR.Della Cuna	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	101	-	1(0,9%)
G.Samonis		T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	29	-	1(3,4%)	
*конкурентная химиотерапия MA (мегестрол ацетат)	JABCS group	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	44	-	1(2,3%)	
	J.S.Abrams	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	50	-	2(4,0%)	
	A.Buzdar	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	253	-	12(4,7%)	
	H.L.Parnes	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	57	-	2(3,5%)	
	S.Tchekmedyian	T ₁₋₄ N ₀₋₂ M ₁	47	-	2(4,3%)	

FIGO, International Federation of Gynecology and Obstetrics; MPA, medroxyprogesteron acetate.
Clin Appl Thrombosis/Hemostasis. Vol. 5. No. 2, 1999.

Во время двух исследований, основанных на терапии препаратами платины, включавших 130 больных раком яичников, частота ТГВ была 10,6% и 12,0%, соответственно.

Свертывание и реология крови во время терапии цитостатиками

Хотя большинство исследователей в настоящее время обнаруживают, что химиотерапия повышает риск тромбозмболических осложнений, единого мнения о механизмах протромбогенного действия химиотерапии до сих пор нет. Вероятно, это связано как с существованием различных режимов химиотерапии, так и эффектами различных препаратов, входящих в курсы полихимиотерапии, а также исходного состояния системы гемостаза.

Тромбогенный потенциал препаратов, применяемых для цитостатической терапии при раке женских половых органов, исследовался *in vivo* и *in vitro*. На рисунке 95 представлены возможные механизмы влияния цитостатиков на систему гемостаза.

По мнению Vertomeu et al., химиотерапевтические вещества могут напрямую взаимодействовать с клетками крови и эндотелием, что может вызывать гемостазиологический дисбаланс *in vivo*. Так как повышенная активность тромбоцитов четко коррелировала с повышением активности интерлейкина 1 ($r=0,86$; $p<0,01$) и блокировалась антителами к витронектину, было предположено, что химиотерапевтические субстанции стимулируют выделение эндогенного ИЛ-1, который индуцирует экспрессию рецептора витронектина на поверхности эндотелиоцитов. Образцы крови от 56 пациентов, получавших CMF (циклофосфан/метотрексат/флуорацил) с или без облучения с III стадией рака молочной железы содержали значительно более низкий уровень фосфолипидов ($p<0,001$), в то время как холестерин был значительно повышен ($p<0,05$) по сравнению с пациентами без химиотерапии. Авторы предполагают, что такое значительное увеличение соотношения холестерина/фосфолипиды в плазме может быть результатом индуцированного химиотерапией образования свободных радикалов, которые гидролизуют ненасыщенные связи жирных кислот в фосфолипидах и продуцируют ацетат, который является начальным компонентом для синтеза холестерина. Помимо передвижения холестерина из плазмы на мембраны клеток, образование свободных радикалов может также напрямую индуцировать повреждение эритроцитарных мембран, что ведет к повышению соотношения клетка/плазма и, следовательно, снижает способность клеток к деформации, что описано в другом исследовании пациентов с раком молочной железы после лечения CMF. Однако исследования *in vivo* не выявляют какого-либо снижения способности к деформации эритроцитов при инкубации их с антрациклинами, как адриамицин. При исследовании 49 пациенток с раком молочной железы II стадии в течение 12 курсов адъювантной химиотерапии CMF-винкристин, чередуемой с адриамицином или циклофосфамидом (AC) ($n=12$) или просто терапией только CMF, соответственно ($n=37$), Canobbio et al. продемонстрировали значительное снижение АЧТВ и тромбинового времени ТВ. Goodnough выполнял единичные тесты на факторы коагуляции в подгруппе 10 из 159 пациенток, получавших химиотерапию CMF, винкристин, преднизолон при IV стадии рака молочной железы и обнаружил, что ПВ (протромбиновое время) было значительно ниже, в то время как FVIII Ag:R был значительно выше ($p<0,05$) по сравнению с результатом 10 пациенток, закончивших химиотерапию. В исследовании Green et al. у 7 женщин (с) и 8 женщин (без) метастазов рака молочной железы, получавших CMF в течение 1 месяца уровень антигена протеина С ($p<0,01$) и протеина S ($p<0,01$) так же как и их активность значительно снижались на 8, 15 и 29 день терапии по сравнению с начальными значениями. Rella et al. отметили значительное снижение уровней и активности протеинов С и S ($p<0,01$) вскоре после начала 6 циклов адъювантной CMF терапии у 38 пациенток с раком молочной железы, в то время как уровень антитромбина оставался неизменным. Уровень PAI антигена значитель-

но повышался после начала терапии и оставался выше нормы ($p < 0,06$) в течение химиотерапии. Однако, уровни ни ТАТ, ни Д-димера, ни F 1+2 значительно не изменялись, и авторы сделали вывод, что CMF терапия не инициирует ДВС. Это подтверждается исследованиями, в котором серия коагуляционных тестов выполнялась перед каждым из 6 циклов адьювантной химиотерапии эпирубицином/циклофосфоамидом (ЕС) у 50 пациенток с раком молочной железы ($T_{1-4}N_{0-2}M_0$), не было выявлено изменений в уровнях протеина С и антитромбина, в то время как значение Д-димера ($p=0,008$) и уровень фибриногена были значительно ниже после первого и каждого последующего цикла ($p < 0,0001$). Однако, у пациентов, у которых в течение химиотерапии были случаи ТГВ, уровень Д-димера был значительно выше ($p < 0,0001$) до операции по сравнению с пациентами без случаев ТГВ. Интересно, что активность PAI оставалась выше нормы перед и после операции при химиотерапии; был сделан вывод, что значительно сниженная PAI-активность через три месяца после химиотерапии может быть проявлением эффекта химиотерапии по редукции опухоли. У большинства таких пациенток ($n=43$) так же происходили реологические измерения, хотя перед операцией и перед началом химиотерапии значение агрегации эритроцитов в условиях стаза или малого сечения и вязкости плазмы было значительно выше по сравнению с контрольной группой из 72 здоровых женщин. Снижение уровня протеина С в течение 9 циклов химиотерапии также было продемонстрировано Falanga у 16 пациенток с раком молочной железы IV стадии, большинство из которых получали CMF ($n=11$). Для сравнения, уровень протеина С оставался неизменным в контрольной группе из 16 пациенток, которые получали профилактику тромбозов варфарином. В течение 5 циклов химиотерапии цисплатин/ доксирубицин/ флуороурацилом у 26 пациенток с раком яичников III и IV стадии по FIGO Mirshahi серийно определял Д-димер, уровень которого снижался у 8 пациенток и оставался неизменным или выше нормы у 18. Информации по ТГВ не было. При исследовании 47 пациенток с раком яичников в стадии Ib-IV в течение 6 циклов первой линии PЕС химиотерапии (цисплатин и ЕС) по сравнению со значениями до операции и до химиотерапии значение уровня Д-димера и фибриногена значительно снизилось. Это сопровождалось нормализацией вязкости плазмы, в то время как активность PAI увеличилась, а протеин С, антитромбин и агрегация эритроцитов (стаз и малое сечение) остались неизменными. У 3 пациенток развился ТГВ после первого, у одной — после второго, а у других — после 4 цикла химиотерапии.

Главный вывод этих исследований: на уровень антитромбина не влияет ни один из вышеупомянутых составов химиотерапии, снижение уровня/активности протеинов С и S связано с CMF, но не с антрациклином. Это можно объяснить метотрексат-индуцированной ингибцией тетрагидрофолат-зависимого синтеза молекул-стартеров протеинового синтеза (нуклеиновые кислоты, пиримидин и пурин).

По нашим данным, уровень молекулярных маркеров тромбинемии ТАТ, F1+2, а также продуктов деградации фибрина/фибриногена после химиотерапии на основе препаратов платины значительно не увеличился у большинства больных раком яичников, а у 9 (33%) даже снизился (по сравнению со значениями до химиотерапии), значительно превышая, тем не менее, аналогичные значения в контрольной группе. Признаки коагулопатии потребления по окончании химиотерапии обнаруживались у 29%.

Поскольку концентрация молекулярных маркеров тромбофилии, отражающих уровень тромбинемии, комплексов ТАТ и F1+2 после химиотерапии не претерпела значительных изменений, а в ряде случаев была обнаружена тенденция к снижению, мы попытались выявить другие возможные причины протромботических эффектов химиотерапии. С этой целью мы исследовали уровень естественных антикоагулянтов и фибринолитическое звено гемостаза. Уровень и ак-

тивность протеина С после химиотерапии достоверно снижались, уровень АТIII снижался незначительно. Наряду с супрессией естественных антикоагулянтов, отмечалась и супрессия фибринолиза, о чем свидетельствовали повышение уровня ингибитора активатора плазминогена PAI-1 и удлинение времени лизиса эуглобулинового сгустка. Характерной особенностью тромбоцитарного звена было повышение ристоминин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Это косвенно может свидетельствовать об эндотелиальном повреждении и экспрессии фактора Виллебранда на эндотелии. Хотя в данном исследовании не исследовались такие маркеры повреждения эндотелия, как интерлейкин-1, фибронектин, фактор Виллебранда, оксид азота(II) NO, угнетение естественного антикоагулянта протеина С и фибринолиза (увеличение уровня PAI-1) также являются свидетельством повреждения эндотелия и «переключения» его антикоагулянтных свойств на прокоагулянтные.

Таким образом, химиотерапия обладает неоднозначным эффектом на систему гемостаза. Безусловно, позитивным является циторедуктивный эффект, уменьшающий поступление в кровоток тканевых тромбопластических субстанций, однако ятрогенный эффект химиотерапевтических препаратов заключается в дальнейшем повреждении эндотелия, в результате цитотоксического эффекта, что способствует снижению естественных противотромботических свойств эндотелия.

Безусловно, вопросы механизмов тромбогенных эффектов химиотерапевтических препаратов требуют дальнейшего изучения, однако при этом еще раз особо следует отметить, что выявить каузальную роль и оценить степень риска для каждого отдельного препарата довольно сложная задача, поскольку при этом одновременно присутствуют множественные «компрометирующие» исследование факторы, включая возраст, тип и стадию распространения опухоли, одновременное применение нескольких химиопрепаратов, а также наличие коморбидных заболеваний и других факторов риска тромбозов.

Из-за успешного внедрения антикоагулянтов для профилактики тромбозов при операциях по поводу рака женских половых органов (к сожалению, не в нашей стране) мало исследований посвящается эффекту длительной антикоагуляции на тромбоз во время химиотерапии. Edwards показал, что гепарин может отменять индуцированную химиотерапией активацию коагуляции. У 16 пациентов, получавших различные составы химиотерапии по поводу различных малигнизаций, было обнаружено значительное увеличение фибринопептида А FPA ($p < 0,01$) через 45 минут после назначения химиотерапии. Через 7—28 дней после химиотерапии у 8 из этих пациентов единичная инъекция 5000 МЕ нефракционированного гепарина сразу после забора крови и перед химиотерапией вызывала значительное снижение уровня FPA ($p < 0,02$) через 45 минут после химиотерапии. Авторы сделали вывод, что гепарин не только снижает образование тромбина, но и предотвращает ТГВ у таких пациенток.

Levine провел дважды слепое рандомизированное исследование очень низких доз варфарина для предотвращения тромбозэмболий при IV стадии рака молочной железы. Во время химиотерапии (тип химиотерапии не учитывался) и в течение одной недели спустя, 152 женщины с метастатическим раком молочной железы получали дневную дозу варфарина, подбираемую так, чтобы поддерживать МНО в пределах 1,3—1,9. Контрольная группа из 159 таких же пациенток получала плацебо. В группе варфарина ЛЭ возникла у 1 (0,65%) пациентки по сравнению с 6 женщинами с ТГВ и 1 (4,4%) с ЛЭ в плацебо группе. Профилактика варфарином значительно снижала риск ТГВ (около 85%, $p = 0,031$) в то время как лишь 1 пациент имел сильное кровотечение по сравнению с 2 в плацебо группе. В проспективном рандомизированном исследовании Falanga пациенты с метастатическим раком молочной железы, получавшие 9 циклов CMF ($n = 11$) или другие схемы одновременно получали либо очень низкие дозы вар-

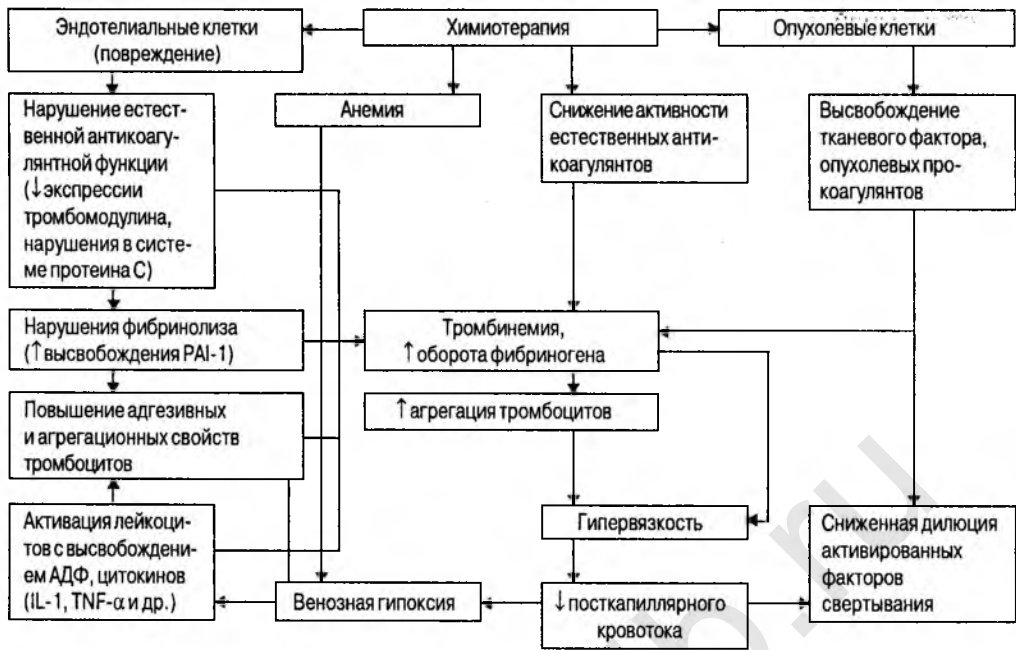


Рис. 95. Возможные эффекты химиотерапии на систему гемостаза.

фарина в ежедневно подбираемой дозе для поддержания INR между 1,3—1,9 ($n=16$) для тромбопрофилактики, либо плацебо ($n=16$). ТГВ развился у 2 из группы плацебо и ни у одной из группы варфарина. В дополнение, между 4 и 6 циклами значение Д-димера ($p=0,0028$), ТАТ ($p=0,0069$) и F1+2 ($p=0,001$), были значительно ниже у пациентов, которые получали варфарин, чем у тех, кто его не получал. Из 47 пациенток с Ib-IV стадией рака яичников в течение 6 циклов химиотерапии PEC, 6 пациенток получали тромбопрофилактику 3000 антиХа ЕД НМГ 1 раз в день подкожно (Цертопарин, Новартис, Neumberg, Germany) изза предыдущих пре- и постоперационных ТГВ. Между 1 и 5 циклами химиотерапии у 5 женщин без профилактики развился ТГВ и ни у одной их женщин получавших НМГ.

Центральный венозный катетер может быть одним из доступов для проведения химиотерапии. Такие пациенты предрасположены к тромбозам. Недавнее исследование изучало длительное назначение НМГ (один раз по 2500 МЕ в день п/к — Фрагмин, Pharmacia Apjon, Inc.) по сравнению с отсутствием антикоагуляции. НМГ снижал ТГВ верхних конечностей. ТГВ развился у 62% в группе без профилактики и 6 % в группе с НМГ.

В настоящее время обычная химиотерапия по поводу гинекологического рака, как правило, не сочетается с тромбопрофилактикой и кажется, что большинство пациентов, подвергающихся химиотерапии не нуждаются в тромбопрофилактике. Более того, общая профилактика у таких пациентов дорогостоящая и требует постоянного мониторинга.

Перед назначением тромбопрофилактики необходимо выявить пациенток, для которых профилактика будет успешной и, соответственно, метод профилактики. Следовательно, необходим поиск факторов риска тромбоза. В 4 исследованиях изучался статус менопаузы, индекс массы тела, количество положительных подмышечных узлов, состояние гормональных рецепторов и тип предшествующей операции у 2377 женщин подвергавшихся химиотерапии. ТГВ значительно чаще возникали у женщин в постменопаузе, у женщин с предшествующей

мастэктомией и у женщин с повышенным весом (индекс массы тела $>25 \text{ кг/м}^2$). Однако, ни количество положительных подмышечных узлов, ни состояние гормональных рецепторов не было предрасполагающим в этом отношении. Согласно результатам Iversen, Falanga и von Tempelhoff степень предсуществующей активации коагуляции может сигнализировать о риске тромбоза после операции и во время химиотерапии. Хотя исследований, касающихся рака молочной железы пока нет, авторы рекомендуют перед началом химиотерапии проводить тесты на APC-R, АФА, Д-димер, ТАТ, F1+2.

Таким образом, о профилактике тромбозов во время химиотерапии следует помнить у женщин в постменопаузе, у женщин с повышенным индексом массы тела (больше 25 кг/м^2) и при заведомо повышенной активации коагуляции. Также тромбопрофилактика необходима при наличии центрального венозного катетера у длительно иммобилизованных больных, при наследственных тромбофилиях (фактор V Leiden мутации, дефиците антитромбина и пр.).

Назначаются либо низкие дозы варфарина, либо НМГ, который особенно удобен для этой цели. Профилактику начинают за 3—4 дня перед химиотерапией и продолжают в течение всей терапии. Инъекции могут делать сами пациенты, так как большинство НМГ выпускают в удобном шприце-ручке. Еженедельно следует считать число тромбоцитов в первый месяц для того, чтобы зафиксировать гепарин-индуцированную тромбоцитопению (ГИТ).

В то же время у ряда больных с дополнительными факторами риска тромбоэмболических осложнений актуален вопрос перманентной антитромботической профилактики. В подобных случаях речь идет, конечно, об использовании оральных антикоагулянтов, в частности, варфарина. Это тем более интересно, что появились отдельные сообщения о противоопухолевом эффекте варфарина, который не связан с его антикоагулянтным эффектом, хотя роль системы гемостаза в метастазировании в настоящее время уже не вызывает сомнений.

Тем не менее, вопросы, связанные с применением противотромботических препаратов с целью комплексной терапии онкологических заболеваний требуют дальнейшего изучения.

Список литературы

1. Брагинская С.Г., Джангидзе М.А., Юсупова А.Н. Гормональная контрацепция у женщин с болезнью Виллебранда. Медико-социальные аспекты репродуктивного здоровья. Материалы пленума Российской ассоциации врачей акушеров-гинекологов. // М., Academia, с. 31—32.
2. Заволовская М.Ю., Макацария А.Д., Джангидзе М.А. Влияние оральной контрацепции на гемостаз и риск тромбозов. // Материалы II Российского форума «Мать и дитя», сентябрь 2000 г., с. 219—221.
3. Идрисова Л.Э. Клиническое значение контроля за параметрами гемостаза при проведении гормональной и внутриматочной контрацепции у женщин с пороками сердца. // Дисс... канд. мед. наук, 1995. — 161 с.
4. Куземин А.А. Аборт и его осложнения, контрацепция после аборта. // Контрацепция и здоровье женщины, 2000. — № 2. — с. 31—38.
5. Кулаков В.И. Планирование семьи в России: идеология и стратегия. // Планирование семьи. — Москва, 1997. — №1. — с. 8—14.
6. Кулаков В.Н., Вихляева Е.М., Прилепская В.Н., Ледина А.В., Роговская С.И. Факторы, определяющие выбор и использование методов регуляции фертильности в России. (Результаты многоцентрового исследования ВОЗ

1998—1999г.). // *Контрацепция и здоровье женщины*, 2000. — №1(5). — с. 3—10.

7. Нерсисян Р.А. Современные тенденции в развитии методов контрацепции (обзор литературы). // *Проблемы репродукции*, 1998. — №5. — с. 5—11.
8. Прилепская В.Н. Возрастные аспекты контрацепции. // *Акушерство и гинекология*, М., 1997. — №3. — с. 50—53.
9. Пузырькова И.Ф. Значение гемостазиологического скрининга при проведении гормональной контрацепции. // *Дисс... канд. мед. наук.* — Москва, 1998. — 127 с.
10. Савельева И.С. Молочные железы и гормональная контрацепция. // *Гинекология*, 1999. — №1. — с. 1—5.
11. Саидова Р.А. Современные контрацептивы. // *Русский медицинский журнал*, 2000. — № 8. — с. 453—460.
12. Серов В.И., Прилепская В.Н., Пшеничникова Т.Я. Практическое руководство по гинекологической эндокринологии. // Москва, 1995. — 326 с.
13. Серов В.Н., Никитин С.В. Новые возможности лечебного действия комбинированных оральных контрацептивов. // *Гинекология*, 2000. — № 2. — Т. 6. — с. 180—182.
14. Серов В.Н., Прилепская В.Н., Кожин А.А. Гормональная контрацепция. // *Контрацепция и здоровье женщины*, 2000. — №1(5). — с. 46—50.
15. Andersen B.S., Olsen J., Neilsen G.L., Steffensen F.K., Baech J., Sorensen H.T., Gregersen H. Third generation oral contraceptives and heritable thrombophilia as risk factor for non-fatal venous thromboembolism. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 28—31.
16. Asherson R.A. Antiphospholipid antibodies, malignancies and paraproteins. // *J. Autoimmun.* 2000; 15: 117—122.
17. Bajzar L. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and an antifibrinolytic pathway. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 2511—2518.
18. Baikwill F., Mantovani A. Inflammation and cancer: Back to Virchow? // *Lancet*, 2001; 357: 539—545.
19. Bennett B., Croll A.M., Robbie L.A., Herriot R. Tumor cell u-PA as a cause of fibrinolytic bleeding in metastatic disease. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 99: 570—574.
20. Bertina R.M. Molecular risk factor for thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 82: 601—609.
21. Bertina R.M. Molecular Risk Factors for thrombosis. // *Thrombosis Haemost.*, 1999; 82: 2: 601—609.
22. Bhandari M., Hirsh J., Weitz J.I., Shaughnessy S.G. The effect of heparin and low molecular weight heparin on osteoblastogenesis in vitro. // *Blood*, 1998; 92(10): 1474 (abst).
23. Bhandari M., Hirsh J., Weitz J.I., Shaughnessy S.G., Young E., Venner T.J. The effects of standard and low molecular-weight heparin on bone nodule formation in vitro. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 413.
24. Bick R.L., Arun B., Frenkel E.P. Disseminated intravascular coagulation. // *Haemostasis*, 1999; 29: 111—134.
25. Bloemenkamp K.W.H., Rosendaal F.R., Helmerhorst F.M., et al. Haemostatic effect of oral contraceptives in women who developed deep-vein thrombosis while using oral contraceptive. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 382.
26. Borsig L., Wong R., Feramisco J., Nadeau D.R. Varki N.M., Varki A. Heparin and cancer revisited: Mechanistic connections involving platelets, P-selectin, car-

- cinoma mucins, and tumor metastasis. // *Proc. Nail. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 3352—3357.
27. Brill-Edwards P., Ginsberg J.S. Safety of withholding antepartum heparin despite previous venous thromboembolism (VTE). // *Thromb. Haemost.*, 1999; 2097A [Suppl]: 664(abst).
 28. Camici M., Sagripanti A. Tissue factor pathway inhibitor. // *Minerva Med.*, 1999; 90: 25—32.
 29. Cardiovascular disease and steroid hormone contraception. // Report of a WHO Scientific group WHO. Technical Report. Series No 877, Geneva. World Health Organisation, 1998.
 30. Carroll V.A., Binder B.R. The role of plasminogen activation system in cancer. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25: 183—197.
 31. Chan W.S., Anand S., Ginsberg J.S. Anticoagulation of pregnant women with mechanical heart valves: a systematic review of the literature. // *Arch. Intern. Med.*, 2000; 160: 191—196.
 32. Coata G., Ventera F., Lombardini R., Ciufetti G., Cosmi E.V., Di Renzo G.C. Effect of low-dose oral triphasic contraceptives on blood viscosity coagulation and lipid metabolism. // *Contraception*, 1995; 52: 151—157.
 33. Collins J.A., Gunby J. Oral contraceptive use and the cardiovascular health of Canadian women. // *J. Soc. Obstet. Gynecol. Can.*, 1997; Feb: 125.
 34. Consensus Development Meeting: Metabolic aspects of oral contraceptives of relevance for cardiovascular diseases. // *Am. J. Obst. Gynecol.*, 1990; 162: 1335—1337.
 35. Douketis J.D., Ginsberg J.S., Burrows R.F., et al. The effects of long-term heparin therapy during pregnancy on bone density. // *Thromb. Haemost.*, 1996; 75: 254.
 36. Douketis J.D., Ginsberg J.S., Holbrook A., et al. A reevaluation of the risk for venous thromboembolism with the use of oral contraceptives and hormone replacement therapy. // *Arch. Intern. Med.*, 1997; 157: 1522.
 37. Edwards R.L., Silver J., Rickies F.R. Human tumor procoagulants: Registry of the Subcommittee on Haemostasis and Malignancy of the Scientific and Standardization Committee. International Society on Thrombosis and Haemostasis. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 69: 205—213.
 38. Effect different progestagens in low oestrogen oral contraceptives on venous thromboembolic disease and steroid hormone contraception. // *Lancet*, 1995; 1582—1588.
 39. Falanga A., Rickles F.R. Pathophysiology of the thrombophilic state in the cancer patient. *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25/2: 173—182.
 40. Fischer E.G., Ricwald M., Huang H.Y., Miyagi Y., Kubota Y., Mueller B.M., Ru W. Tumor cell adhesion and migration supported by interaction of a receptor-proteasome complex with its inhibitor. // *J. Clin. Invest.*, 1999; 104: 1213—1221.
 41. Ginsberg J.S., Wells P.S., Kearon C., et al. Sensitivity and specificity of a rapid whole-blood assay for D-dimer in the diagnosis of pulmonary embolism. // *Ann. Intern. Med.*, 1998; 129: 1006.
 42. Gordon S.G., Miclicki W.P. Cancer procoagulant — A factor X activator, tumor marker and growth factor from malignant tissue. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1997; 8/2: 73—86.
 43. Green D., Malieki K., Sushko E., Akhtar R., Soft G.A. Activated protein C resistance in cancer patients. // *Haemostasis*, 1997; 27: 112—118.
 44. Greer I.A. Thrombosis on pregnancy: maternal and fetal issues. // *Lancet*, 1999; 353: 1258.

45. Grodstein F., Stampfer M.J., Manson J.E., et al. Postmenopausal estrogen and progestin use and risk of cardiovascular disease. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 453.
46. Haim N., Lanir N., Hoffman R., Haim A., Tsalik M., Brenner B. Acquired activated protein C resistance is common in cancer patients and is associated with venous thromboembolism. // *Am. J. Med.* 2001; 110: 91—96.
47. Helmerhorst F.M., Bloemnkamp K.W.M., Rosendaal F.R., Vanderbroucke J.P. Oral contraceptives and Thrombotic disease. Risk of venous thromboembolism. // *Thrombosis and Haemostasis*, 1997; 78,1: 327—333.
48. Holmerhorst F.M., Bloemenkamp K.W.M., Briet E., van der Meer F. J.M., Rosendaal F.R., Vanderbroucke J.P. Factor V Leiden mutation and contraception. // *Gynecol. Endocrinol.*, 1996; 10(S2) 85—87.
49. Hulley S., Grady D., Bush T., et al. for the Heart and Estrogen Replacement Study (HERS) Research Group. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. // *JAMA*, 1998; 19: 650.
50. Iversen N., Lindahl A.K., Abildgaard U. Elevated TFPI in malignant disease: Relation to cancer type and hypercoagulation, // *Br. J. Haematol* 1998; 102: 889—895.
51. Jordan W.M. Pulmonary embolism. // *Lancet*, 1996; 347: 206.
52. Jespersen J. Plasma resistance to activated protein C: an important link between venous thromboembolism and combined oral contraceptives — a short review. // *Eur. J. Contracept. Reprod. Health. Care.*, 1996; 1: 3—11.
53. Kalweit G.A., Feindt P., Micek M., Gams E., Hellstern P. Markers of activated hemostasis and fibrinolysis in patients with pulmonary malignancies: Comparison of plasma levels in central venous and pulmonary venous blood. // *Thromb. Res.* 2000; 97: 105—111.
54. Kearon C., Gent M., Hirsh J., et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 910.
55. Khijtmans L.A.J., Den Heier M., Reitsma P.H., Heil S.G., Blom H.J., Rosendaal F.R. Thermolabile methylentetrahydrofolate reductase and factor V Leiden in the risk factor of deep-vein thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1998: 254—258.
56. Kluff C., Lansink M. Effect of oral contraceptives on haemostasis variables. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 315.
57. Kluff C., Lansink M. Effect of oral contraceptives on Haemostasis Variables. // *Thrombosis and Haemostasis*, 1997; 78: 1: 315—326.
58. Kutteh W.H. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1996; 174: 1584.
59. Laskin C.A., Bombardier C., Hannah, et al. Prednisone and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent fetal loss and autoantibodies: a randomised controlled trial. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 148.
60. Lee A.Y.Y., Levine M.N. The thrombophilic state induced by therapeutic agents in the cancer patient. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1999; 25/2: 137—146.
61. Levi M., de Jonge E., van der Poll T., ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. // *Thromb. Haemost.* 1999; 82: 695—705.
62. Levine M., Hirsh J., Gent M., et al. Optimal duration of oral anticoagulant therapy: a randomized trial comparing four weeks with three months of warfarin in patients with proximal deep vein thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 1.

63. Lupu C., Kruithof E.K., Kakkar V.V., Lupu F. Acute release of tissue factor pathway inhibitor after in vivo thrombin generation in baboons. // *Thromb. Haemost.* 1999; 82: 1652—1658.
64. Lupu C., Lupu F., Dennehy U., Kakkar V.V., Scully M.F. Thrombin induces the redistribution and acute release of tissue factor pathway inhibitor from specific granules within human endothelial cells in culture. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1995; 15: 2055—2062.
65. Maragoudakis M.E., Tsopanoglou N.E., Andriopoutou P., Maragoudakis M.M. Effects of thrombin/thrombosis in angiogenesis and tumor progression. // *Matrix. Biol.* 2000; 19: 345—351.
66. Meirik O. World Health Organization Collaborate Study of Cardiovascular Disease and Steroid Hormone Contraception: effect of different progestogens in low oestrogen oral contraceptives on venous thromboembolic disease. // *Lancet*, 1995; 346: 1582.
67. Monreal M., Fernandez-Llamazares J., Perandreu J., Urrutia A., Sahuquilito J., Contel E. Occult cancer in patients with venous thromboembolism: Which patients, which cancers. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 1316—1318.
68. Muir J.M., Hirsh J., Weitz J.I., et al. A histomorphometric comparison of the effects of heparin and low-molecular weight heparin on cancellous bone in rats. // *Blood*, 1997; 89:3236.
69. Poucher N.R., Farley T.M.M., Chang C.L., Marmot M.G., Meirik O. Safety of combined oral contraceptive pills. // *Lancet*, 1996; 347: 547.
70. Prandoni P., Lansing A.W.A., Cogo A., et al. The long-term clinical course of acute deep vein thrombosis. // *Am. Intern. Med.*, 1996; 125:1.
71. Quehenberger P., Loner U., Kapiotis S., et al. Increased levels of activated factor VII and decreased plasma protein S activity and circulating thrombomodulin during use of oral contraceptives. // *Thromb. Haemost.*, 1996; 76: 729.
72. Rai R., Cohen H., Dave M., et al. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriages associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). // *BMJ*, 1997; 514: 255.
73. Rao L.V.M. Tissue factor as a tumor procoagulant. // *Cancer Metastasis Rev.* 1992; 11: 249—266.
74. Reijnen H.B., Atsma W.J. Risk is highest during first month of use. // *Br. Med. J.*, 1995; 311: 1639.
75. Rickies F.R., Levine M., Edwards R.L. Hemo-static alterations in cancer patients. // *Cancer Metastasis Rev.*, 1992; 11: 237—248.
76. Rosendaal F.R. Risk Factors for thrombotic Disease. // *Thrombosis a. Haemostasis*, 1999; 82: 2: 610—619.
77. Rosendaal F.R., Bloemenkamp K.W.H., Helmerhorst F.M., et al. Enhancement by factor V Leiden mutation of risk of deep vein thrombosis associated with oral contraceptives containing a third-generation progestogen. // *Lancet*, 1995; 346: 1593.
78. Rosing J., Tans G., Nicolaes G.A., Thomassen M.C., Van Oerle R., Van der Poeg P.M., Heijen P., Hamulyak K., Hemker H.C. Oral contraceptives and venous thrombosis: different sensitivities to activated protein C in women using second and third-generation oral contraceptives. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 97: 233—238.
79. Rosing J., Tans G., Nicolaes G.A.F., et al. Oral contraceptives and venous thrombosis: different sensitivities to activated protein C in women using second- and third-generation oral contraceptives. // *Br. J. Haematol.* 1997; 97: 233.

80. Sanson B.J., Lensing A.W.A., Prins M.H., et al. Safety of low-molecular-weight heparin in pregnancy: a systemic review. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 81: 668.
81. Schmitt M., Kuhn W., Harbeck N., Graeff H. Thrombophilic state in breast cancer. // *Semin. Tromb. Hemost.*, 1999; 25/2: 157—172.
82. Shaughnessy S.G., Hirsh J., Bhandari M., Muir J.M., Weitz J.I., Young E. A histomorphometric evaluation of heparin-induced bone loss after discontinuation of heparin treatment in rats. // *Blood*, 1999; 93(4): 1231.
83. Shaughnessy S.G., Young E., Deschamps P., Hirsh J. The effects of low molecular-weight and standard heparin on calcium loss from fetal rat calvaria. // *Blood*, 1995; 86(4): 1368.
84. Sibai B.M. Thrombophilias and adverse outcomes of pregnancy: What should a clinician do? // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 50.
85. Sibai B.M., Lindheimer M., Hauth J., et al. Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 339: 667.
86. Sourander L., Rajala T., Raiha I. et al. Cardiovascular and cancer morbidity and mortality and sudden cardiac death in postmenopausal women on oestrogen replacement therapy. // *Lancet*, 1999; 352: 1965.
87. Spitzer W.O., Lewis M.A., Heinemann L.A., Thorogood M., MacRae K.D. Third generation oral contraceptives and risk of venous thromboembolic disorders: an international case-control study. // *BMJ*, 1996; 312: 83.
88. Taguchi O., Gabazza E.C. Yasui H., Kobayashi T. Yoshida M., Kobayashi H. Prognostic significance of plasma D-dimer levels in patients with lung cancer. // *Thorax*, 1997; 52: 563—565.
89. Task force on oral contraceptives WHO. A multigenic study of coagulation and haemostatic variables during oral contraceptives: variations with four formulations. // *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 1991; 98: 1117—1128.
90. The Consensus Committee Consensus development Meeting 1995. // *Combined oral contraceptives and cardiovascular gynecol Endocrinol disease*, 1996; 10: 1—5.
91. Thorogood M. Oral contraceptives and Myocardial infarction. New evidence leaves unanswered questions. // *Thrombosis and Haemostasis*, 1997; 781: 334—338.
92. Triplett D.A. Use of the dilute Russell viper venom time (dRVVT): Its importance and pitfalls. // *J. Autoimmun.*, 2000; 15: 173—178.
93. Van Rossum A.B., Pattynama P.M.T., Tjin E.R.T.A., et al. Pulmonary embolism: validation of spiral CT angiography in 149 patients. // *Radiology*, 1996; 201: 467.
94. Venous thromboembolic disease and combined oral contraceptives: results of international multigenic case-control study. World Health Organisation collaborative study of cardiovascular disease and steroid hormone contraception. // *Lancet*, 1995; 346: 1575—1582.
95. Vontempelhoff G.F., Dietrich M., Niemann F., Schneider D., Hommel G., Heilmann L. Blood coagulation and thrombosis in patients with ovarian malignancy. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 456—461.
96. Weitz I.C., Israel V.K., Liebman H.A. Tamoxifen-associated venous thrombosis and activated protein C resistance due to factor V Leiden. // *Cancer*, 1997; 79: 2024—2027.
97. Wells P.S., Brill-Edwards P., Stevens P., et al. A novel and rapid whole-blood assay for D-dimer in patients with clinically suspected deep vein thrombosis. // *Circulation*, 1995; 91: 2184.

98. Writing Group for the Women's health Initiative investigators. Risks and benefits of oestrogen plus progestine in healthy postmenopausal women — principal results from the Women's health Initiative randomized controlled trial. // JAMA, 2002; 288: 321—333.

akusher-lib.ru

Глава XVI.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) — редкое, однако тяжелейшее осложнение терапии гепарином, ведущее к развитию тяжелых форм тромбозов иммунного генеза. Кажется парадоксальным, что противотромботический препарат, отнесенный к категории «жизненно важных» World Health Organization (1997) вследствие немедленной антикоагулянтной активности, простоты лабораторного мониторинга и дешевизны, является причиной столь тяжелого, порой катастрофического, тромбоцитического синдрома, когда, по сути, призван предотвращать тромбообразование.

Как и АФС, ГИТ — клиничко-патологический синдром, который подразумевает: 1) один и более необъяснимых клинических проявлений в процессе гепаринотерапии (чаще тромбоцитопения с или без тромбоза; 2) циркуляцию гепарин-зависимых антител, обнаруживаемые лабораторно. Механизмы развития АФС и ГИТ также имеют много общего (см. далее).

Для клиницистов же интересно и то, что для ГИТ больше характерны венозные тромбозы и ТЭЛА, чем артериальные тромбозы. Одной из главных проблем, стоящих перед клиницистами в случае развития гепарин-индуцированных тромбозов является и то, что терапия их сложна, поскольку рутинная антикоагуляция неприемлема и может привести к катастрофическим результатам.

Все это еще раз свидетельствует о необходимости знаний о причинах, патогенезе, клинике и лечении ГИТ у широкого круга клинических врачей, включая не только гематологов, гемостазиологов, но и акушеров-гинекологов, кардиологов, терапевтов, хирургов и онкологов.

1. История открытия ГИТ

В 1957 году на V Научной конференции Международного Общества Ангиологов в Нью-Йорке, два врача — Rodger E. Weisman, 43 летний профессор, хирург из Dartmouth Medical School, и его резидент Richard W. Tobin представили 3-летний опыт наблюдения неожиданного развития периферического артериального эмболизма в процессе системной антикоагуляции гепарином у 10 пациентов Mary Hitchcock Memorial Hospital, в Ганновере, штат Нью-Хемпшир.

Описание одного клинического случая включало также фотографии эмболов из дистальной аорты и обеих подвздошных артерий. Автор описал эмболы как «необычно длинные, цилиндрической формы беловато-сероватого цвета, мягкие». Гистологически эмболы состояли в основном из фибрина, тромбоцитов и лейкоцитов; эритроциты встречались крайне редко. Состав этих эмболов отличался от состава тромбов сердца, которые имели темно красный цвет и содержали достаточное количество клеточных элементов крови в нормальной пропорции. Это позволило исследователям предположить, что источником эмболов был аортальный тромбоцитарно-фибриновый тромб.

Согласно наблюдениям R.E.Weismann и R.W.Tobin, начало артериального эмболизма приходилось на 7—15 день терапии гепарином. Множественные тромбозы произошли у 9 пациентов; из них шесть умерли в результате этих осложнений: два пациента перенесли обширные ампутации. Поскольку клинические тром-

боэмболические осложнения проявились отсрочено после начала гепаринотерапии, исследователи предположили, что имеет место иммунная реакция.

Также было отмечено, что дальнейший эмболизм прекращался при отмене гепарина. В результате хирурги рекомендовали быстро уменьшать дозу гепарина, а по возможности, отменять препарат, если на фоне его применения подозревается образование тромбоцитарно-фибриновых тромбов аорты. Кроме того, рекомендовалось агрессивное хирургическое вмешательство и удаление тромбов, так как это позволяло в ряде случаев сохранить конечности.

Таким образом, R.E. Weismann и R.W. Tobin впервые сформулировали клиническую дилемму: притом, что пациентам была необходима антикоагуляция, назначение гепарина усугубляло дальнейшую тромбоэмболию, что вызывало ощущение тщетности терапии гепарином.

Сообщение R.E. Weismann и R.W. Tobin было встречено весьма скептически, поскольку ни у одного из членов Большого Научного конгресса подобных наблюдений в практике не было.

Однако несколькими годами позже Brook Roberts и его коллеги из Университета Штата Пенсильвания в Филадельфии также описали пациентов с парадоксальными, необъяснимыми артериальными эмболиями на фоне гепаринотерапии. В течение 9 лет подобные осложнения были зарегистрированы у 11 пациентов. Все пациенты получали гепарин в течение 10 дней и более до появления артериальной эмболии. В. Roberts также отмечал нестандартный состав сгустков: они были бледные и состояли в основном из фибрина и тромбоцитов. У всех пациентов развились множественные эмболии. Из 4 смертей три были связаны с эмболией церебральных сосудов, и один — с эмболией мезентериальной артерии.

Научная группа Roberts попыталась выяснить вероятный патогенез эмболии аорты «тромбоцитарно-фибриновыми сгустками», которая встречалась чаще, чем тромбоэмболия сердца. Более того, высказывалось предположение, что тромб изначально формировался в области повреждения аорты.

Roberts et al. также предположили, учитывая отсроченность тромбоэмболических осложнений, что имеет место иммунная реакция, которая основана на взаимодействии типа «антиген-антитело» в результате появления так называемого «антигепаринового фактора».

Следующим важным этапом в истории развития представлений о патогенезе ГИТ было открытие, что у пациентов с тромбоэмболическими осложнениями на фоне гепаринотерапии отмечается падение количества тромбоцитов. До 1970 года подсчет количества тромбоцитов не был рутинным лабораторным анализом. Однако в 1969 году у 78-летнего пациента с раком простаты и ТЭЛА Natelson et al. отметили значительное падение количества тромбоцитов к 10 дню терапии. Однако здесь ирония судьбы заключалась в том, что в этом случае парадоксальные тромбозы не развились. А поскольку помимо этого отмечались признаки ДВС-синдрома (снижение уровня фибриногена $< 0,5$ г/л, повышение продуктов деградации фибрина/фибриногена), то падение количества тромбоцитов расценили как тромбоцитопению потребления, характерную для ДВС. Однако обращает на себя внимание тот факт, что *in vitro* исследования показали снижение количества тромбоцитов в цитратной плазме пациента при добавлении гепарина. А это указывало на причинно-следственную связь между гепаринотерапией и тромбоцитопенией.

Однако связь между тромбоцитопенией, гепаринотерапией и тромбоэмболизмом была признана только после исследований сосудистого хирурга D. Silver и двух резидентов клиники — G.R. Rhodes и R.H. Dixon. Они предоставили, помимо клинических проявлений, лабораторные подтверждения взаимосвязи. У первых двух пациентов, описанных Silver et al. развилась тяжелая тромбоцитопения (8 и 10×10^9 /л соответственно) наряду с инфарктом миокарда, петехиальной сыпью и гепаринорезистентностью. После отмены гепарина количество тромбоцитов восстанавливалось до нормальных значений, тогда как при возобновлении гепаринотерапии

через 1 неделю после восстановления количества тромбоцитов, вновь быстро развивалась тромбоцитопения.

Иммунный генез синдрома был подтвержден лабораторно.

Во-первых, было обнаружено повышенное потребление тромбоцитов, о чем свидетельствовало повышение количества мегакариоцитов, а также немедленное развитие тромбоцитопении после возобновления гепаринотерапии.

Во-вторых, у обоих пациентов была подтверждена циркуляция некой субстанции, активирующей тромбоциты: сыворотка пациентов (но не контрольная сыворотка) вызывала агрегацию донорских нормальных тромбоцитов в присутствии гепарина.

В-третьих, агрегирующая субстанция была идентифицирована как IgG путем фракционирования плазмы пациентов, что продемонстрировало наличие гепарин-зависимой, комплемент-фиксированной активности IgG-фракции.

Последующие наблюдения позволили в 1977 году Rhodes et al. заявить, что ГИТ — это отличный от других специфичный синдром. Авторы также расценили более ранние сообщения Weismann и Tobin, а Roberts et al, как случаи ГИТ — синдрома. Таким образом, впервые была выдвинута концепция иммуно-обусловленного гиперкоагуляционного состояния, предрасполагающего в развитии артериального тромбоза в ассоциации с тромбоцитопенией.

Следующий этап исследований патогенеза ГИТ был посвящен изучению антител. В 1975 году, National Institutes of Health investigators Fratantoni et al. описали пациента с тяжелой тромбоцитопенией ($4 \times 10^3/\text{л}$) и ТЭЛА после назначения терапевтической дозы гепарина с целью терапии ТГВ. После отмены препарата количество тромбоцитов нормализовалось. In vitro-исследования показали, что сыворотка пациента вызывала не только агрегацию, но и высвобождение серотонина из нормальных донорских тромбоцитов в присутствии гепарина. И хотя было заявлено о факторе, активирующем тромбоциты, доказательств того, что это — антитело не было представлено.

В течение последующих 5 лет, по меньшей мере, 8 исследовательских групп подтвердили, наблюдая пациентов с ГИТ, наличие гепарин-зависимых, активирующих тромбоциты антител. Babcock et al. (1976) при этом заявили, что «этот синдром может развиваться гораздо чаще, чем это подозревалося».

Дальнейшие исследования показали, что артериальные и венозные тромботические осложнения наряду с тромбоцитопенией могли развиваться уже на 5-й день терапии гепарином, при этом обнаруживались и тромбоцит-активирующие антитела.

В 1979 году Jonatan Tonn et al. сообщили, что «белый» тромб характеризует ГИТ и состоит из фибрина и агрегированных тромбоцитов. Исследователи применяют термин «белый сгусток» для описания артериального тромба. Однако, как это ни парадоксально, эта же группа исследователей сделала первое сообщение о возникновении phlegmasia cerulea dolens, которая прогрессировала вплоть до развития гангрены конечностей у двух пациентов с ГИТ (при этом имел место синдром «красного» венозного тромба, но не «белого артериального»). Хотя из этого следовало, что при ГИТ синдроме возможно развитие не только артериальных («белых») тромбов, но и венозных, тем не менее, термин «синдром белого сгустка» фактически стал синонимом ГИТ-синдрома и в Европе, и в Северной Америке, несмотря на неспецифичность «белого» тромба для ГИТ (тот же «белый» тромб обнаруживается, например, и при АФС).

И все было бы хорошо, если бы определенное стечение обстоятельств в процессе изучения синдрома ГИТ вдруг полностью не «смешало карты». В 1974 году Klein и Bell решили приступить к изучению влияния дозы и происхождения гепарина на частоту возникновения тромбоцитопении после того, как у двух их пациентов развились тяжелые тромбоцитопения, тромботические осложнения и признаки ДВС с гипофибриногенемией и гемолитической микроангиопатией, что было расценено как ГИТ. Только в 1980 году исследователи Bell и Royall пришли к заключению, что частота возникновения тромбоцитопении была выше у пациентов, получавших

бычий гепарин — 26% (из бычьих легких), чем у тех, кто получал свиной гепарин (из слизистой кишечника свиней) — 8%.

Однако эти исследователи одновременно обнаружили, что ни у одного из 52 обследованных пациентов не наблюдалось циркуляции тромбоцит-активирующих антител. Вот это-то обстоятельство и дало повод Bell бросить вызов представлению, что ГИТ имеет иммунно-обусловленный феномен.

Более того, позже появились данные других исследователей, которые отмечали развитие тромбоцитопении на фоне гепаринотерапии в отсутствие антител и тромботических осложнений.

Результатом этой «случайной находки» стала большая путаница в терминологии, так как термины «гепарин-индуцированная тромбоцитопения» или «гепарин-связанная тромбоцитопения» применялись ко всем пациентам, у которых развивалась тромбоцитопения на фоне гепаринотерапии — будь то с циркулирующей антител или без антител.

Тем не менее, другие исследователи все еще продолжали регистрировать случаи развития тромбоцитопении на фоне гепаринотерапии с развитием тяжелых тромботических осложнений и циркуляцией антител. Исследователи из Австралии, во главе с доктором Beng Chong (1981) опубликовали в журнале «Ланцет» свои наблюдения и выделили две формы ГИТ — иммунную и неиммунную.

В 1989 году, Platelet Immunobiology Workshop в Милуоки, была формально принята классификация ГИТ. Раннюю неиммунную тромбоцитопению на фоне гепаринотерапии обозначили как ГИТ I, а иммунную, с относительно поздним началом — ГИТ II. Эти термины до сих пор используются для дифференциации механизма ГИТ и, соответственно, степени тромбоопасности.

Следующим важным этапом в изучении ГИТ явилась разработка и оптимизация методов лабораторной диагностики. Большинство клинических лабораторий занялось изучением агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с диагнозом ГИТ. Однако основной проблемой, с которой сталкивались исследователи, была низкая чувствительность метода, а также технические ограничения в связи с необходимостью одновременного исследования большого количества образцов пациентов и контроля.

В 1983 году научные работники лаборатории Макмастерского Университета (Канада) John Kelton и Dave Sheridan преодолели проблему низкой чувствительности, обнаружив, что отмытые тромбоциты в суспензии с буфером, содержащим физиологические концентрации бивалентных катионов очень чувствительны к активации под действием ГИТ-сыворотки (сыворотки пациентов с ГИТ). Этот метод исследования, известный как «исследование реакции высвобождения серотонина» — SRA (platelet serotonin release assay) — был модифицирован из метода с отмытыми тромбоцитами, разработанного в лаборатории доктора Fraser Mustard Макмастерского Университета. В частности, необходимость наличия в реакционной системе физиологических концентраций кальция (бивалентные катионы) была обоснована тем, что «артефакты» в процессе агонист-индуцированной активации тромбоцитов были вызваны низким содержанием кальция в цитратной плазме. Одним из примеров такого артефакта, обусловленных наличием цитрата, была двухфазная агрегация, вызываемая агонистом АДФ. В присутствии же физиологических концентраций кальция наблюдалась однофазная кривая агрегации тромбоцитов под действие АДФ.

В дальнейшем метод Kelton и Sheridan последовательно был усовершенствован другими исследователями.

Sheridan et al. также отметили важную особенность: активация тромбоцитов строго зависит от концентрации гепарина в ГИТ-сыворотке — активацию тромбоцитов вызывали терапевтические (0,05—1 Е/мл), но не высокие (10—100 Е/мл) концентрации гепарина, что свидетельствовало о необходимости, по крайней мере, двухразовой экспозиции гепарина для высвобождения серотонина из тромбоцитов и, соответственно, активации тромбоцитов (т.н. «two point» — профиль ГИТ).

Позже, Greinacher et al. (1994) продемонстрировали, что высокие концентрации гепарина в растворе вызывают высвобождение тромбоцитарного фактора 4 (PF4) из комплекса PF4 — гепарин, ковалентно связанного с твердой фазой. Это, соответственно, сопровождалось и уменьшением связывания ГИТ-антител с поверхностью. Таким образом, было предположено, что, вероятно ингибция активации тромбоцитов высокими концентрациями гепарина связана с подобным же механизмом «разрушения» мультимолекулярных антигенных комплексов на тромбоцитарной поверхности.

Дальнейшие исследования механизмов активации отмытых тромбоцитов ГИТ-сывороткой положили начало открытию фундаментально нового патологического механизма ГИТ-индуцированных тромбоцитопенических и тромботических расстройств. Первым толчком к этому открытию стало открытие Kelton et al. критической роли Fc-рецепторов тромбоцитов в процессе активации тромбоцитов.

В 1992 году Jean Amiral, сотрудник лаборатории Dominique Meyer, впервые сделал сообщение, что антиген, распознаваемый ГИТ-антителами, представляет собой комплекс гепарина с PF 4-эндогенным протеином альфа-гранул тромбоцитов. Это важное открытие способствовало интенсивному изучению патогенеза ГИТ сразу несколькими лабораториями, а с другой стороны легло в основу разработки иммуноферментной техники определения ГИТ-антител.

История разработки методов терапии ГИТ, по сути, началась с 1982 года, если не считать хирургические, порой «кровоавые», методы, как ампутации конечностей в случае развития гангрены и тромбэктомия.

В 1982 году у 48-летнего американца, который путешествовал во время отпуска, развились ТГВ и ТЭЛА во время трансатлантического перелета в Германию. Лечение гепарином осложнилось тромбоцитопенией и прогрессированием венозного тромбоза. Профессор Job Harenberg из Гейдельбергского Университета, который завершил первую стадию исследования экспериментального гликозаминогликанового антикоагулянта данапароида, попросил этот препарат у производителей (NV Organon, Нидерланды) для лечения пациента. Результат терапии был обнадеживающим: количество тромбоцитов вернулось к норме, а венозные тромбы лизировались. В течение последующих 6 лет у данного пациента развивались эпизоды рецидивирующих тромбозов, которые также успешно купировались данапароидом.

В дальнейшем начались крупные рандомизированные исследования по применению данапароида в клинической практике.

Параллельно с исследованием возможностей применения данапароида для лечения ГИТ II велись исследования по применению других противотромботических препаратов.

С давних пор человечество использовало лекарственные пиявки (*Hirudo medicinalis*) для медицинских целей. Наблюдения свидетельствовали, что пиявки могут предотвращать свертывание крови. В связи с этим еще в начале 20 века делались попытки использовать препараты из нативного сырья пиявки с лечебной целью. Однако такая терапия на то время была весьма дорогостоящей и обходилась в день в 75 Рейхсмарок, что было эквивалентно ежемесачному заработку фабричного рабочего, в результате такая терапия была расценена как неосуществимая.

Тем не менее, после Первой мировой войны Haas в Университете Justus-Liebig в Гиссене приступил к экспериментам с использованием сырых экстрактов голов пиявок во время гемодиализа.

Основным осложнением в процессе экспериментов на животных были кровотечения. Однако первые исследования у пациентов оказались обнадеживающими — геморрагических осложнений при гемодиализе не наблюдалось.

В 1956 году доктором F. Markwardt из Erst-Moritz-Arndt — Университета в Грейфсвальде была начата работа по выделению активного компонента из экстракта пиявок. Оказывается, по сей день пожилые крестьяне из предместий Грейфсвальда вспоминают, как зарабатывали карманные деньги, собирая пиявок для исследований.

Однако только производство больших количеств рекомбинантного гирудина позволило оценить противотромботический эффект этого прямого ингибитора тромбина в клинических исследованиях.

Доктор Andreas Greinacher, сотрудник Justus-Liebig-университета в Гиссене, впервые использовал рекомбинантный гирудин — лепирудин — для антикоагуляции у пациента с острым ГИТ II после трансплантации сердца. Позже Greinacher перешел в Грейфсвальд, где исследовал возможности применения гирудина у пациентов с ГИТ II. В результате препарат был одобрен для парентерального введения с целью лечения ГИТ II как Евросоюзом (1997), так и США (1998).

Исследования с использованием варфарина для антикоагуляции у пациентов с ГИТ II и венозными тромбозами показали, что он может усугубить тромбоз и у некоторых пациентов способствует развитию варфарин-индуцированных некрозов кожи. Эти наблюдения еще раз подтвердили сложные механизмы формирования тромбофилии у пациентов с ГИТ II и нарушении прокоагулянтно-антикоагулянтного баланса при лечении ГИТ II антагонистами витамина К.

В последние годы ГИТ II рассматривается как синдром, характеризующийся множеством протромботических нарушений, включая не только активацию тромбоцитов и эндотелиальных клеток, но и значительную активацию коагуляционных путей свертывания крови. Такая концепция является основой для разработки оптимальной противотромботической терапии, направленной на снижение тромбообразования у пациентов с ГИТ II.

2. Клинические проявления, клинико-лабораторная диагностика, дифференциальная диагностика

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) — самостоятельный клинико-патологический синдром, вызванный образованием тромбоцит-активирующих антител, распознающих в качестве антигенной мишени комплексы гепарин-тромбоцитарный фактор 4 (гепарин/PF4).

Выраженная ассоциация ГИТ с венозными и артериальными тромбозами, на первый взгляд, представляет поразительный парадокс. В то же время тромбоцитопения сама по себе встречается в медицине довольно часто, являясь неспецифическим лабораторным признаком, порой даже не всегда распознаваемым в случае отсутствия каких-либо клинических проявлений. Таким образом, тромбоцитопения с или без тромботических проявлений в процессе гепаринотерапии не обязательно указывает на ГИТ. В то же время многие клинико-патологические проявления других заболеваний могут напоминать таковые при ГИТ.

Следует заметить, что ГИТ может быть причиной широкого спектра тромботических и других осложнений (табл. 86). Поэтому лабораторное выявление специфичных для ГИТ антител является критическим условием для диагностики ГИТ и соответствующей терапии.

Таблица 86.

Тромботические и прочие проявления ГИТ II (по данным Warkentin et al., 1997).

Венозные тромбозы	Артериальные тромбозы	Другие проявления
Тромбоз глубоких вен (50%: свежий, прогрессирующий, рецидивирующий); нижние конечности (часто билатерально), верхние конечности (часто в области венозного катетера).	Артериальные илеофemorальный тромбоз с острой ишемией конечностей/ инфарктом (5—10%) или инфаркт спинного мозга (редко).	Гепарин-индуцированные повреждения кожи в месте инъекции гепарина (10—20%): — «эритематозные» бляшки» — некроз кожи

Венозные тромбозы	Артериальные тромбозы	Другие проявления
Варфарин-индуцированная венозная гангрена конечностей (у ~50% получающих терапию варфарином).	Острый тромботический инсульт (3—5%), инфаркт миокарда (3—5%).	Кумарин-индуцированные некрозы кожи, осложняющие ГИТ, с вовлечением «центральных» участков — грудь, живот, бедра и т.д. (редко).
Легочный эмболизм (25%): с или без правостороннего внутрипредсердного или внутрижелудочкового тромба	Внутрижелудочковый и внутрисердечный тромбоз (in situ или в результате эмболизации ТГВ).	Острые системные реакции после болюсного внутривенного введения гепарина (~25% сенсibilизированных пациентов из всех, получающих болюс): — воспалительные: лихорадка, озноб, гиперемия; — кардиореспираторные: тахикардия, гипертензия, диспноэ; редко кардиопульмонарный шок; — желудочно-кишечные: тошнота, рвота, диарея; — неврологические: транзиторная глобальная амнезия, головные боли.
Тромбоз синусов мозга (редко, <3%).	Тромбоз других артерий (редко): верхних конечностей, почек, брыжейки, спинного мозга и др.	
Надпочечниковые геморрагические инфаркты: двусторонние с острой или хронической надпочечниковой недостаточностью или односторонние (редко).	Эмболизация тромбов сердца или восходящей аорты может также вызвать микрососудистые ишемические синдромы.	
Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови (ДВС) с гипофибриногенемией и приобретенным дефицитом естественных антикоагулянтов, ведущее к множественным венозным и артериальным тромбозам и органной недостаточности.		

Несмотря на то, что концепция иммунных тромбозов или, как их еще называют, антитело-опосредованных тромбозов (АОТ) относительно нова, взгляд на их патогенез претерпел значительные изменения: на сегодняшний день доминирует концепция синергизма между белками плазмы или тромбоцитов и антителами в связывании их с клеточной мембраной и последующей индукцией тромбоза. В настоящее время к АОТ относят гепарин-индуцированную тромбоцитопению (ГИТ) и связанный с ней тромбоз, тромбоз при АФС и новый тромботический синдром, обусловленный наличием антител к фактору Виллебранда (vWF).

Основные механизмы АОТ лучше всего изучены при ГИТ.

Различают два типа ГИТ: ГИТ-I — неидиосинкратическая и ГИТ-II — идиосинкратическая тромбоцитопения. ГИТ-I наблюдается чаще, характеризуется

ранним началом (уже в первые дни гепаринотерапии), легкой тромбоцитопенией (количество тромбоцитов снижается на 10—30%), связанной, возможно, со способностью гепарина усиливать небольшую активность тромбоцитов и вызывать гиперагрегацию; тромбоцитопения носит транзиторный характер и при продолжении гепаринотерапии может спонтанно исчезать. Клинически ГИТ-I обычно не проявляется (табл. 87).

ГИТ-II — спорадические изолированные случаи тяжелой тромбоцитопении с поздним началом (на 5—14-й день), которые являются иммунообусловленными и часто ассоциируются с катастрофическим тромбозом, реже — с кровотечением.

Таблица 87.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения тип-I — ГИТ-I (неиммунная, неидиосинкратическая).

Эпизод тромбоцитопении развивается относительно рано в основном в первые дни терапии гепарином или даже в первые часы.

«Мягкая» тромбоцитопения: падение числа тромбоцитов на 10—30% от исходного уровня.

Клинические проявления отсутствуют.

Механизм: гепарин-индуцированная неиммунная агрегация тромбоцитов.

Тромбоцитопения носит транзиторный характер, число тромбоцитов нормализуется при продолжающейся гепаринотерапии.

Терапия: не требуется.

Взаимосвязь с ГИТ-II: не известно, вероятно, отсутствует.

ГИТ-II чаще наблюдается после начала применения терапевтических доз нефракционированного гепарина (НГ), реже — после низких доз НГ, пентозанполисульфата или гемоклара. Исключительно редки случаи ГИТ-II при:

1. применении очень низких доз НГ, используемых для поддержания катетера открытым или для покрытия стенок катетера легочной артерии;
2. применении низкомолекулярных гепаринов (НМГ), таких как фраксипарин, эноксапарин, фрагмин или сандопарин;
3. назначении полисульфатированного хондроитин-сульфата (Артепарон), используемого не в качестве антитромботического средства, а для лечения некоторых дегенеративных заболеваний суставов.

Тромбоцитопения при ГИТ-II, являясь иммунообусловленной, обычно наблюдается на 3—15-й день от начала гепаринотерапии, но может возникнуть и в течение нескольких часов, если больная ранее была сенсibilизирована. Количество тромбоцитов при этом может составлять от 40 до 60×10^9 /л, в редких случаях при снижении количества тромбоцитов $< 30 \times 10^9$ /л ГИТ-II ассоциируется с тяжелым кровотечением. По данным некоторых авторов, при снижении количества тромбоцитов на 50% от нормы возможно развитие гепарин-индуцированного тромбоза.

При ГИТ-II ДВС обнаруживается редко. Кровотечение, хотя возникает редко, может быть тяжелым. В таблице 88 представлены основные клинические характеристики ГИТ-II.

При мониторинге количества тромбоцитов было отмечено, что у большинства больных нет симптоматики в момент, когда тромбоцитопения появляется впервые. Кровотечения из хирургических ран встречается нечасто, если только нет серьезных нарушений коагуляции.

Однако большинство тяжелых клинических осложнений ГИТ-II — это парадоксальное развитие тромбозов (синдром гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбозов ГИТТ). Таким образом, тромбоцитопения служит, в первую очередь, сигналом опасности надвигающегося тромбоза, который может приводить к летальному исходу у 10% больных.

Клинические характеристики гепарин-индуцированной тромбоцитопении тип II (ГИТ-II).

1. Обычно развивается на 3—14-й день (в среднем на 10-й день).
2. Значительное падение количества тромбоцитов обычно 30 000—60 000, однако может снижаться до 5 000 на мкл; падение количества тромбоцитов на 50% от исходного уровня.
3. Факторы риска:
 - А) ГИТ-II может развиваться при любом виде введения гепарина:
 - наиболее часто при длительной инфузии нефракционированного гепарина в терапевтических дозах;
 - редко вследствие использования гепаринизированных катетеров (3Ед/ч) или промывания катетеров гепарином (500Ед/день);
 - чаще при внутривенной инфузии, чем при подкожном введении гепарина;
 - наиболее часто ГИТ-II вызывает бычий НГ, реже свиной НГ, значительно реже — НМГ.
 - Б) Может развиваться в течение нескольких часов у пациентов, которые ранее также получали гепарин.
 - В) Чаще встречается в послеоперационном периоде, в том числе после кесарева сечения, в основном венозный тромбозэмболизм.
 - Г) В случае наличия кардиоваскулярных заболеваний или при кардиохирургических вмешательствах, в основном, артериальные тромбозы.
4. Риск не зависит от:
 - а) пола;
 - б) возраста;
 - в) наличия наследственного дефицита или других дефектов свертывания крови.

О возникновении тромбоцитопении в рамках ГИТ-II можно думать при очевидной резистентности к гепарину или при развитии после болюсной внутривенной инъекции гепарина синдрома, включающего озноб, лихорадку и другие системные симптомы. В случае отмены гепарина, количество тромбоцитов нормализуется в течение 1—10 дней. Если гепарин не отменяется, количество тромбоцитов крайне редко может нормализоваться спонтанно, что является одним из основных отличительных признаков ГИТ-II от ГИТ-I. Тромбоз при ГИТ-II может возникнуть как после развития тромбоцитопении, так и одновременно с ней; как в артериях, так и в венах. Причина, по которой тромбоз развивается в тех или иных сосудах, до сих пор не ясна. Однако по данным Boshkov et al. (1997) артериальные тромбозы возникают чаще у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями, особенно после коронарных шунтирований или других форм сосудистой хирургии, получающих гепарин, в то время как венозные — наиболее часто у больных с предшествующими хирургическими вмешательствами. Артериальные тромбы в большинстве случаев состоят, в основном, из тромбоцитов. При этом наиболее часто поражаются артерии нижних конечностей, хотя могут быть вовлечены в процесс и другие (центральной нервной системы, коронарные — с развитием инфаркта миокарда, верхних конечностей, мезентериальные, почечные или спинальные).

Венозные тромбозы при ГИТ-II могут осложняться или не осложняться легочной эмболией. Редким, но грозным проявлением венозного тромбоза может быть тромбоз надпочечниковых вен, ведущий к кровоизлиянию в надпочечники и острой надпочечниковой недостаточности.

Как уже указывалось, основной парадокс ГИТ — развитие тромбозов, но не геморрагий. Спонтанные геморрагии не характерны для ГИТ, и петехии обычно не наблюдаются даже при количестве тромбоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$. Объяснением этому феномену может быть значительная активация тромбоцитов *in vivo* и выброс прокоагулянтных субстанций — микрочастиц тромбоцитов. Таким образом, ГИТ является тромбофилическим состоянием, сопровождающимся гипертромбинемии-

ей наряду с активацией агрегации тромбоцитов. Клинически ГИТ-обусловленные тромбозы могут возникать, по крайней мере, 4 путями.

Во-первых, тромбоз может предшествовать гепаринотерапии, в связи с чем гепарин и назначается.

Во-вторых, ГИТ может клинически проявляться в форме свежих тромбозов (почти у 50%) на фоне гепаринотерапии и падения количества тромбоцитов.

В-третьих, тромбоз может возникнуть даже после прекращения гепаринотерапии и раннего восстановления количества тромбоцитов.

Наконец, тромбоз может произойти после полного восстановления количества тромбоцитов. Возможно, в таких случаях субклинический тромбоз уже развивается в процессе тромбоцитопении, однако клинически проявляется позже.

С нашей точки зрения, здесь может присутствовать и еще один дополнительный важный фактор: если гепарин был назначен, то соответственно еще до его назначения присутствовали факторы риска развития тромбоза. При отмене гепарина и до назначения альтернативного противотромботического препарата к тромбофилии, обусловленной ГИТ, присоединяются и «старые» факторы риска тромбоза, в связи с чем назначается в начале гепарин. Таким образом, происходит потенцирование тромбофилии, которая реализуется в форме тромбоза. Если же с целью терапии ГИТ назначаются кумариновые производные, то риск тромботических осложнений также может повышаться вследствие быстрого падения уровня протеина С, в особенности у пациентов с изначальными нарушениями в системе протеина С. Термин синдром гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбозов в последнее время часто стал использоваться для описания пациентов с тромбозами, связанными с ГИТ.

Клинические факторы в ряде случаев могут предопределять возможную локализацию тромбоза в условиях ГИТ. Так, в случаях предшествующего инструментального повреждения сосудистой стенки (недавняя ангиография, венозный катетер и пр.) тромбоз, как правило, развивается в участках повреждения сосудистой стенки.

Несмотря на разноречивые данные относительно частоты артериальных и венозных тромбозов при ГИТ, большинство исследователей на сегодняшний день склоняются к мысли, что преобладают венозные тромбозы. При этом ТЭЛА развивается гораздо чаще, чем артериальные тромбозы. Если выстроить тромботические осложнения, которые наиболее часто ассоциируются с ГИТ, в возрастающем порядке по тяжести, то ряд будет следующий: дистальные ТГВ <проксимальный ТГВ<двусторонний ТГВ (проксимальный или дистальный)< <двусторонний проксимальный ТГВ<легочный эмболизм.

Таким образом, если у пациентов, получающих гепарин, развивается неожиданно тромбоз или тромбоземболия, наиболее вероятно, что он вызван ГИТ. Поэтому независимо от масштабов тромбоза, у каждого пациента с появлением тромбоза на фоне гепаринотерапии необходим подсчет количества тромбоцитов для оценки ситуации и подтверждения, что ГИТ может быть причиной тромбоза.

ТГВ нижних конечностей — наиболее частое тромботическое проявление ГИТ. В большинстве случаев венозный тромбоз обширен и нередко является двусторонним. Согласно данным Warkentin и Houg et al. (1998) отмечается некоторое превалирование левостороннего тромбоза нижних конечностей. Возможно, это связано с тем, что левая подвздошная вена пересекается с левой подвздошной артерией, что способствует увеличению венозного давления в левой конечности.

Состояние беременности еще более усиливает этот феномен, чем объясняется значительное доминирование (>95%) ТГВ левой нижней конечности.

ТГВ верхних конечностей встречаются, в среднем, у 5% пациентов с ГИТ. Как правило, ТГВ развивается в этих случаях в месте введения внутривенного катетера. В большинстве случаев (около 86%) развивается правосторонний тромбоз, так как, как правило, катетеры устанавливаются в правую яремную вену или другие центральные сосуды справа. При этом происходит наложение системного факто-

ра (ГИТ) и местного — повреждение сосудистого эндотелия, что ведет к тромбированию верхних конечностей.

ГИТ является существенным фактором риска рецидива венозных тромбозов. Так, по данным Gallus et al. (1987) у 3 из 9 пациентов с ГИТ отмечались рецидивирующие венозные тромбозы (по сравнению с 12 из 232 пациентов без ГИТ).

Венозная гангрена нижних конечностей является одним из клинических синдромов, ассоциированных с ГИТ, при этом антикоагуляция кумариновыми производными, как это, на первый взгляд, ни парадоксально, играет важную патогенетическую роль. Венозная гангрена конечностей — это акральная некроз, развивающийся в конечностях при ТГВ. Дополнительные признаки включают: а) отсутствие окклюзии крупных артерий (пульс определяется пальпаторно или с помощью доплерометрии); б) обширная тромботическая окклюзия крупных и мелких вен, а также венул; в) характерны надтерапевтические значения МНО, как правило, $>4,0$.

Антикоагулянтная терапия варфарином или другими кумаринами является критическим фактором прогрессирования ТГВ вплоть до венозной гангрены конечностей. Лабораторные исследования этого феномена демонстрируют персистирующее тромбинообразование (повышение уровня комплексов ТАТ) наряду со сниженной активностью протеина С. Высокое МНО при этом является суррогатным маркером значительного падения уровня протеина С (наряду с фактором свертывания VII). Таким образом, венозная гангрена конечностей является клиническим проявлением глубокого дисбаланса в функционировании прокоагулянтной и естественной антикоагулянтной систем.

Впервые связь между венозной гангреной нижних конечностей и ГИТ была обнаружена Towne et al. в 1979 году. Было отмечено, что дистальной гангрене предшествовало продромальное состояние — «phlegmasia cerulea dolens» (т. е. воспаленная синюшная болезненная конечность), однако информация о терапии кумаринами отсутствовала. Последующие же сообщения свидетельствовали, что данное осложнение развивалось на фоне варфаринотерапии.

Отмечались случаи возникновения гангрены даже в процессе комбинированной терапии варфарином и анкродом, поскольку тромбинообразование увеличивалось при лечении ГИТ анкродом, что предрасполагало к повышению риска венозной гангрены в условиях варфаринотерапии. В то же время венозная гангрена не наблюдается у пациентов с ГИТ, которые наряду с варфарином получают препараты, ингибирующие образование тромбина или непосредственно тромбин (например, данапароид, лепаирудин, аргатробан).

Таким образом, венозная гангрена конечностей характеризуется:

а) повышенным тромбинообразованием, связанным с острым ГИТ;

б) обширным ТГВ, вплоть до развития венозной гангрены;

в) надтерапевтическими значениями МНО в процессе антикоагуляции варфарином;

г) наряду с венозной гангреной на фоне варфаринотерапии возможно развитие других типичных кумарин-индуцированных некрозов кожи центральной неакральной локализации (грудь, живот, бедра), которые все же больше характерны для других патологических состояний. Синдром кумарин-индуцированных некрозов (который включает венозную гангрену нижних конечностей) можно избежать у пациентов с острым ГИТ, если варфарин назначается отсрочено — после назначения препаратов, ингибирующих образование тромбина (например, данапароид) или прямых ингибиторов тромбина (рефлюдан).

Следует отметить, что венозная гангрена конечностей является более частой причиной ампутации конечностей у пациентов с ГИТ, чем артериальный тромбоз. Поэтому необходимо помнить при выборе противотромботического препарата о возможных последствиях неумелой терапии варфарином и другими кумаринами.

Хотя тромбоз мозговых синусов не является характерной причиной инсультов у пациентов с ГИТ, при некоторых состояниях и заболеваниях он не так уж и редок.

Как правило, тромбоз мозговых синусов происходит при наличии, помимо ГИТ, дополнительных факторов, к каковым относятся беременность, генетически обусловленная тромбофилия, АФС, миелопролиферативные заболевания и т.д. При аутопсии в синусах обнаруживаются «белые сгустки».

Подозревать возможный тромбоз мозговых синусов следует при развитии прогрессирующих фокальных неврологических симптомов, сумеречности сознания, припадков или головной боли в процессе гепаринотерапии. В этих случаях необходима немедленная отмена гепарина; назначение альтернативного антикоагулянта и, по возможности, внутривенное введение иммуноглобулина.

Учитывая системный характер нарушений при ГИТ, клиницист должен учитывать возможность вовлечения в патологический процесс надпочечников. Подозрение на двусторонний инфаркт надпочечников должно возникать при появлении у пациентов с тромбоцитопенией болей в животе и гипотензии на фоне гепаринотерапии. У некоторых пациентов появляется лихорадка и обнаруживается гипонатриемия. В таких случаях необходимо кортикостероидное предотвращение смерти от хронической почечной недостаточности.

Для одностороннего инфаркта надпочечника типичны боли в боковой части живота с одной стороны и отсутствие признаков надпочечниковой недостаточности.

Эти геморрагические проявления ГИТ вызваны тромбозами надпочечниковых вен, ведущих к геморрагическому некрозу надпочечников.

Похожая картина наблюдается и при ДВС-синдроме (синдром Уотерхауса — Фридериксена) и при катастрофических формах АФС.

Хотя практически у всех пациентов с ГИТ развивается гипертромбинемия, декомпенсированный ДВС развивается по различным данным только у 5—10%. Потребление протеина С также чаще компенсировано, так как уровень протеина С у пациентов с ГИТ обычно в пределах нормальных значений.

Однако развивающаяся при ДВС приобретенная недостаточность естественных антикоагулянтов (Pr C, AT III — в первую очередь) усугубляет тромбофилию при ГИТ и способствует развитию тромбозов. В таких ситуациях весьма эффективным может быть плазмаферез с заместительной трансфузией свежемороженой плазмы (содержащей не только факторы свертывания, но и естественные антикоагулянты), которая может возместить дефицит естественных антикоагулянтов, но не альбумина или других плазмозаменяющих растворов.

Наиболее опасно развитие ГИТ у пациентов с наследственной (генетически обусловленной) тромбофилией и АФС, так как в этих случаях также имеет место потенцирование тромбофилии. Кроме того, АФС также характеризуется активацией и гиперагрегацией тромбоцитов, что объясняет характерный и для АФС «белый сгусток». При сочетании АФС и ГИТ риск развития фатальных тромбозов и катастрофической формы АФС теоретически может повышаться. Тем не менее, клинически обследованных больных все еще недостаточно много, чтобы определить частоту и степень риска при сочетании ГИТ с генетически обусловленной тромбофилией и АФС.

Артериальные тромбозы нижних конечностей были первыми признаны как осложнение ГИТ еще на заре изучения ГИТ (Weismann, Tobin et al., 1958). Обычно в артериальный тромбоз вовлекается брюшная аорта или крупные артерии нижних конечностей, что ведет к острой ишемии, клинически проявляющейся отсутствием пульса. Порой богатый тромбоцитами тромбозмбол из левого сердца или грудной аорты является причиной острой артериальной ишемии нижней конечности. К другим относительно частым артериальным тромботическим осложнениям ГИТ относятся тромботические инсульт и инфаркт миокарда. Характерно, что если в общей популяции частота артериальных тромбозов располагается по нарастающей следующим образом: инфаркт миокарда >ишемический инсульт>>окклюзия артерий нижних конечностей, — то у пациентов с ГИТ прямо противоположная тенденция: окклюзия артерий нижних конечностей>> >>ишемический артериальный инсульт >инфаркт миокарда.

Нечастыми, но хорошо описанными артериальными тромботическими проявлениями ГИТ являются тромбоз мезентериальной артерии (инфаркт кишечника), тромбоз плечевой артерии (гангрена верхней конечности) и тромбоз почечной артерии (инфаркт почки). Рецидивирующие артериальные тромбозы характерны для пациентов с ГИТ, особенно после хирургической эмболектомии, в особенности, если после этого вновь назначается гепарин. Редко микроэмболизация тромба из сердца или аорты может стать причиной некроза пальца ноги или стопы с пальпируемым артериальным пульсом.

ГИТ у пациентов с искусственными трансплантатами в местах контакта искусственных поверхностей (клапаны сердца, кавафилтры, сосудистые фистулы, а также экстракорпоральный кровоток при гемодиализе, плазмаферезе) с кровью способствуют развитию тромбозов. Это представляет серьезную проблему ведения пациентов в таких клинических ситуациях, как, например, гемодиализ. В связи с этим, при развитии тромбозов протезов, трансплантатов или других искусственных поверхностей у пациентов, получающих гепарин, необходим подсчет количества тромбоцитов и при сниженном его значении проведение теста на наличие ГИТ-антител.

К другим клиническим проявлениям ГИТ относятся повреждения кожи, которые, как правило, отмечаются в местах подкожного введения гепарина. По неизвестным пока причинам, только у 10—20% пациентов с ГИТ-антителами развиваются эти нарушения на фоне терапии нефракционированным гепарином (НГ) или НМГ. Интересен тот факт, что у 75% пациентов с гепарин-индуцированными повреждениями кожи тромбоцитопения не развивается, притом, что гепарин-зависимые тромбоцит-активизирующие антитела обнаруживаются.

Кожные проявления включают уплотнения, образование эритематозных узелков или бляшек вплоть до некротических повреждений, которые проявляются на 5-й или более (в среднем на 8-й) день от начала гепаринотерапии. Если ранее гепарин применялся не подкожно, то с началом подкожного введения гепарина кожные проявления могут появиться раньше, что связано с формированием ГИТ-антител еще до начала подкожного введения гепарина. Некротические повреждения обычно включают центральный черный струп, окруженный уплотненным эритематозным участком с неровными контурами.

Возможны и более сложные («пестрые») повреждения кожи: например, несколько отдельных участков некроза (каждый участок соответствует месту инъекции гепарина), окруженные фиолетоватым ореолом на фоне диффузной эритемы. Даже слабо выраженные кожные симптомы, как правило, вызывают боль или *pruritus*.

Следует учитывать, что подобные кожные реакции может вызвать не только НГ, но и НМГ. Если некроз кожи развивается на фоне НГ, то замена его на НМГ также не решит проблему. Альтернативой в данной ситуации может быть гепариноид (данапароид), который не вызывает кожных повреждений.

Гистопатологические исследования участков гепарин-индуцированных кожных повреждений (эритематозных бляшек) показали, что при этом имеет место лимфоцитарная инфильтрация верхних и средних слоев дермы, которая может распространяться и на эпидермис. Кроме того, в ряде случаев отмечается отек дермы и эпидермы (спонгиоз). Преобладают Т-хелперы и супрессоры (CD4+) наряду с клетками Лангерганса, обеспечивающие гиперчувствительность замедленного типа. Синтез цитокинов активированными CD4-клетками объясняет эозинофилию в периферической крови, которая отмечается у большинства пациентов. Гистопатология некротических кожных повреждений обычно демонстрирует внутрисосудистые тромбозы сосудов дермы, с или без периваскулярного воспаления, и экстравазацию эритроцитов различной степени выраженности.

Гепарин-индуцированные повреждения кожи должны рассматриваться как клинический маркер ГИТ-синдрома.

Мониторинг количества тромбоцитов (если ранее количество тромбоцитов не подсчитывалось) должен быть немедленно начат и продолжаться в течение несколь-

ких дней, даже после отмены гепарина. Это объясняется прежде всего тем, что у некоторых пациентов возможно развитие тромбозов, как уже указывалось, и после отмены гепарина. В качестве противотромботического препарата необходимо использовать гепариноиды (типа данапароида) или ингибиторы тромбина. Повреждения самой кожи лечатся консервативно, хотя в ряде случаев необходимо иссечение некротических тканей с последующей пластической операцией.

Таким образом, эритематозные или некротические повреждения кожи в местах подкожных инъекций гепарина должны рассматриваться как дермальные проявления ГИТ-синдрома, независимо от количества тромбоцитов (если нет возможности воспроизведения других исследований). Если же кожные проявления сочетаются с тромбоцитопенией, риск венозного, и особенно, артериального тромбоза значительно повышается.

Редко встречаются гепарин-индуцированные повреждения кожи после внутривенного введения гепарина (в отсутствие терапии кумаринами), отдаленные от мест внутривенного введения.

Тем не менее, Hartmann et al. (1988) описали и такой случай. У пациента, который получал гепарин внутривенно в связи с тромбозом подкожно-бедренной вены, было отмечено резкое падение количества тромбоцитов с 864 до $44 \times 10^9/\text{л}$. На 3-й день терапии, когда количество тромбоцитов снизилось на 30% от первоначального, был отмечен прогрессирующий некроз кожи бедра в области тромбированной вены, что потребовало хирургического вмешательства. Отмечались тромбозы вен и капилляров кожи.

Одним из других кожных проявлений ГИТ является сетчатое ливедо (*livedo reticularis*), подобное таковому при АФС. Это не удивительно, если принять во внимание, что патогенез активации тромбоцитов при АФС и ГИТ чрезвычайно сложен (см. далее). *Livedo reticularis* является следствием микрососудистых тромбозов с низким кровотоком и дилатацией горизонтально ориентированных дермальных венозных дренажных каналов.

Некоторые кожные проявления при гепаринотерапии могут не быть связаны с ГИТ. К таковым относятся обычные экхимозы в местах инъекций, и крайне редко — при внутривенном введении гепарина — васкулиты и кожные некрозы с геморрагическими буллами.

У некоторых пациентов отмечаются уртикарные поражения, иногда сопровождаемые ангиоотечком. В некоторых случаях возможны индивидуальные генерализованные реакции на консервант (например, хлорбутол).

ГИТ у беременных, как правило, является осложнением гепаринотерапии, применяемой с целью профилактики венозного тромбоземболизма (при рецидивирующих тромбозах, искусственных клапанах сердца, АФС, генетически обусловленной тромбофилии и пр.). Однако ГИТ относительно редко регистрируется у беременных. Возможно, это связано с тем, что уровень гликозаминогликанов в плазме во время беременности повышается, что, в свою очередь, обуславливает снижение частоты или патогенности ГИТ-антител.

ГИТ-антитела способны проникать через плаценту, что делает теоретически возможным развитие ГИТ у новорожденных, которым в силу тех или иных причин требуется антикоагулянтная терапия и назначается гепарин.

Несмотря на то, что ГИТ у беременных развивается реже, клинические проявления синдрома могут стать фатальными, поскольку у беременных характерно развитие редких проявлений ГИТ, как, например, тромбоз синусов мозга.

Альтернативными противотромботическими препаратами могут быть гепариноиды (данапароид), которые не проникают через плаценту.

Помимо этого у беременных отмечается и более «мягкий» синдром гепарин-индуцированных поражений кожи, не сопровождающийся тромбоцитопенией.

В заключение следует отметить, что, несмотря на то, что ГИТ редкое осложнение гепаринотерапии, последствия синдрома чрезвычайно серьезны. В связи

с этим практическим врачам для своевременной ориентировки в непростой ситуации необходимо учитывать следующее:

1. Тромбоцитопения у пациентов, получающих гепарин (если снижение количества тромбоцитов началось на 5—10-й день гепаринотерапии), должна расцениваться как ГИТ с высокой степенью вероятности, если возможности выявить ГИТ-антитела нет (1-й день гепаринотерапии считается как «день 0»).

2. Быстрое падение количества тромбоцитов вскоре после начала гепаринотерапии нехарактерно для ГИТ, если пациент не получал гепарин в прошлом (обычно в пределах предшествующих 100 дней).

3. Падение количества тромбоцитов более чем на 50% от максимального постоперативного уровня между 5—14-м днями послеоперационного периода на фоне гепаринотерапии может свидетельствовать о развитии ГИТ, даже, несмотря на то, если количество тромбоцитов превышает $150 \times 10^9/\text{л}$.

4. Петехии и другие проявления спонтанных геморрагий не являются клиническими признаками ГИТ, даже у пациентов с выраженной тромбоцитопенией.

5. ГИТ ассоциируется с высокой частотой тромбозов, несмотря на отмену гепарина с или без замены на варфарин.

6. Локализация тромбозов у пациентов с ГИТ часто зависит от независимых клинических факторов, как, например, послеоперационное состояние, атеросклероз, катетер в центральных венах или артериях.

7. Развитие венозной гангрены конечностей можно предотвратить, если варфарин не назначается в остром периоде, а в качестве альтернативных противотромботических препаратов используются препараты, снижающие тромбинообразование (гепариноиды типа данапароида) или непосредственно инактивирующие тромбин (гирудин, рефлюдан, лепирудин и др.).

8. Эритематозные или некротические повреждения кожи в местах подкожных инъекций гепарина должны рассматриваться как кожные проявления ГИТ-синдрома независимо от количества тромбоцитов (если нет возможности выявления ГИТ-антител). При сочетании кожных проявлений с тромбоцитопенией риск венозного и в особенности артериального тромбоза значительно увеличивается.

9. Любые воспалительные, кардио-пульмонарные или другие необъяснимые острые проявления, которые возникают через 5—30 минут после внутривенного болюса гепарина, должны рассматриваться как ГИТ, независимо от того, есть ли на момент возникновения острой клинической ситуации лабораторное подтверждение ГИТ. После болюса немедленно подсчитывается количество тромбоцитов и сравнивается с уровнем до введения гепарина, поскольку резкое падение количества тромбоцитов нередко носит транзиторный характер.

Дифференциальный диагноз ГИТ

И тромбоцитопении, и тромбоземблические осложнения, являясь неспецифическими клиническими и лабораторными проявлениями, далеко не всегда — проявления неблагоприятных эффектов гепарина. Поэтому в процессе гепаринотерапии следует правильно дифференцировать происхождение тромбоцитопении.

К другим состояниям, которые сопровождаются тромбоцитопенией, относятся аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура (АИТП), посттрансфузионная пурпура, пассивная аутоиммунная тромбоцитопения, лекарственно-обусловленная иммунная тромбоцитопения, тромбоцитопения потребления ДВС, а также тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП) и гемолитико-уремический синдром (ГУС).

Аутоиммунная тромбоцитопеническая пурпура (АИТП)

Тромбоцитопения при АИТП возникает вследствие ускорения клиренса (удаления) тромбоцитов, сенсibilизированных аутоантителами (обычно класса G), взаимодействующими с гликопротеинами на поверхности тромбоцитов. Антигенной мишенью для антител при этом выступает гликопротеиновый комплекс GPIIb/

IIIa, реже GPIb/IX, GPIa/IIa, CD6/2. Кроме того, эпитопы некоторых антител могут быть связаны с GPIIIa.

В процессе дифференциальной диагностики следует обратить внимание на то, что АИТП обычно развивается у детей младше 10 лет (мальчиков и девочек в равной степени). Тромбоцитопения типично развивается через 10 дней — 3 недели после острой вирусной инфекции. Частота АИТП у детей в среднем составляет 1: 25 000. У пациентов с тяжелой тромбоцитопенией (количество тромбоцитов менее $10 \times 10^9/\text{л}$) могут развиваться геморрагические осложнения. Однако у большинства пациентов синдром подвергается обратному развитию, даже если не проводилась терапия кортикостероидами или внутривенно иммуноглобулином G (внутривенно IgG). Если же тромбоцитопения сохраняется более 6 месяцев, считается, что АИТП приобрела хроническое течение.

Хроническая АИТП развивается чаще у взрослых, в основном, женщин: либо идиопатическая, либо как вторичный процесс (на фоне СКВ, ревматоидного артрита, болезни Крона, первичного билиарного цирроза, злокачественных и инфекционных заболеваний, включая вирусный гепатит, ВИЧ; а также саркоидоз, состояния после трансплантации костного мозга и пр.).

Клинические проявления при АИТП, в отличие от ГИТ, обычно представлены геморрагическим диатезом. Геморрагические проявления отмечаются на коже, слизистых (носовые кровотечения, мелена и меноррагии). Поскольку существует риск внутрискелетных кровоизлияний, своевременная терапия АИТП еще более обоснована. У 10% детей с острым АИТП в детстве в последующем остается хроническая форма.

Следует учитывать, что АИТП может быть ранним проявлением СКВ.

Клинический диагноз АИТП основан на типичной клинической картине и исключении других причин тромбоцитопении: изолированная тромбоцитопения не сопровождается нарушениями тромбоцитопоеза (нормальное количество мегакариоцитов в костном мозге). Более того, размеры селезенки не увеличены и не обнаружено других причин повышенного клиренса тромбоцитов (ДВС, ТГП или гигантская гемангиома, характерная для синдрома Касабах-Меррита). Семейные случаи тромбоцитопении, как правило, неиммунного генеза и не характеризуются усиленным разрушением тромбоцитов.

В сложных случаях, когда перечисленные выше диагностические критерии не достаточны (у пациентов со злокачественными новообразованиями, когда наряду с типичными признаками АИТП присутствуют нетипичные признаки — спленомегалия или неопластическая инфильтрация костного мозга), могут быть необходимы дополнительные исследования, наиболее информативными при этом являются гликопротеин-специфичные исследования тромбоцитов, свидетельствующие о том, что IgG связаны с гликопротеинами IIb/IIIa или Ib/IX, что специфично для АИТП.

Посттрансфузионная пурпура (ПТП) является редкой, но серьезной трансфузионной реакцией. В типичных случаях через 6—8 дней после трансфузии цельной крови, эритроцитарной массы или тромбоцитарного концентрата отмечается резкое падение количества тромбоцитов. Сыворотка пациентов при этом содержит высокие титры специфичных антитромбоцитарных антител, направленных против GPIIb/IIIa комплекса. Продолжительность такой иммуно-обусловленной тромбоцитопении составляет 5—60 дней. Хотя аутологичные тромбоциты не содержат аллоантигенов, тем не менее, они подвергаются более быстрому разрушению. Чаще аллоиммунный ответ имеет место у пациентов с ПТП, которые в анамнезе уже встречались с тромбоцитарными аллоантигенами во время предыдущей беременности или трансфузии.

Несмотря на то, что ПТП впервые была описана в 1961 году, ее патогенез до сих пор остается спорным вопросом. Так; существует мнение, что циркулирующий НРА-1a антиген тромбоцитов, попадающий в процессе гемотрансфузии, может образовывать комплекс антиген-антитело и адсорбироваться на аутологичных тромбоци-

тах. Существует также гипотеза, согласно которой подобные псевдоспецифичные аллоантитела в течение ограниченного промежутка времени перекрестно реагируют со структурно-связанными эпитопами аутологичных тромбоцитов пациента.

Клиническая картина ПТП была уточнена Европейской группой изучения ПТП (Mueller-Eckhardt et al., 1991). Было обнаружено, что ПТП чаще развивается у женщин (99 из 104 пациентов с ПТП). Средний возраст составляет 58,4 лет. У 28 из 51 пациента отмечалась фебрильная трансфузионная реакция, что ускорило развитие ПТП. Временной интервал между трансфузией и выраженной тромбоцитопенией в основном составляет 6—10 дней. У 68 из 84 пациентов количество тромбоцитов составляло менее $10 \times 10^9/\text{л}$. Кровотечения персистировали в течение 3—37 дней (в среднем 10,2 дня); при этом большинство пациентов нуждались в лечении. Фатальные кровотечения не так уж редки: в наблюдении Schulman и Jordan et al., 1987, фатальное кровотечение развилось у 7 из 75, в наблюдении Kroll et al., 1993 — у 2 из 38.

Диагноз ПТП всегда должен рассматриваться у пациентов с внезапным снижением количества тромбоцитов (менее $10 \times 10^9/\text{л}$). ПТП и ГИТ «роднит» и временной признак, помимо тромбоцитопении: и тот, и другой синдром развиваются в среднем примерно через 1 неделю после хирургического вмешательства.

Однако при ПТП тромбоцитопения более выражена и сопровождается геморагией, в то время как при ГИТ геморрагическая наклонность и петехии отсутствуют и, наоборот, характерно протромботическое состояние и тромбозомболические осложнения.

Кроме того, ПТП развивается только после недавней трансфузии и ассоциируется с отсроченной гемолитической реакцией после трансфузии. Диагноз подтверждается обнаружением специфичных антитромбоцитарных аллоантител против эпитопов тромбоцитарных GPIIb/IIIa, обычно анти-NPA-1a.

Терапия ПТП подразумевает внутривенное введение высоких доз иммуноглобулина G (ВВИГ). Большинство исследователей отмечают неэффективность кортикостероидной терапии. Трансфузия тромбоцитов неэффективна, даже если тромбоциты доноров NPA-1a-негативны. Поскольку тенденция к кровотечению чрезвычайно выражена, сразу же после постановки диагноза необходима немедленная терапия.

Тромбоцитопения, индуцированная лекарственными средствами

Различные лекарственные средства могут быть причиной возникновения различных цитопений, таких как иммунная гемолитическая анемия, нейтропения и лекарственно-обусловленная иммунная тромбоцитопения (ЛОТ).

Механизмы возникновения ЛОТ могут быть различными, однако наиболее интенсивно в настоящее время исследуются антитело-опосредованные формы ЛОТ. Лекарственно-индуцированные антитела (ЛИА) типично реагируют с мономорфными эпитопами тромбоцитарных гликопротеинов: GPIb/IX, GPV или GPIIb/IIIa. Эти антитела связываются с соответствующими антигенными мишенями на поверхности тромбоцитов только в присутствии соответствующих лекарственных препаратов. Антитела специфически распознают антиген на поверхности тромбоцитарного гликопротеина с помощью Fab-фрагмента. Роль непосредственно лекарственного средства в этом процессе точно не известна.

Экспериментальные данные дают основание предполагать, что лекарственные препараты могут вызывать конформационные изменения в антителе или тромбоцитарном рецепторе и, таким образом, индуцирует комплементарность между потенциальным антигеном и антителом, способствуя тем самым их связыванию друг с другом на поверхности тромбоцита. Наиболее часто в роли препаратов, индуцирующих ЛОТ, являются хинидин и хинин (табл. 89). В ряде случаев не сами лекарства, а их метаболиты являются мощными индукторами связывания антител на поверхности тромбоцитов и соответственно ЛОТ.

Тромбоцитопения обычно развивается не позднее чем через 7 дней от начала приема лекарственного средства. ЛОТ часто является причиной выраженной тром-

боцитопении и кровотечения. Наиболее важная мера, которая должна быть незамедлительно предпринята — отмена препарата, вызвавшего ЛОТ. Порой она достаточна, и количество тромбоцитов возвращается к нормальному. Если же кровотечение носит угрожающий жизни характер, дополнительно необходима инфузия тромбоцитарной массы вместе с ВВИГ.

Таблица 89.

**Лекарственные препараты, индуцирующие иммунную тромбоцитопению
(институт Клинической иммунологии и трансфузионной медицины,
Гиссенский университет).**

Лекарственный препарат	Замечания
Хинидин	эффект метаболита
Хинин	
Хинидин+хинин	
Триметоприм+ сульфаметоксазол	
Рифампицин (рифампин)	эффект метаболита
Парацетамол	
Карбамазепин	
Диклофенак	
Ибупрофен	эффект метаболита
Ранитидин	
Ванкомицин	

Некоторые препараты вызывают аутоиммунные цитопении и развитие аутоантител, практически не отличимые от таковых при «идиотипических» аутоиммунных цитопениях. Одним из примеров такой формы ЛОТ является обусловленная приемом α -метилдопы, которая развивается у 10—36% пациентов и характеризуется возникновением антител к эритроцитам. Однако только у 1% при этом развивается клинически выраженный гемолиз. Подобная форма аутоиммунной тромбоцитопении развивается при терапии препаратами золота: характерно, что для связывания антител с поверхностью тромбоцитов при этом нет необходимости в присутствии лекарственного препарата.

Абсиксимаб (Reo-Pro), являясь моноклональным антителом и современным противотромбоцитарным препаратом (за счет взаимодействия Fab-участка с GPIIb/IIIa), у 2% пациентов может вызывать выраженную иммунную тромбоцитопению. В отличие от других форм ЛОТ, тромбоцитопения развивается быстро, в течение нескольких часов после приема лекарства. Отмечено, что трансфузия тромбоцитарной массы более эффективна, чем ВВИГ и кортикостероиды.

ДВС и тромбоцитопения потребления

ДВС, являясь неспецифическим общебиологическим синдромом, сопровождающим гетерогенные по своей причине заболевания и патологические состояния (акушерские осложнения — ПОНРП, задержка мертвого плода в матке, гестоз и пр., — сепсис, злокачественные новообразования, гемолитические трансфузионные реакции, укусы змей и пр., табл. 90) часто в фазе коагулопатии потребления сопровождается и тромбоцитопенией потребления. При этом характерной особенностью является одновременное наличие как тромботической окклюзии микрососудистого русла, ведущей к органной недостаточности, так и массивных кровотечений.

Возможные причины развития ДВС.

Инфекция	Грам-отрицательные бактерии Neisseria meningitidis Salmonella Haemophilus Pseudomonas Грам-положительные бактерии Pneumococcus Staphylococcus Hemolytic Streptococci Анаэробы Clostridium Mycobacterium tuberculosis Вирусы Herpes zoster Herpes simplex Цитомегаловирус Вирусы гепатита Грибковая инфекция Аспергиллез Гистоплазмоз Кандидоз Протозоальная инфекция Малярия Висцеральный лейшманиоз Риккетсиальная инфекция Пятнистая лихорадка Скалистых гор Бактериальный менингит Септический шок Синдром токсического шока Постспленэктомический сепсис
Неоплазии	Солидные опухоли Аденокарцинома Лимфома Лейкемия Промиелоцитарная Острая лимфобластная
Заболевания сосудов	Аневризма аорты Гигантская гемангиома (синдром Касабач-Мерритта) Опухоли сосудов Множественные телеангиэктазии Острый инфаркт миокарда Внутрисердечные опухоли и тромбы Васкулиты
Заболевания печени	Острая печеночная недостаточность Цирроз Билиарная обструкция
Акушерские осложнения	Эмболия околоплодными водами Отслойка плаценты Поздний аборт

	<p>Септический аборт Разрыв матки Гестоз Острая жировая дистрофия печени Задержка мертвого плода в матке Пузырный занос HELLP-синдром</p>
Трансфузионные реакции	<p>Острая гемолитическая трансфузионная реакция Массивная трансфузия Искусственные поверхности</p>
Операции	<p>Операции на сосудах Кардиальные «bypass»-операции Трансплантация печени</p>
Травма и повреждения тканей	<p>Повреждения мозга Crush-синдром Переломы трубчатых костей Гипертермия (тепловой шок) Гипотермия Асфиксия / гипоксия Ишемия / инфаркт Рабдомиолиз Жировая эмболия</p>
Шок	
Респираторный дистресс-синдром	
Генетические дефекты гемостаза	<p>Дефицит антитромбина Гомозиготный дефицит протеина С Гомозиготный дефицит протеина S Гиперлипопротеинемия, типы II и IV</p>
Лекарственные препараты	<p>Фибринолитики Гепарин-индуцированная тромбоцитопения Анкрод Варфарин Липидные эмульсии внутривенно Концентраты факторов свертывания (IX, IXa, XI) Интерлейкин-2</p>
Другие причины	<p>Амилоидоз Острый внутрисосудистый гемолиз Гистиоцитарные нарушения Анафилаксия Болезнь Kawasaki Панкреатит Некоторые наркотики (Ecstasy и пр.) Змеиный яд</p>

Септицемия и синдром системного воспалительного ответа являются классическим примером клинического проявления ДВС. Тромбоцитопения у пациентов с ССВО, согласно данным некоторых исследований, обусловлена иммунно-опос-

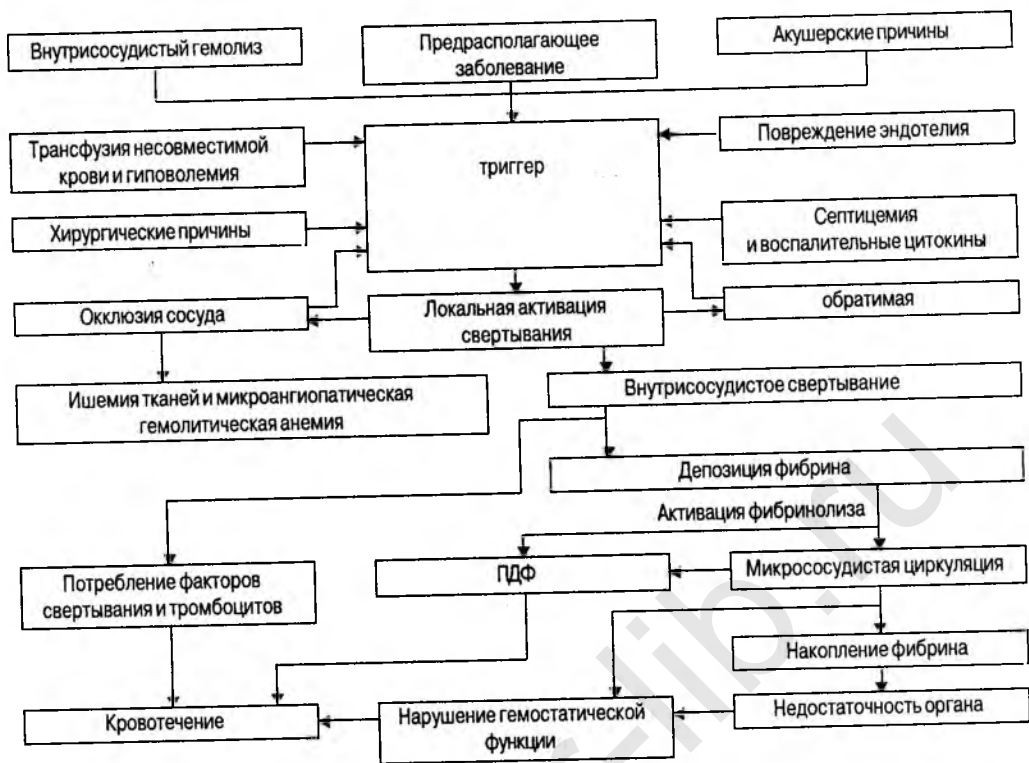


Рис. 96. Возможные механизмы возникновения и проявления ДВС.

редованным повреждением тромбоцитов, однако достоверных доказательств аутоиммунного генеза тромбоцитопении при ССВО на сегодняшний день еще нет.

Патогенез ДВС при сепсисе мультифакториальный и включает повреждение эндотелия и активацию тромбоцитов эндотоксинами, что ведет к экспозиции прокоагулянтных субстанций. Роль цитокинов при этом чрезвычайно велика: интерлейкин-1 и TNF- α повышают активность тканевого фактора, нарушая коагуляционный баланс в сторону протромботических тенденций.

Ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1) блокирует образование плазмينا, обуславливая депозицию фибрина в микроциркуляции: это, в свою очередь все более усугубляет недостаточность микроциркуляции вплоть до микроциркуляторного блока и полиорганной недостаточности. Механизмы возникновения ДВС представлены на рис. 96.

В случаях субкомпенсированных и декомпенсированных форм ДВС, сопровождающихся коагулопатией потребления и/или гиперфибринолизом, «глобальные» коагуляционные тесты, такие как АЧТВ или ПВ, обычно удлинены, концентрация фибриногена чаще снижена, при этом уровень продуктов деградации фибрина / фибриногена повышен вследствие активации фибринолиза и действия плазмина на фибриновый сгусток. Д-димер является показателем деградации перекрестно-связанного фибрина и его уровень также повышен. Повышение уровня F1+2 и TAT свидетельствует об активации тромбинообразования, что является центральным механизмом возникновения ДВС.

Микроангиопатические гемолитические нарушения при ДВС также имеют место.

Тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП) и гемолитико-уремический синдром (ГУС)

ТТП — тяжелое заболевание, характеризующееся внутрисосудистой агрегацией тромбоцитов и неиммунной гемолитической анемией, неврологическими

нарушениями и признаками почечной недостаточности. Характерна фрагментация эритроцитов, гемолиз с негативным прямым антиглобулиновым тестом и наличие богатых тромбоцитами тромбов в сосудах мелкого калибра.

Для объяснения феномена депозиции тромбоцитов в прекапиллярных артериолах были предложены различные гипотезы. Было обнаружено, что сыворотка пациентов с ТТП и ГУС содержит необычно высокие концентрации мультимерных форм фактора фон Виллебранда (vWF), способствующих агрегации тромбоцитов. Недавние исследования показали, что у пациентов с хронической ТТП имеется дефицит протеазы, расщепляющей vWF («деполимераза»). ТТП-подобные нарушения могут наблюдаться при различных патологических состояниях, включая терапию иммуносупрессорами, метастатический рак или его терапию, а также инфекции.

Сосудистые нарушения при ГУС обычно ограничиваются почками, неврологические симптомы встречаются реже, чем при ТТП.

Развитие ГУС после кровавой диареи связано с действием вероцитотоксина, продуцируемого *Escherichia coli*, серотипом O157.

Краеугольным камнем терапии ТТП является трансфузия гомологичной плазмы, которая обычно осуществляется наряду с плазмаферезом. Кортикостероиды могут быть эффективны при условии иммунообусловленной ингибиции vWF-деполимеразы. Оптимальная терапия ТТП по сей день далека от совершенства и зависит от лучшего понимания патогенеза свойственных ТТП расстройств.

Если перечисленные выше заболевания и патологические состояния наряду с тромбоцитопенией характеризуются в большинстве случаев геморрагической склонностью, то гораздо сложнее дифференцировать с ГИТ заболевания и патологические состояния, сопровождающиеся наряду с тромбоцитопенией проагрегационными, протромботическими и тромбозобразующими эффектами на фоне гепаринотерапии. В силу этого такие расстройства получили название псевдо-ГИТ. В таблице 91 представлены наиболее частые клинические состояния, имитирующие ГИТ.

Таблица 91.

Псевдо-ГИТ — расстройства, сопровождающиеся тромбоцитопенией и тромбозами.

Псевдо-ГИТ расстройства	Патогенез тромбоцитопении и тромбозов	Время появления клинических признаков от начала гепаринотерапии
Аденокарцинома	ДВС в результате попадания в кровоток прокоагулянтных субстанций, продуцируемых злокачественной опухолью	Поздно
Антифосфолипидный синдром	Множественный механизм, включая активацию тромбоцитов антифосфолипидными антителами	Рано**
ТЭЛА	Активация тромбоцитов тромбином в составе тромба	Рано или отсрочено
Диабетический кетоацидоз	Гиперагрегация тромбоцитов в условиях ацидоза	Рано или отсрочено
Инфекционный эндокардит	Инфекционно-обусловленная тромбоцитопения, ишемические проявления вследствие септической эмболии	Рано
Пароксизмальная ночная гемоглобинурия	Комплемент-обусловленное повреждение тромбоцитов; снижение продукции тромбоцитов	Рано

Псевдо-ГИТ расстройств	Патогенез тромбоцитопении и тромбозов	Время появления клинических признаков от начала гепаринотерапии
Тромболитическая терапия	Активация тромбоцитов тромбином в составе продуктов деградации фибрина	Рано

* «Поздно» — ≥ 5 дней от начала гепаринотерапии

** «Рано» — < 5 дней от начала гепаринотерапии

Среди всех этих состояний особо следует выделить АФС, поскольку отмечается не только клиническое сходство его с ГИТ, но имеет место и общность патогенетических механизмов. Оба клинико-патологических синдрома характеризуются тромбоцитопенией и парадоксальным риском венозных и артериальных тромбозов, связанных с циркуляцией антител (см. табл.92).

Таблица 92.

Клинические параллели между ГИТ и АФС.

	Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ)	Антифосфолипидный синдром (АФС)
Тромботический парадокс	Тромбозы наряду с тромбоцитопенией	Тромбозы наряду с удлинением коагуляционных тестов (+/- тромбоцитопения)
Спектр тромботических проявлений	Венозные > артериальные тромбозы, надпочечниковые инфаркты, тромбозы мозговых синусов	Венозные > артериальные тромбозы, надпочечниковые инфаркты, тромбозы мозговых синусов
Степень тяжести тромбоцитопении	Легкая или умеренная	Легкая или умеренная
Лабораторная диагностика: 1. Функциональный (коагуляционный) метод 2. Исследование антигена	1. Исследование активации тромбоцитов (НИРА, РТА) 2. Выявление антигена PF4-гепарин (ИФА)	1. Волчаночный антикоагулянт (удлинение фосфолипид-зависимых коагуляционных тестов) 2. Антикардиолипины Анти- $\beta 2$ -GPI Анти-протромбин Анти-фосфатидилсерин Антитела к подгруппе фосфолипидов (ИФА)
Патогенез	Активация тромбоцитов через Fc-рецепторы; активация эндотелия вследствие иммунного повреждения.	Многокомпонентный патогенез; среди основных составляющих патогенеза иммунная активация тромбоцитов (через Fc-рецепторы) и активация эндотелия вследствие иммунного повреждения.

Как мы ранее уже указывали, впервые параллель между этими синдромами обнаружил Arnout et al. (1996), который предположил, что в обоих случаях имеет место Ig-G — опосредованная активация тромбоцитов как причина тромбозов.

Поскольку не все лаборатории имеют возможность выявлять наличие ГЗА, во избежание сложных ситуаций с дифференциальной диагностикой ГИТ и АФС целесообразно:

1. Применить НМГ как препарат выбора у пациентов с АФС.
2. Подсчитывать количество тромбоцитов до начала антикоагулянтной терапии и на фоне терапии.

Методы выявления антитромбоцитарных антител

Лабораторное выявление иммунообусловленных форм тромбоцитопении требует знания основной клинической проблемы. Только тогда будут целенаправленно применяться необходимые лабораторные методики и можно будет избежать воспроизводства ряда бесполезных тестов, которые помимо того, что недешевы, отнимают порой драгоценное время, которое может решить исход заболевания при своевременной постановке диагноза и патогенетически оправданной терапии.

Например, для оценки ЛОТ *in vitro*, необходимо знать, какие лекарственные препараты принимал пациент.

Выявление тромбоцитарных ауто- и аллоиммунных антител в сыворотке

Часто для исследования бывают доступны только образцы сыворотки пациентов с тромбоцитопенией. В зависимости от клинической проблемы, исследования сывороточных антитромбоцитарных антител может быть весьма успешным. Одним из наиболее надежных, стандартизированных методов является исследование иммуноглобулин-связывающей активности тромбоцитов по отношению к антитромбоцитарным антителам — метод иммунофлюоресценции суспензии тромбоцитов. Упрощенные варианты этого метода, возможно, более доступны для широкого круга лабораторий, но, к сожалению, менее чувствительны. Обычно используется «панель» тромбоцитов с различными аллоантигенами: суспензия тромбоцитов инкубируется с исследуемой сывороткой, при этом оценивается способность антител связываться с тромбоцитами с помощью иммунофлюоресценции тромбоцитов.

Реактивность всех тромбоцитов панели часто наблюдается в присутствии антитромбоцитарных аутоантител, однако могут наблюдаться реакции с антителами против наиболее часто встречающихся антигенов, или с группой аллоантител, если панель не содержит антиген-негативной суспензии тромбоцитов. Наиболее приемлемый путь, чтобы исключить аутоиммунный характер этих антител с широким диапазоном реактивности — тестирование сыворотки с аутологичными тромбоцитами.

По возможности, необходимо идентифицировать тромбоцитарные гликопротеиновые мишени для антител. Это достаточно сложная задача, однако важность этого исследования обусловлена тем, что в большинстве случаев сыворотка пациентов предварительно была подвергнута «обработке» аллогенными клетками крови в результате предшествующей гемотрансфузии или при наличии беременности. При этом исследуемая сыворотка «контаминируется» аллоантителами, реагирующими с антигенами HLA I класса, присутствующими в плотных тельцах тромбоцитов. Понятно, что идентификация гликопротеиновых тромбоцитарных антигенов у беременных важна, тем более что чаще всего помимо того, что беременность сама может быть причиной «контаминации» аллоантителами, из-за геморрагических осложнений переливается большое количество препаратов крови, что усложняет стандартную диагностику методом иммунофлюоресценции.

Лабораторная диагностика АИТП, ПТП, ЛОТ и некоторых других тромбоцитопенических состояний у новорожденных в основном базируется на выявлении специфических антитромбоцитарных антител, что может быть осуществлено с помощью электрофоретического определения молекулярного веса гликопротеинов,

включая иммуноблоты или (радио-) иммунопреципитацию. Эти методы достаточно сложны технически и, кроме того, требуют времени. Поэтому предпочтение на сегодняшний день отдается выявлению антигенных мишеней с помощью моноклональных антител. К таким методам относятся реакция иммобилизации моноклональных антител тромбоцитарными антигенами. Методики с использованием моноклональных антител легко выполнимы и позволяют выявлять антитела против GPIIb/IIIa, GPIa/IIa, GPIb/IX, GPV, HLA-антигены 1 класса и другие структуры тромбоцитарных мембран.

Фактически все антитела, реагирующие с HLA-антигенами 1 класса, и большинство антител против GPIa/IIa являются аллоантителами. В противоположность этому, GPIIb/IIIa и GPIb/IX/V несут антигенные детерминанты, распознаваемые аутоантителами, лекарственно-индуцированными антителами (ЛИА) и аллоантителами. Серологический диагноз ПТП основан на обнаружении антитромбоцитарных аллоантител, главным образом против GPIIb/IIIa.

Лекарственно-индуцированные антитромбоцитарные антитела могут быть выявлены с помощью различных методов. Если при этом используется антиглобулин-связывающий метод, то исследование включает несколько этапов (рис.97).

Тромбоциты инкубируются с буфером, содержащим лекарственный препарат, после чего в систему добавляется исследуемая сыворотка. Затем тромбоциты отмываются буфером, содержащим ту же концентрацию препарата. Далее после инкубации с буфером, содержащим конъюгированный человеческий IgG (а, кроме того, ту же концентрацию препарата, что и инкубационная смесь), тромбоциты вновь отмываются, а связывание IgG с поверхностью тромбоцитов обнаруживают методом ферментной иммуносорбции (ELISA) или радиоиммунным методом.

В случаях, когда антителообразование стимулируется не самим лекарственным препаратом, а его метаболитом, положительный результат может быть получен только при использовании в тест-системе этого метаболита, но не самого лекарственного препарата. Задача в данном случае может облегчаться, если известно, что данный метаболит экскретируется почками: моча пациентов, получающих лекарственный препарат, может стать источником необходимого для проведения исследования метаболита.



Рис.97. Общие принципы лабораторного выявления лекарственно-зависимых антител на основе иммуноглобулин-связывающих методов.

Частота ГИТ-II согласно результатам мета-анализов составляет 1,1—1,3% у больных, получающих терапевтические дозы свиного гепарина внутривенно минимум в течение 1 недели. Частота тромбоцитопении приблизительно в 5 раз выше при назначении бычьего гепарина и минимальна у больных, получающих профилактические дозы гепарина и при терапии НМГ.

Частота тромбозов при ГИТ-II недостаточно известна. Согласно результатам исследований, опубликованным до 1990г., тромботические осложнения встречаются в 20% случаев ГИТ-II. Очень часто до осознания возможного наличия гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбоза большинство врачей думают о неудачной (недостаточной) терапии имевшихся ранее тромбозов или связывают появление новых тромбозов на фоне гепаринотерапии с основным заболеванием и сопротивляются прекращению гепаринотерапии, пока не разовьются дополнительные осложнения. Таким образом, гепарин-индуцированный тромбоз и тромбоцитопения часто в клинике диагностируются только после развития новых артериальных или возвратных венозных тромбозов.

В клинической практике часто нелегко доказать является ли снижение количества тромбоцитов результатом гепаринотерапии, особенно в отсутствие специфических биологических тестов для ГИТ-II. В таких случаях диагноз ставится методом исключения:

1. необходимо исключить другие причины тромбоцитопении, так как больные, получающие гепарин, часто коморбидны (инфекция и пр.);

2. если тромбоцитопения возникает только через несколько дней после начала гепаринотерапии в отсутствие других видимых причин, без предшествующей сенсибилизации, необходимо ставить вопрос о дифференцировании ГИТ-I и ГИТ-II:

а) если количество тромбоцитов нормализуется после отмены гепарина, это свидетельствует в пользу ГИТ-II;

б) если снижение количества тромбоцитов ассоциировалось с тромбозом, это также свидетельствует в пользу ГИТ-II.

Однако, несмотря на различные подходы к выявлению ГИТ-II, диагностика должна базироваться на положительных специфичных и чувствительных серологических тестах, вне зависимости от количества тромбоцитов.

Выяснение генеза тромбоза на фоне гепаринотерапии в условиях клиники, не снабженной специальной лабораторией, задача также нелегкая, поскольку встает вопрос: обусловлен ли тромбоз гепарином или связан с недостаточной антикоагулянтной терапией? Только в редких случаях возможна дефиниция — при обнаружении в качестве тромба «белого сгустка», что свидетельствует об иммунном генезе тромбоза.

Таким образом, следует помнить, что тромбозы у всех больных, получающих гепаринотерапию, и тромбозы у больных с установленной ГИТ-II, понятия, конечно же, не синонимичные.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения типа II (ГИТ-II), как уже указывалось, характеризуется появлением гепарин-зависимых антител (ГЗА), которые, как правило, распознают мультимолекулярный комплекс «гепарин»-PF4. Однако в процессе диагностики ГИТ-II следует помнить, что ГИТ-II (так же, как впрочем, и АФС) — клинико-патологический, а точнее, клинико-лабораторный синдром. Поэтому диагноз ГИТ должен основываться на двух критериях:

1. клинические проявления, тромбоцитопения с или без тромбозов;

2. выявление ГИТ-антител (ГЗА).

Лабораторное выявление ГЗА включает функциональные тесты и иммуноферментные методы выявления (см. таблицу 93).

Развитие тромбоцитопении или тромбоза на фоне гепаринотерапии должны всегда настораживать клинициста в отношении вероятной ГИТ II. Диагноз должен быть заподозрен при снижении количества тромбоцитов на 50% без других видимых причин. Синдром поддерживается маленькими количествами гепарина, напри-

мер, при промывании сосудистого катетера и пр. Основные диагностические критерии ГИТ-II представлены в таблице 94.

В настоящее время существует не один метод биологической диагностики ГИТ-II, каждый из которых имеет свои преимущества и недостатки. Типичным методом лабораторной диагностики является прямой тест агрегации тромбоцитов (РАТ), который основан на том, что при инкубации сыворотки больного с ГИТ-II и нормальных тромбоцитов (донорских) после добавления низких концентраций гепарина (0,5 ЕД/мл), но не высоких (100 ЕД/мл), происходит агрегация тромбоцитов. Это объясняется тем, что гепарин-индуцированные иммунные комплексы образуются в присутствии низких концентраций гепарина и разрушаются в присутствии более высоких концентраций гепарина. Кроме того, высокие концентрации гепарина могут ингибировать агрегацию тромбоцитов, вызванную коллагеном и АДФ; механизм этого процесса пока не ясен, однако иммунные комплексы сюда не вовлекаются. Наблюдаемая спонтанная агрегация тромбоцитов или секреция в этом исследовании могут быть обусловлены следовыми количествами гепарина в крови больных; этот гепарин может взаимодействовать с гепарин-обусловленными антителами или предупреждать полную коагуляцию и оставлять остаточный тромбин в сыворотке пациента, который может быть сам по себе причиной агрегации тромбоцитов.

Таблица 93.

Лабораторная диагностика ГИТ.

Снижение количества тромбоцитов на 50% и более от исходного

Функциональный тест, основанный на выявлении активации отмытых тромбоцитов донора в присутствии плазмы пациента и гепарина в терапевтической концентрации

Антигенный анализ по определению антител к комплексу гепарин-РF4

Неспецифические тесты:

- падение уровня АТIII
- падение уровня протеина С
- увеличение концентрации D-димера

Таблица 94.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения типа II (иммунно-идиосинкратическая).

Общие диагностические критерии и клинические проявления:

1. Тромбоцитопения: снижение на 50% или более количества тромбоцитов от исходного уровня.
2. Отсутствие других причин.
3. Подтверждение диагноза исследованиями, направленными на выявление ГЗА.
4. Возвращение количества тромбоцитов к исходной норме после отмены гепарина.
5. Начало проявлений на 5-й день терапии.
6. Снижение количества тромбоцитов на 50% и более.
7. Тромбоз глубоких вен голени.
8. Легочная тромбоэмболия.
9. Геморрагический инфаркт надпочечников.
10. Тромбоз мозговых синусов и церебральных вен.
11. Тромбоз мезентериальных артерий.
12. Тромбоз почечных артерий.
13. Кожные проявления (некроз кожи, эритематозные бляшки).
14. Острая системная реакция (воспалительная или респираторная).
15. Транзиторная амнезия.

Преимуществом этого метода диагностики является высокая специфичность (>90%), а также возможность его применения в обычных гемостазиологических лабораториях. Недостатком метода является недостаточная чувствительность и

зависимость результата от чувствительности (восприимчивости) тромбоцитов донора, которая может быть разной у разных лиц. Это предопределяет использование других биологических методов диагностики.

Несмотря на то, что реакция высвобождения серотонина (SRA) не является «золотым стандартом», этот тест часто используется как наиболее чувствительный и специфичный. Интерпретация этого теста оправдана только в том случае, когда положительный эффект наблюдается при применении низких, но не высоких концентраций гепарина.

Недостатком этого метода является необходимость применения радиоизотопов, а также как и при ПАТ, зависимость результата от ответа (реактивности, чувствительности, восприимчивости) тромбоцитов донора.

Тест гепарин-индуцированной активации тромбоцитов (HIPA) основан на визуальной оценке гепарин-индуцированной тромбоцитопении. Единственным преимуществом этого метода является быстрота осуществления, однако, как уже указывалось, чувствительность его может быть различной.

Обнаружение тромбоцит-ассоциированных IgG для диагностики ГИТ-II недостаточно чувствительный специфичный тест.

PF4/гепарин ELISA тест выгодно отличается то, что он не зависит от индивидуальной восприимчивости донорских тромбоцитов и не требует использования свежих тромбоцитов; но корреляция его с другими вышеуказанными тестами в настоящее время недостаточна. Этот тест показывает, что Ig G подразделен на субклассы IgG1>IgG2>IgG3. Этот тест специфичен, но даже менее чувствителен, чем ПАТ, возможно потому, что в процесс активации тромбоцитов у больных с ГИТ-II могут вовлекаться другие антигены, отличные от PF4 (II-8, нейтрофил-активирующий фактор 2 (NAP-2)).

Несколько других тестов, описанных недавно, таких как люмино-агрегометрия и тест, направленный на обнаружение генерации микрочастиц-derivатов тромбоцита, все еще продолжают оставаться экспериментальными.

При выполнении вышеперечисленных тестов могут отмечаться различные биологические несоответствия. Например, в ряде случаев биологический ГИТ-II-тест может быть отрицательным, когда больной получает гепарин, но становится положительным после отмены гепарина. Это наблюдение может объяснить тот факт, что антитела были полностью связаны с тромбоцитами больного в острую фазу болезни, и стали обнаруживаться только после отмены гепарина.

Также было отмечено, что ГИТ-II антитела могут быть не доступны обнаружению после нескольких месяцев или даже недель, что необычно для аллергических реакций, обусловленных лекарственными средствами. Исходя из этого, часть авторов все еще продолжает отрицать иммунный генез ГИТ-II. Большинство же исследователей объясняет этот факт несовершенством имеющихся в настоящее время тестов: в пользу этого свидетельствуют описанные многими авторами драматические эпизоды ГИТ-II спустя год при повторном назначении гепарина у очевидно сенсibilизированных больных, несмотря на то, что биологические тесты ГИТ-II были отрицательными. И, наконец, тесты, подразумевающие использование донорских тромбоцитов, могут быть постоянно отрицательными: это можно объяснить тем фактом, что реактивность донорских тромбоцитов зависит также и от количества Fc-рецепторов на их поверхности.

Молекулярные аспекты патогенеза гепарин-индуцированной тромбоцитопении

Экспериментальное подтверждение вовлеченности иммуноглобулинов (Ig) в патогенез ГИТ-II было получено уже в 1973 году. Оказалось, что сыворотка и очищенный IgG от двух больных с ГИТII вызывали агрегацию нормальных тромбоцитов в присутствии терапевтической дозы гепарина. Еще раньше сосудистые хирурги, которые удаляли артериальные тромбы у больных с ГИТ, отмечали белый цвет этих

тромбов («синдром белого сгустка»), что наводило на мысль о вовлеченности тромбоцитов в тромбогенез.

То, что гепарин-зависимые антитела (ГЗА) являются потенциальными активаторами тромбоцитов, было подтверждено в дальнейших исследованиях многими авторами, которые, кроме того, показали, что эти ГЗА также вызывают генерацию ТхА2 и высвобождение гранул тромбоцитов. Последнее свойство позволило разработать чувствительные и специфические методы диагностики ГЗА.

Далее было обнаружено, что ГЗА IgG стимулируют генерацию микрочастиц — дериватов тромбоцитов, богатых отрицательно заряженными фосфолипидами с прокоагулянтной активностью.

Механизм активации тромбоцитов у больных с ГИТ достаточно хорошо изучен. Сначала была выяснена роль FcRII (CD 32) тромбоцитарных рецепторов. Эти рецепторы присутствуют на тромбоцитах, нейтрофилах и моноцитах, обладают низким аффинитетом к Fc-части мономерного IgG, но высоким — к IgG-содержащим иммунным комплексам или к IgG, связанному с антигеном на тромбоцитарной поверхности. Большая занятость FcRII рецепторов ведет к трансдукции сигнала, генерации ТхА2 и высвобождению тромбоцитарных гранул. Считается, что возникновение ГИТ связано, в основном, с наличием IgG2. Кроме того, следует отметить, что активированные тромбоциты увеличивают количество FcRII-рецепторов на своей поверхности. Так, Choug et al. (1996), показали увеличение экспрессии FcRII-рецепторов на поверхности тромбоцитов в острую фазу ГИТ.

Следующим шагом в развитии представлений о патогенезе ГИТ было выяснение природы антигена. Вначале считалось, что гепарин, связываясь с тромбоцитами, сам является антигенной мишенью. Однако согласно последним исследованиям, в качестве антигенной детерминанты выступает комплекс между гепарином и тромбоцитарным фактором 4 (PF4). PF4 представляет собой гепарин-связывающий гликопротеин, находящийся в α -гранулах тромбоцита и имеющий свой рецептор на его поверхности.

Таким образом, тот факт, что ГИТ-II является иммуннокомплексным нарушением, суммарно можно представить следующими положениями:

- экспрессия Fc-рецепторов тромбоцитов увеличена у больных с ГИТ-II;
- нормальные Fc-фрагменты ингибируют активацию тромбоцитов, индуцированную сывороткой от больных с ГИТ-II;
- моноклональные антитела, прямо воздействующие на FcRII-рецепторы тромбоцитов, ингибируют активацию тромбоцитов, индуцированную сывороткой от больных с ГИТ-II;
- большинство тромбоцитарных гликопротеинов в процесс не вовлекаются:
 - а) тромбоциты от пациентов с синдромом Бернара-Сулье могут быть активированы сывороткой больных с ГИТ-II;
 - б) моноклональные антитела, направленные против большинства тромбоцитарных гликопротеинов, не ингибируют активацию тромбоцитов, индуцированную сывороткой больных с ГИ-II.

Здесь, однако, следует сделать оговорку в отношении гликопротеина тромбоцитарной мембраны (GP) Ib-IX, который, как считают многие авторы, вовлечен в процесс взаимодействия FcRII-рецептора с комплексами антитело-гепарин-PF4 и активации тромбоцитов. Это влияние обусловлено близостью расположения GP Ib-IX и FcRII на поверхности тромбоцита. В связи с этим примечателен тот факт, что агрегация и секреция тромбоцитов, обусловленные «включением» FcRII-рецепторов, могут блокироваться моноклональными антителами к GP Ib-IX,

Учитывая вышеизложенное, возможной считается следующая модель патогенеза ГИТ-II (рис. 98): после введения гепарина или как следствие тромбоцитического процесса, при котором был применен гепарин, тромбоциты высвобождают из гранул PF4; в крови и на поверхности тромбоцитов появляются комплексы гепарин — PF4. Затем к этим комплексам возникают антитела. Воздействие ан-

тител на FcRII-рецепторы возможно лишь после связывания этих антител со слабо активированными тромбоцитами посредством образования связи с гепарин-PP4-комплексом, который, в свою очередь, связан на поверхности тромбоцитов. В результате возникают, как уже было сказано, трансдукция сигнала и сильная активация тромбоцитов с дальнейшим высвобождением PF4 и микрочастиц с высокой прокоагулянтной активностью. Таким образом, возникает замкнутым порочный круг, приводящий, в конце концов, к развитию гиперагрегации тромбоцитов, и как следствие, к тромбоцитопении и тромбозу. Кроме активации тромбоцитов через FcRII может возникать и активация комплемента.

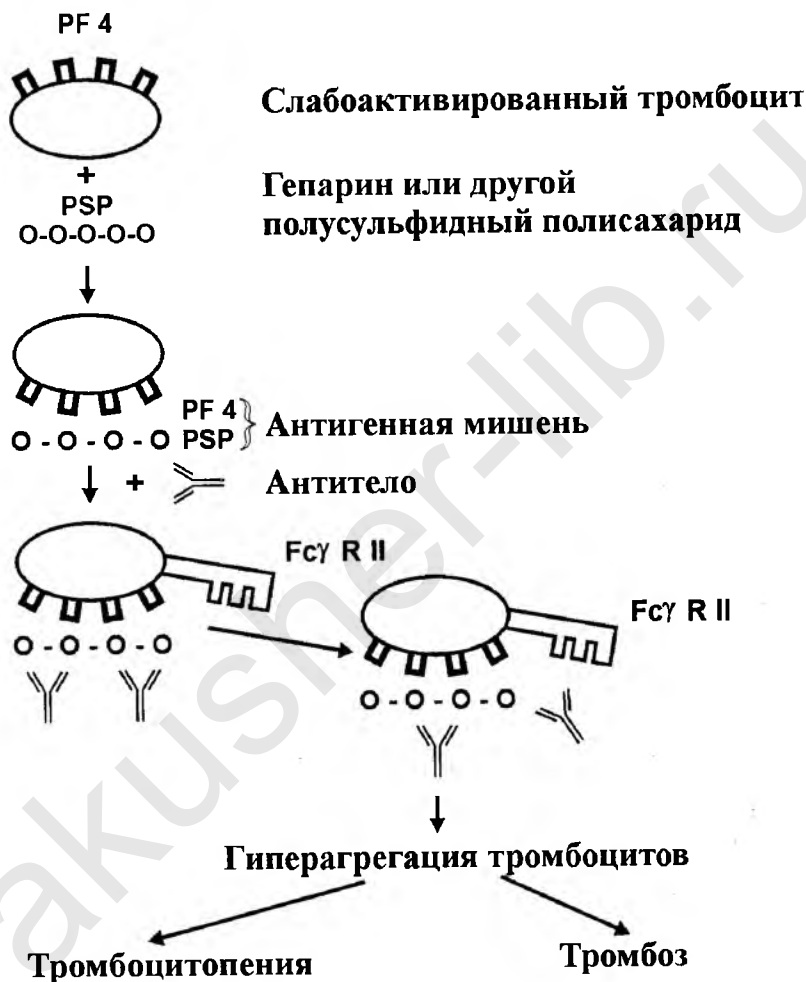


Рис. 98. Механизм гепарин-индуцированной тромбоцитопении (тромбоцитарные эффекты согласно гипотезе Arnout (1997)).

Таким образом, вероятность развития тромбоцитопении (ГИТ-II) во многом зависит от количества FcRII-рецепторов на поверхности тромбоцитов и их чувствительности (восприимчивости) к агонистам. В процессе многих исследований было выяснено, что у лиц, получавших гепаринотерапию с развившейся на фоне этой терапии тромбоцитопенией, количество FcRII-рецепторов оказывалось во много раз больше, чем у лиц, также получавших гепаринотерапию, не осложнившуюся тромбоцитопенией.

Однако количество FcR111-рецепторов было в обеих группах выше, чем у лиц вне гепаринотерапии.

Особо следует отметить, что больные с острыми воспалительными процессами и заболеваниями имеют большую вероятность развития ГИТ-II. Интерлейкин 6 (IL 6) и другие цитокины — медиаторы острой фазы воспаления — стимулируют продукцию большого количества тромбоцитов с повышенной восприимчивостью к действию агонистов: так, при наличии острого воспалительного процесса тромбоциты проявляют большую реактивность в отношении иммунных комплексов гепарин-PF4-антитело.

Конечно, интересен вопрос: почему у одних пациентов в одних и тех же условиях развивается ГИТ-II, а у других — нет.

В настоящее время считается, что у разных индивидуумов существует наследственно обусловленное разное количество FcR111-рецепторов на поверхности тромбоцитов и разная их чувствительность. Восприимчивость молекул рецепторов кодируется различными аллелями. Все это обуславливает неодинаковую активацию тромбоцитов иммунными комплексами.

Существует также мнение, что повышенная «чувствительность» к гепарину FcR111 рецепторов объясняется полиморфизмом гистидин/аргинин в позиции 131 рецептора FcR111: только тромбоциты, фенотип которых представлен экспрессированной аллелью гистидина, способны к активации *in vitro* в присутствии гепарина. Однако взаимосвязь между экспрессией этих допустимых аллелей и подверженностью ГИТ-II не доказана.

В патогенез тромбоза при ГИТ-II вовлечены как тромбоциты, так и эндотелиальные клетки.

Вообще, механизм ГИТ-II уникален по сравнению с другими лекарственно обусловленными тромбоцитопениями. Даже при связывании антител с тромбоцитами в небольших количествах (которое вызывает среднюю тромбоцитопению), тромбоциты проявляют необычайное свойство активироваться с избыточным выбросом микрочастиц-дериватов тромбоцитов, обладающих высокой прокоагулянтной активностью.

Эндотелиальная поверхность несет на себе протеогликаны с гликозаминогликанами боковой цепи, в частности гепаран сульфат (HS), который распознается ГЗА в присутствии PF4. Характерно, что *in vitro* эта реакция не ингибируется анти- FcR111 -антителами .

Исходя из вышеизложенного, гипотетическую модель тромбоза, обусловленного ГИТ II с участием эндотелиальных клеток, можно представить следующим образом (рис. 99):

- А) активация тромбоцитов вызывает высвобождение микрочастиц — дериватов тромбоцитов с высокой прокоагулянтной активностью;
- Б) PF4, высвобождаемый тромбоцитами, может ингибироваться гепарином (связываясь с ним), однако когда ингибиторная активность гепарина истощается, PF4 связывается с гепаран-сульфатом (HS) на поверхности эндотелиальной клетки;
- В) HS-PF4 комплекс распознается ГЗА при ГИТ-типа II;
- Г) эндотелиальные клетки активируются, что ведет к экспрессии тканевого фактора и активации внешнего пути свертывания.

Несмотря на значительный прогресс в понимании патогенеза ГИТ-II, многие вопросы все еще остаются открытыми: Как образуются ГЗА? Почему они возникают не у всех пациентов, получающих гепарин? Как влияет основное заболевание на возникновение ГЗА?

В свете этих вопросов, интересен тот факт, что на сегодняшний день предполагается участие других хемокинов (из PF4-семейства) — IL-8 и нейтрофил-активирующего пептида — 2 (NAP-2) — в антигенном комплексе с гепарином.

Возможно, большая вероятность развития ГИТ II у пациентов с острым воспалительным процессом, объясняется не только активацией тромбоцитов в резуль-

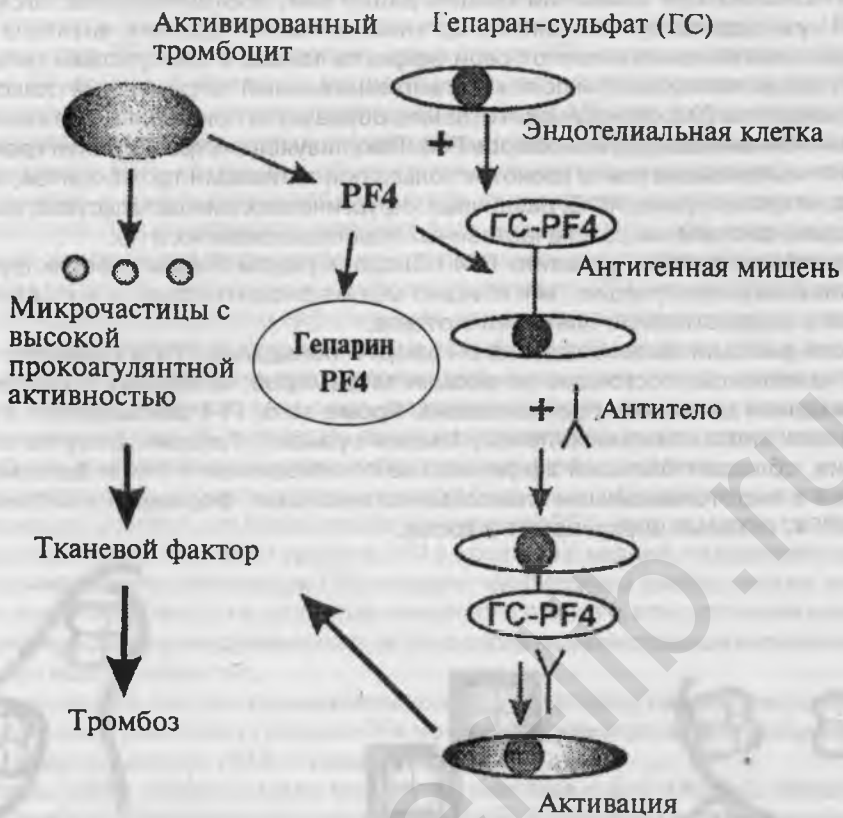


Рис. 99. Механизм гепарин-индуцированной тромбоцитопении (эндотелиальные эффекты), Arnout (1997).

тате прямого действия медиаторов острой фазы воспаления — цитокинов, — но и участием некоторых цитокинов в формировании антигенных мишеней, отличных от «PF4-гепарин».

Кроме того, известно, что риск развития ГИТ зависит от типа применяемого гепарина, степени его сульфатирования, длительности терапии и клинических особенностей пациентов.

Клинические осложнения ГИТ наиболее часто отмечаются у пациентов с высокой концентрацией ГЗА и коморбидными состояниями, сопровождающимися активацией тромбоцитов и эндотелиальных клеток, что часто имеет место при АФС, операциях на сердце и кардиопульмонарном шунтировании, быстро прогрессирующем атеросклерозе и пр.

Хотя ранее ГЗА относили к IgG-изотипу, выяснилось, что (редко) они могут быть представлены и иммуноглобулином М и IgA (примерно у 20% пациентов).

Кроме того, частота ГИТ минимальна при использовании НМГ.

Пристальное внимание ученых в настоящее время приковано к изучению антигенности PF4 в присутствии гепарина, патогенности ГЗА, роли антихемокиновых антител и Fcγ-рецепторов в феномене ГИТ.

Существует предположение, что взаимодействие PF4-гепарин-ГЗА является моделью взаимодействия нео-антигена с антителом. Сущность этого явления заключается в следующем: формирование комплексов между аутологичным белком и чужеродным веществом ведет к образованию нового антигена (неоантигена). Иммунный ответ вследствие появления такого измененного эпитопа быстро снижает-

ся или исчезает при снижении концентрации или, соответственно, отсутствия данной чужеродной субстанции, из организма. Таким образом, антитела к PF4-гепарин-комплексам проявляют свои эффекты только в присутствии гепарина.

PF4 представляет собой положительно заряженный тетрамерный гликопротеин из семейства СХС-хемокинов. Тетрамер образуется при последовательном нековалентном связывании мономеров PF4. Локализуясь внутри α -гранул тромбоцитов, PF4 «выбрасывается» в кровоток только при активации тромбоцитов, как при травме, атеросклерозе, АФС, различных хирургических вмешательствах, диабете, инфекциях, воспалении, злокачественных новообразованиях и пр.

В физиологических условиях PF4 обладает рядом биологических функций, включая иммунорегуляцию, ингибицию мегакариоцитопоэза и ангиогенеза и участие в осуществлении клеточного ответа.

После реакции высвобождения α -гранул и попадания PF4 в кровоток, он образует комплексы, состоящие из восьми тетрамеров, связанных с хондроитинсодержащими димерами протеогликана. Кроме того, PF4 связываются с протеогликанами эндотелиальных клеток (гепаран-сульфат). Гепарин, в случае его присутствия, обладает большей аффинностью по отношению к PF4 и вытесняет его из связи с эндотелиальными гликозаминогликанами, формируя комплексы гепарин-PF4, которые циркулируют в крови.



Повышенное содержание PF4

Стехиометрическая концентрация (27 IU гепарина/мг PF4)

Повышенное содержание гепарина

В присутствии стехиометрических концентраций обеих субстанций формируются мультимолекулярные комплексы. При этом гепарин «окутывает» PF4-тетрамер, изменяя его структуру и придавая ему антигенные свойства.

Рис. 100. Образование комплексов гепарина с PF4 в зависимости от концентраций гепарина и PF4.

В присутствии стехиометрических концентраций гепарин и PF4 (27ME гепарина на миллиграмм PF4) образуются мультимолекулярные PF4-гепарин комплексы (рис. 100).

В стехиометрических концентрациях гепарин располагается вокруг молекулы PF4 («окутывает» ее) и «нарушает» его структуру таким образом, что она становится антигенной. Только мультимолекулярные комплексы могут выступать в роли антигенов у пациентов, получающих гепарин. Таким образом, иммуногенность комп-

лексов зависит строго от соответствующих концентраций гепарина и PF4. Если рассматривать обычный терапевтический диапазон для гепарина (0,1—1 МЕ/мл), то количество PF4 для образования комплексов PF4-гепарин должно составить от 3 до 40 мкг/мл. К примеру, пациенты при кардиопульмонарном шунтировании получают более высокие дозы гепарина (до 3 МЕ/мл), соответственно, для формирования иммуногенных комплексов гепарин-PF4 необходимы большие концентрации PF4, которые и образуются вследствие интенсивной активации тромбоцитов в результате необходимости формирования экстракорпорального кровотока. Таким образом, следует еще раз отметить, что создание благоприятных условий для формирования оптимальных концентраций гепарина и PF4 и, соответственно, антигенных комплексов гепарин-PF4, во многом зависит от дозы гепарина и основного заболевания или патологического состояния, которые вызывают значительную активацию тромбоцитов и выброс PF4 в кровоток.

Интенсивность гепарин-индуцированного иммунного ответа, таким образом, зависит от присутствия и, возможно, персистирования мультимолекулярных PF4-гепарин-комплексов. В частности, высокие концентрации этих комплексов могут быть одним из важнейших пусковых факторов иммунного ответа.

Несмотря на то, что дозы гепарина могут быть разными у различных пациентов, тем не менее, условия для образования комплексов PF4-гепарин могут складываться довольно часто. Так, если уровень PF4 в кровотоке низкий, то соответственно и для формирования комплексов PF4-гепарин необходимы крайне низкие концентрации гепарина. Шансы на развитие иммунного ответа в этих условиях малы. Однако какова роль индивидуального ответа на столь незначительные антигенные стимулы, все еще не известно.

В то же время, как уже ранее указывалось, у некоторых пациентов с очевидной ГИТ, антитела к комплексу гепарин-PF4 не обнаруживаются, хотя функциональные тесты свидетельствуют (РТА) о наличии ГЗА.

Amiral (1996) выявил у таких пациентов антитела к IL-8 и NAP-2. Выяснилось, что механизмы образования антител к IL-8 и NAP-2 отличаются от таковых при формировании антител к комплексу PF4-гепарин: эти антитела могут являться истинными аутоантителами.

У некоторых пациентов еще до начала гепаринотерапии могут присутствовать антитела к хемокинам, таким как IL-8, NAP-2 или, возможно, непосредственно к PF4. Эти антитела могут играть регуляторную роль в воспалении. Кроме того, они могут присутствовать в высоких концентрациях при некоторых заболеваниях (чаще интерлейкин 8). У некоторых пациентов наблюдается циркуляция истинных аутоантител к PF4, которые в отсутствие гепарина не проявляют патогенных эффектов. В процессе гепаринотерапии PF4 и другие хемокины, высвобождаемые из пулов накопления, связываются с гепарином на клетках крови и эндотелиальных клетках. Таким образом, формирующиеся ГЗА могли бы повреждать эти клетки, инициируя иммунный ответ. Количество комплексов хемокин-гепарин, связывающихся с клетками крови и эндотелиоцитами, зависит от ряда факторов: количества высвобожденных из пулов накопления хемокинов (то есть клинического состояния пациента), типа и дозы гепарина, присутствия активированных клеток с повышенной способностью связываться с антителами, подобными таковым против комплексов гепарин — PF4. Антихемокиновые антитела могут вызывать активацию клеток и взаимодействие типа клетка-клетка, способствуя агрегации, что в дальнейшем ведет к окклюзии сосуда.

В большинстве случаев ГИТ II все же в роли антигенной мишени выступают комплексы гепарин-PF4. При этом антитела представлены иммуноглобулином G, по крайней мере, у 80 % пациентов, у остальных — это иммуноглобулин M и/или A в высоких концентрациях.

Клиническое состояние пациентов, определяющее степень активации тромбоцитов, является одним из ключевых факторов, определяющих клинические про-

явления и исходы ГИТ II. Активированные тромбоциты продуцируют высокие концентрации PF4, которые вновь могут вступать в комплексообразование с гепарином, замыкая тем самым порочный круг. Более того, такие тромбоциты еще более активируются ГЗА.

Другим важным фактором формирования ГЗА является тип гепарина: его олигосахаридный состав, длина полисахарида и степень сульфатирования. Для формирования PF4-гепариновых комплексов необходимы наличие 12—14 олигосахаридных единиц и высокая степень сульфатирования (более трех сульфатных групп в дисахариде). Кроме того, связывание гепарина с клетками крови и эндотелиальными клетками также повышается с увеличением длины цепи молекулы гепарина и степени сульфатирования.

Таким образом, структура гепарина обуславливает двойной эффект в происхождении ГИТ: она необходима для формирования комплекса PF4-гепарин, а также для фиксации этого антигенного комплекса на поверхности клеток. Это объясняет более высокую частоту развития ГЗА при назначении нефракционированного гепарина (НГ) по сравнению с НМГ. В случае НГ комплексы PF4-гепарин образуются легче и требуют меньших концентраций гепарина по сравнению с НМГ. Из НМГ только те, которые содержат «набор» молекул, по крайней мере, с 12—14 олигосахаридными единицами (молекулярная масса более 3600) могут генерировать иммунореактивные PF4-гепарин комплексы. А учитывая, что НМГ имеют низкую способность образовывать комплексы с PF4 и связываться с тромбоцитами и эндотелиальными клетками, терапия НМГ крайне редко является причиной тромбоцитопении (в ряде случаев даже при наличии в кровотоке патогенных ГЗА).

Интересно, что в последнее время появляются данные, свидетельствующие, что активация тромбоцитов при ГИТ может происходить через другие механизмы, в частности, через прямое связывание антител с экспонированными клеточными антигенами (минуя FcγRIIIa-рецепторы). Это феномен зависит от электрического заряда антигена. Гепарин обладает высоким отрицательным зарядом. Такая прямая активация через связывание с антигеном подтверждается агрегацией тромбоцитов в образцах плазмы некоторых пациентов, содержащих только антитела Ig M и Ig A изотипов. Образование гепарин-содержащих иммунных комплексов на поверхности клеток может инициировать взаимодействие клеток крови и эндотелиоцитов, что еще более увеличивает активирующий эффект. Межклеточные взаимодействия могут развиваться и усиливаться при высвобождении в кровотоке таких продуктов, как хемоаттрактанты, которые активируют клетки, а также через межклеточный метаболизм. Продукты тромбоцитарного происхождения, в частности, PF4 и микрочастицы с высокой прокоагулянтной активностью, в свою очередь могут индуцировать активацию лейкоцитов. Продукты активации лейкоцитов (так же, как катепсин G), могут напрямую активировать тромбоциты и расщеплять β-тромбоглобулин (его пул накопления в тромбоцитах) до активного хемокина NAP-2, замыкая тем самым амплификационный круг (рис.101). Тромбоцитарно-лейкоцитарные агрегаты могут формировать сосудистые тромбы, в особенности в сосудах конечностей.

Другим ключевым фактором развития ГИТ II является гетерогенность антител. Для того чтобы ГЗА вызвали постоянную активацию тромбоцитов, необходимы амплификационные механизмы. Концентрация ГЗА — важный фактор, определяющий степень активации тромбоцитов; также чрезвычайно важна и аффинность антител: чем больше аффинность, тем меньшие концентрации антител необходимы для активации тромбоцитов. Аффинность IgM и IgA изотипов по отношению к комплексу PF4-гепарин обычно меньше, чем IgG-изотипа, соответственно, для активации тромбоцитов необходимы высокие концентрации изотипов IgM и IgA.

Наконец, не все ГЗА связываются с одними и теми же эпитопами на поверхности PF4-гепарин комплексов, и эта специфика также имеет важное значение. Таким образом, анти-PF4-гепарин антитела весьма гетерогенны: более патогенными являются высоко аффинные антитела. Последние исследования показали,

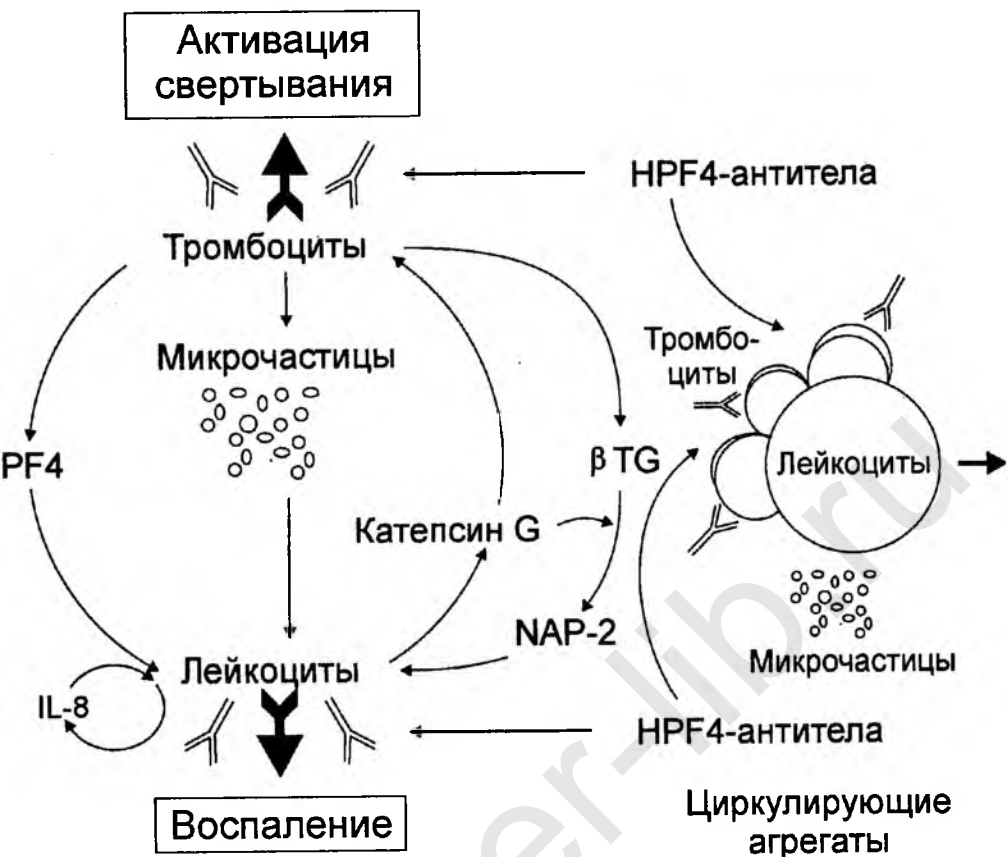


Рис. 101. Механизм межклеточных взаимодействий в процессе активации свертывания крови или в условиях воспаления

Присутствие гепарин-зависимых антител увеличивает количество клеток, участвующих в процессах свертывания крови и воспалении, усиливает межклеточное взаимодействие и активацию клеток, что ведет к образованию тромбов и/или циркуляции в кровотоке агрегатов клеток.

- Н-PF4 — комплекс гепарин-фактор 4 тромбоцитов
- IL-8 — интерлейкин 8
- NAP-2 — нейтрофил-активирующий пептид-2
- βTG — β-тромбоглобулин

что в первичную активацию тромбоцитов при ГИТ вовлекаются АДФ-рецепторы, и в процессе агрегации тромбоцитов участвуют GPIIb/IIIa. Это еще раз подтверждает важность формирования «амплификационного» круга активации тромбоцитов для возникновения клинических манифестаций ГИТ.

4. Принципы терапии ГИТ-II

Терапия ГИТ на сегодняшний день задача достаточно сложная ввиду многих причин, которые будут обсуждаться далее. Однако прежде, чем перейти к вопросам непосредственно терапии, следует отметить, что успех ее зависит, в первую очередь, от правильной и своевременной диагностики. Поскольку методы выявления ГЗА и другие функциональные методы диагностики ГИТ не всегда доступны большинству (даже высококвалифицированным) клиник, важнейшее значение приобретают вопросы профилактики ГИТ:

1. Если в анамнезе имеется предыдущая сенсбилизация к гепарину, то следует выбрать альтернативную антитромботическую терапию, которая будет обсуждаться ниже.

2. Если в анамнезе нет предварительной сенсбилизации к гепарину, могут быть даны следующие рекомендации:

а) предпочтительно применение низкомолекулярного гепарина (НМГ) вместо нефракционного (НГ). Многочисленные исследования показали, что частота ГИТ-II достоверно ниже (почти казуистика) после применения НМГ, чем после НГ;

б) если все же планируется использование гепарина, то необходимой мерой является подсчет количества тромбоцитов (простой метод, доступный практически любой клинике) до начала терапии и в процессе гепаринотерапии (на 5-й, 10-й и 14-й день);

в) если в последующем необходима длительная антикоагулянтная профилактика, имеет смысл как можно более раннее начало варфаринотерапии (наряду с гепарином), чтобы тем самым уменьшить продолжительность воздействия гепарина; по достижении терапевтических значений МНО гепарин отменяется.

Если уровень тромбоцитов снижается на 50% или более от исходного, либо абсолютное количество тромбоцитов составляет менее $100 \times 10^9 / \text{л}$ на фоне гепаринотерапии, то если даже нет возможности подтвердить наличие анти-PF4-гепарин антител лабораторно, необходимо немедленно отменить гепарин вследствие высокой вероятности ГИТ-II, даже если клинические тромботические проявления отсутствуют. Высокий процент заболеваемости и смертности у пациентов с ГИТ-II оправдывают такой подход, равно как и «агрессивную» терапию ГИТ.

К сожалению, даже ранняя отмена гепарина у пациентов с ГИТ-II не предотвращает развитие тромботических отклонений, хотя может существенно снижать смертность. По данным Warkentin et al., у 85% пациентов с ГИТ-II развиваются субклинические тромбозы, которые подтверждаются только при венографии. В связи с этим обстоятельством противотромботическая профилактика у пациентов с ГИТ-II даже в отсутствие клинически выраженных тромбозов является непременным условием предотвращения тромбозомболических осложнений.

С учетом патогенеза ГИТ-II терапия ее подразумевает:

1. прерывание иммунного процесса отменой гепарина;
2. немедленное снижение повышенного тромбообразования;
3. лечение ГИТ-ассоциированных тромбозов.

К альтернативным препаратам, которые обычно рассматриваются при лечении ГИТ-II, относятся хорошо известные препараты (декстран, варфарин, аспирин и пр.) и новые препараты, многие из которых у нас в стране еще не зарегистрированы (табл. 95).

Таблица 95.

Лечение ГИТ-II / ГИТ-ассоциированных тромбозов.

Отмена гепарина

Обычное лечение

- Декстран
- Варфарин
- Аспирин
- Плазмаферез
- Внутривенно иммуноглобулин
- Тромболитики

Новые препараты

- Анкрод
- Новые антитромбоцитарные препараты
- Гепариноиды (данапароид)
- Низкомолекулярные гепарины
- Ингибиторы тромбина
- Ингибиторы FXa

Что касается «старых» препаратов, то они имеют ряд недостатков, которые ниже будут обсуждаться. В то же время большие надежды возлагаются на новые препараты, которые, к сожалению, не всегда доступны.

Хотя оральные антикоагулянты, в частности, варфарин, фенпрокумон и др. являются важной частью длительной антикоагулянтной профилактики у пациентов с ГИТ-II-ассоциированными тромбозами, они неэффективны и потенциально опасны, если применяются в качестве монотерапии или в комбинации с анкродом у пациентов с острым ГИТ-II. У пациентов с острым ТГВ ОАК могут способствовать прогрессированию тромбоза, включая систему микроциркуляции, вплоть до развития венозной гангрены конечностей. Как ранее уже указывалось этот эффект связан с быстрым падением уровня протеина С, характерным для ОАК, что в условиях тромбофилии, обусловленной ГИТ-II, может способствовать усугублению протромботического статуса.

Таким образом, варфарин противопоказан у пациентов с острым ГИТ-II, если только не используется в сочетании с препаратом, снижающим тромбообразование.

Декстран в высоких концентрациях ингибирует функцию тромбоцитов и полимеризацию фибриногена. Кроме того, отмечается ингибция и ГИТ-обусловленной агрегации. Однако последние проспективные рандомизированные исследования показали, что декстран менее эффективен у пациентов с тяжелым ГИТ-II-ассоциированным тромбозом, чем данапароид. Кроме того, применение декстрана имеет и негативные стороны. Например, при длительной (48—72 часа) инфузии декстрана нередко наблюдаются тахифилактические проявления, также повышен и риск анафилаксии, в особенности, если декстран применяется в комбинации с другими препаратами.

Исходя из этих обстоятельств:

Декстран не является средством первичной терапии у пациентов с острой ГИТ-II, осложненной тромбозом.

Альтернативные антикоагулянты

Несмотря на то, что альтернативная антикоагулянтная терапия ГИТ-II требует применения антикоагулянтов с немедленным эффектом, к сожалению, даже новые препараты, обладающие требуемыми свойствами, не лишены побочных эффектов, как-то высокий риск геморрагических осложнений, отсутствие антидота и пр. Это обстоятельство еще более усложняет ведение пациентов с ГИТ-II, в некоторой степени объясняет отсутствие стандартных режимов терапии ГИТ-II и, конечно, стимулирует поиск оптимальных противотромботических препаратов.

Одним из таких относительно новых препаратов является дефибрирующий агент — Анкрод, который, в основном, применяется в США. Анкрод является очищенной фракцией яда малазийской гадюки *Agkistrodon rhodostroma*. Поскольку антикоагулянтный механизм анкрода обусловлен непрямым антифибриновым действием, зависящим от эндогенной фибринолитической системы (что делает практически невозможным измерение/мониторинг эффекта), то существует риск развития как геморрагических, так и тромботических осложнений. В связи с этими обстоятельствами, хотя анкрод и является альтернативой гепарину, он не является препаратом выбора при лечении ГИТ-II. Недостатком его является и отсутствие антидота.

Анкрод энзиматически «отщепляет» фибринопептид А (но не фибринопептид В) от молекулы фибрина. Растворимый фибрин, образующийся под действием анкрода, связывается с t-РА и плазминогеном. Плазмин расщепляет фибрин. Таким образом, депозиция фибрина и образование сгустка предотвращается эндогенным фибринолизом.

Тромбоз на фоне терапии анкродом может развиваться в случаях, если эндогенная фибринолитическая активность снижена, или в присутствии антифибринолитических агентов (как ϵ -аминокапроновая кислота).

В то же время, если уровень эндогенного PAI аномально повышен (что имеет место во время беременности, при травме, инфекции, злокачественных новообразованиях, полиморфизма гена PAI — 1 49g/49g), тромбоз потенциально возможен в результате ингибирования t-PA и снижения фибринолитической активности.

Анкрод вводится внутривенно или подкожно.

В ходе терапии уровень фибриногена должен составлять около 50мг/дл (20—70мг/дл). После внутривенной инфузии уровень фибриногена снижается в течение нескольких часов, однако терапевтический антикоагулянтный эффект обычно развивается через 12 часов.

Все препараты (плазмозаменители, другие антикоагулянты, тромболитики и антитромбоцитарные препараты) до назначения Анкрода должны быть отменены, чтобы не влиять на его эффект.

Экспериментальные исследования на животных показали, что при некоторых клинических ситуациях, в частности, при септицемии, анкрод способствует повышению депозиции фибрина. При комбинированной же терапии с варфарином описываются случаи развития венозной гангрены конечностей.

Таким образом,

Анкрод не желательно применять для лечения пациентов с ГИТ-II.

Антитромбоцитарные препараты, такие как аспирин и дипиридамол (курантил) применяются у пациентов с ГИТ-II с переменным успехом. Здесь следует отметить, что эффекты ГИТ-II не ограничиваются только активизацией тромбоцитов: они гораздо шире (см. патогенез ГИТ-II), кроме того, *in vitro* не всегда наблюдается ингибция эффектов ГЗА на тромбоциты. Поэтому:

Антитромбоцитарные препараты, такие как аспирин, могут применяться в качестве дополнительной терапии к основной антикоагулянтной, в особенности, если существует высокий риск артериального тромбоземболизма. При этом следует взвесить эффективность и риск геморрагий.

Что касается возможности применения ингибиторов тромбоцитарных гликопротеинов (GPIIb/IIIa), то монотерапия ими также недостаточна у пациентов с ГИТ-II.

Ингибиторы GPIIb/IIIa блокируют связывание фибриногена с поверхностью тромбоцитов. Кроме того, они способны снижать тромбообразование, ингибируя экспозицию прокоагулянтных фосфолипидных поверхностей на тромбоцитах. *In vitro* антагонисты GPIIb/IIIa ингибируют активацию тромбоцитов, эндотелиальных клеток и образование тромбоцитарных микрочастиц, вызванных ГЗА. Тем не менее, Fc-рецептор-зависимая активация тромбоцитов ГЗА не зависит от комплекса GPIIb/IIIa, поэтому ингибиторы GPIIb/IIIa не ингибируют реакцию высвобождения гранул. Возможно, их применение будет успешно в комплексе с антикоагулянтами, хотя следует отметить возможность синергичных эффектов и повышения риска кровотечений. В связи с этим, возможность использования ингибиторов GPIIb/IIIa в комплексе с антикоагулянтами пока изучается.

Самые ранние исследования показали эффективность Данапароида в лечении ГИТ-II. Данапароид (Organon, Oss, Нидерланды) является низкомолекулярным гепариноидом — смесью негепариновых полисульфированных гликозаминогликанов (гепаран-сульфат, дерматан-сульфат, хондроитин-сульфат и низкомолекулярный гепарин) — получаемым из слизистой кишечника свиней. Антикоагулянтный эффект Данапароида в основном связан с анти-Xa активностью. Несмотря на сходство в структуре, Данапароид отличается от гепарина меньшей степенью сульфатирования и молекулярной массой, что теоретически снижает его способность формировать антитромбоцитарные антитела. Исследования *in vitro* свидетельствуют о значительно меньшей способности Данапароида вызывать агрегацию тромбоцитов в присутствии ГИТ-позитивной сыворотки по сравнению с гепарином: соответственно 18% положительных реакций для Данапароида и 100% для гепарина. В связи с этим долгое время Данапароид считался препаратом выбора для лечения ГИТ-II.

На сегодняшний день с появлением рекомбинантных гирудинов, возможно, Данапароид утерять первые позиции. Однако если речь идет о лечении ГИТ-II у беременных, то в таких случаях Данапароид, действительно, препарат выбора, поскольку не проникает через плаценту.

Данапароид успешно применяется в различных клинических ситуациях, таких как гемодиализ, плазмаферез, лечении ТЭЛА, лечении венозных и артериальных тромбозов, нестабильной стенокардии, а также в процессе внутриартериальной баллонной дилатации. Тем не менее, одним из недостатков Данапароида является отсутствие антидота, в то же время ряд исследований сообщают о повышенном риске послеоперационных кровотечений, а также кровотечений при предлежании плаценты при длительном (более 6 месяцев) применении Данапароида.

Безусловно, Данапароид является лучшим выбором, чем НМГ для лечения ГИТ-II, хотя в редких случаях возможна перекрестная реакция с гепарином и образование ГЗА и при применении Данапароида. Поэтому до назначения его необходимо проведение исследования *in vitro* с плазмой пациента на предмет возможной агрегации тромбоцитов в присутствии Данапароида. В отличие от рекомбинантного гирудина, Данапароид имеет более длинное время полувыведения, а соответственно и антикоагулянтный эффект его отсрочен (табл. 96).

Таблица 96.

Альтернативные антикоагулянты для лечения ГИТ-II.

Препарат	Механизм действия и фармакокинетика	Мониторинг	Нежелательные эффекты	Комментарий
Данапароид (Organon Lomoparan, Org 10172)	Смесь гликозаминогликанов с анти-Ха активностью >> анти-IIa активностью. Катализирует ин-активацию фактора Ха анти-тромбином III (AT-III) и фактора IIa с помощью ATIII и HCII. Биодоступность после подкожного введения ~100%, пик анти-Ха активности через 4—5 ч. после инъекции t 1/2 анти-Ха активности 17—28 ч (в среднем 2,5 ч.); t 1/2 анти-IIa активности 2—4 ч.	Уровень ATIII до начала терапии. Анти-Ха уровень в процессе терапии. Количество тромбоцитов в процессе терапии. Мониторинг рекомендуется пациентам: 1. со значительным нарушением функции почек; 2. С весом тела <45кг или >110кг; 3. С угрожающими жизни тромбозами и риском ампутации конечности; 4. С внезапным кровотечением; 5. В критическом состоянии.	Перекрестное реагирование с ГЗА (редко); необходим мониторинг количества тромбоцитов в процессе терапии. Геморрагические осложнения — редко. Кожные реакции гиперчувствительности — очень редко.	Антикоагулянтный эффект зависит от адекватного уровня ATIII. Значительно не удлиняет АЧТВ, АВР, ПВ/МНО. Необходимо снижение дозы при уровне креатинина >265 мкмоль/л. Антидот отсутствует: в случае передозировки — отмена препарата и трансфузия плазмы
Рекомбинантный гирудин (Лепирудин, Рефлюдан)	Рекомбинантный протеин пиявки, прямой ингибитор тромбина;	АЧТВ в процессе лечения (более эффективный — с помощью эка-	Развитие анти-гирудиновых антител ~ у 40% пациентов. При	Доза должна быть снижена, если концентрация креати-

Препарат	Механизм действия и фармакокинетика	Мониторинг	Нежелательные эффекты	Комментарий
	как свободного, так и в составе сгустка. Биодоступность после подкожной инъекции ~ 100%, пиковый эффект ~ через 2—3 ч. после внутривенного введения — 2 ч. $T_{1/2}$ —1,3 ч., значительно удлиняется при почечной недостаточности	ринового теста свертывания крови (ЭВС). Мониторинг с помощью ЭВС показан при внезапном кровотечении.	этом у 3% эти антитела усиливают антикоагулянтный эффект гирудина, что требует снижения дозы. Аллергические реакции — крайне редко. Кожная гиперчувствительность — очень редко. Геморрагические осложнения (в среднем 17%).	нина в плазме > 120 мкмоль/л. Антидот отсутствует. В случае передозировки необходимо отменить препарат и лечить компонентами крови, по показаниям гемофильтрация (при угрожающем жизни кровотечении), сочетание с аспирином и др. антитромбоцитарными препаратами может повышать риск кровотечений.

Применение НМГ в качестве альтернативного антикоагулянта у пациентов с ГИТ-II — неоднозначный вопрос. Хотя НМГ имеют меньший молекулярный вес и крайне редко являются причиной ГИТ-II, если до НМГ не использовался гепарин или у пациента отсутствуют ГЗА, *in vitro* исследования и сообщения клинических исследователей свидетельствуют о возможности перекрестной реакции НМГ с гепарином в 80% случаев. В то же время встречаются сообщения об успешной терапии ГИТ-II НМГ. Казалось бы, дилемма «применять или не применять» НМГ, может быть разрешена проведением теста на перекрестное реагирование с плазмой пациента и тромбоцитами в присутствии НМГ до его возможного назначения; и в случае отрицательной реакции агрегации тромбоцитов — назначать НМГ. Однако, учитывая недостаточно высокую чувствительность этого метода, возможны ложноотрицательные результаты в связи с чем:

Применение НМГ в качестве альтернативного антикоагулянта у пациентов с ГИТ-II не показано.

Наиболее многообещающим классом препаратов для инициальной терапии пациентов с ГИТ-II являются прямые ингибиторы тромбина. Гирудин, гирулог и аргатробан находятся на завершающей фазе клинических испытаний. Эти препараты, столь многообещающие, во-первых, потому, что не обладают структурным сходством с гепарином, и потому не дают перекрестного реагирования с ГЗА.

Одним из положительных качеств прямых ингибиторов тромбина является быстрый антикоагулянтный эффект. Кроме того, гирулог и аргатробан могут легко контролироваться с помощью АЧТВ.

Рекомбинантный гирудин (лепирудин, рефлюдан) — основной антикоагулянт, применяемый для лечения ГИТ-II в Германии. Его основные характеристики представлены в таблице 96.

Аргатробан (Novastan; Texas Biotechnology, Houston, TX, U.S.A.) — чаще применяется в США. Этот прямой ингибитор тромбина ингибирует тромбин в составе сгустка. Однако несмотря на сообщения об успешном применении его у пациентов с ГИТ-II, Lewis et al.(1997) сообщают о наблюдаемой высокой смертности пациентов, получавших аргатробан. Возможно, объяснением этому факту является тяжесть тромботических проявлений ГИТ-II или наличие коморбидных состояний. Тем не менее, Аргатробан применяется в качестве инициальной терапии ГИТ-II.

Все же наиболее удачный опыт лечения ГИТ-II связан с рекомбинантным гирудином, который на сегодняшний день пока является препаратом выбора при лечении ГИТ-II, за исключением, как уже указывалось, беременных, поскольку проникает через плаценту.

Во время беременности достойной альтернативой остаются гепариноиды (да-напароид).

В настоящее время изучается возможность применения новых антикоагулянтов — ингибиторов фактора Ха — в лечении ГИТ-II. Синтетический пентасахарид не демонстрирует повышения агрегационного ответа тромбоцитов в присутствии ГИТ-позитивной сыворотки. В свете современных представлений о патогенезе ГИТ-II, это связано с тем, что пентасахарид в силу своей химической структуры не взаимодействует с PF4, а потому не способствует последующему выбросу PF4 из тромбоцитов, как это происходит в случае гепарина и реже — НМГ. Возможно, первый коммерческий пентасахарид Арикстра (Sanofi-Syntelabo, France) будет успешно применяться при терапии ГИТ.

«Гиперагрегационный» ответ тромбоцитов в условиях ГИТ-II связан не только с молекулярным весом гепарина, но и стехиометрическим соотношением между гепарином, PF4 и ГЗА. Так, наличие от 6 до 10 сахаридных единиц еще может поддерживать стехиометрическое соотношение, наличие же в молекулярной цепи более 10 сахаридных единиц достоверно повышает частоту стехиометрических взаимодействий.

В связи с этим и НМГ с меньшей молекулярной массой гораздо реже вызывает образование ГЗА, чем НГ, а фракции НМГ с молекулярной массой 1800Да и меньше значительно не влияют на тромбоцитарный ответ. В соответствии с этим, пентасахарид с молекулярной массой 1714Да теоретически не должен вызывать перекрестного реагирования с ГЗА.

Таким образом, большинство ингибиторов тромбина и пентасахарид (Org 315), которые прошли клинические испытания, развивают антикоагулянтный эффект без активации тромбоцитов; являются химически и иммунологически инертными у пациентов с ГИТ-II. В связи с этими обстоятельствами именно эти препараты претендуют на роль препаратов выбора при лечении ГИТ-II.

В ряде случаев при ГИТ-II необходимо решение вопроса о применении дополнительных методов терапии ГИТ-II, к каковым относятся внутривенное введение гаммаглобулина, плазмаферез, тромболитическая терапия, хирургическая тромбэктомия. Их место в клиническом ведении пациентов с ГИТ-II будет рассмотрено ниже.

В процессе клинического ведения пациентов с ГИТ-II объективно возможны следующие клинические ситуации:

1. Изначально гепарин назначался с целью антикоагуляции у пациентов с документированными тромботическими проявлениями (клинически выраженные венозные тромбозы, ТЭЛА, инфаркт миокарда, периферические артериальные тромбозы и пр.), что вызвало развитие ГЗА. В таких случаях необходимость антикоагулянтной терапии очевидна; при этом рекомендована терапия ингибиторами тромбина до тех пор, пока не будет достигнут адекватный уровень антикоагуляции и минует «острый период», в последующем наряду с ингибиторами тромбина назначается варфарин и, по достижении терапевтических значений МНО, ингибитор тромбина отменяется.

2. Гепарин назначался пациентам, требующим длительной оральной антикоагулянтной профилактики, у которых до назначения гепарина не выявлялся тром-

боз или тромбоземболия (искусственные клапаны сердца, предсердная фибрилляция, тромбофилическое состояние — в результате различных причин, включая АФС, генетические и комбинированные формы тромбофилии и пр.).

Если ГИТ-II при этом сопровождается только тромбоцитопенией без тромбозов, в таких случаях оправдано вместе с внутривенным введением ингибитора тромбина (например, лепирудина) начать антикоагуляцию варфарином. По достижении терапевтических значений МНО доза ингибитора тромбина постепенно снижается, а затем препарат полностью отменяется.

3. Гепарин назначался для временной антикоагулянтной профилактики у пациентов, не требующих длительной оральной антикоагулянтной профилактики. ГИТ-II не сопровождается тромбозами.

Поскольку риск развития тромботических осложнений высок, а смертность у пациентов с ГИТ-II и тромбозами в среднем составляет 25—30%, необходима антикоагулянтная профилактика, несмотря на отсутствие других (помимо ГИТ-II) факторов риска тромбоза. При этом целесообразно начинать терапию ингибитором тромбина с малых доз. Одновременно назначается варфарин, по достижении терапевтических значений МНО, ингибитор тромбина отменяется.

Следует отметить, что при полной антикоагуляции ингибитором тромбина количество тромбоцитов превышает $100 \times 10^9/\text{л}$. Некоторые авторы рекомендуют по окончании терапии ингибитором тромбина назначать наряду с варфарином низкие дозы аспирина. Как только ГЗА лабораторно не обнаруживаются, терапия прекращается.

При ведении пациентов с ГИТ-II первое, что необходимо сделать — тщательно исследовать все возможные источники эндогенного поступления в организм гепарина и устранить их (включая внутрисосудистые катетеры, покрытые гепарином, применение гепарина при процедуре гемодиализа и пр.); гепаринотерапия отменяется.

Раннее применение плазмафереза у пациентов с ГИТ-II и ГИТ-индуцированными тромбозами может быть эффективным. При этом целесообразно проводить плазмаферез с использованием в качестве замещающей жидкости плазмы. При этом достигается двойной эффект: во-первых, выводится антитела и комплексы антиген-антитело; во-вторых, что крайне важно, возмещается уровень естественных антикоагулянтов, привносимых переливаемой плазмой.

Плазмаферез особо необходим при тромбозах, угрожающих жизни и при высоком риске ампутации конечности. Плазмаферез проводится ежедневно, при этом необходимо оценивать динамику снижения уровня ГЗА. Если в течение трех дней плазмафереза положительная динамика не отмечается, то дополнительно назначается терапия иммуноглобулином.

Терапевтический эффект ВВИГ связывают с ингибцией ГЗА-индуцированной активации тромбоцитов посредством как интактного Ig G, так и Fc-фрагментов, поступающих при ВВИГ. Следует заметить, что эти эффекты зависят от метода производства иммуноглобулина. В литературе встречаются сообщения о быстром подъеме количества тромбоцитов у пациентов с ГИТ-II после введения высоких доз ВВИГ. Видимо, включение в антикоагулянтную терапию ГИТ-II в качестве дополнительной терапии ВВИГ обоснованно в угрожающих жизни ситуациях или при тяжелом тромбозе конечностей, угрожающем развитием гангрены. При этом доза ВВИГ должна составлять 1г/кг веса тела в день. Терапия продолжается ежедневно не менее двух дней.

Следует подчеркнуть, что основная терапия ГИТ-II — антикоагулянтная. Остальные методы носят адьювантный характер.

Как уже указывалось, прямой ингибитор тромбина назначается в дозе, поддерживающей терапевтический уровень АЧТВ. Варфарин назначается не ранее, чем через 48 часов после начала терапии ингибитором тромбина. Начинать терапию варфарином следует с малых доз, терапия же ингибитором тромбина продолжается до тех пор, пока не достигается терапевтическое значение МНО.

При одновременном проведении плазмафереза следует учитывать, что, у пациентов при плазмаферезе происходит «механическое» снижение уровня

факторов свертывания. Поэтому в процессе плазмафереза должны назначаться только низкие дозы ингибитора тромбина и варфарина, так как пациенты со сниженным уровнем факторов свертывания чрезвычайно чувствительны к антикоагулянтам!

Что касается возможности применения аспирина, то он может назначаться только в сочетании с варфарином, при условии, что количество тромбоцитов составляет не менее $100 \times 10^9/\text{л}$, и ингибитор тромбина отменен. Как ранее указывалось, монотерапия аспирином не снижает в достаточной мере агрегационную активность тромбоцитов.

В ряде случаев при угрожающих жизни тромбозах (обширный тромбоз вен нижних конечностей или ТЭЛА) необходима селективная тромболитическая терапия.

У пациентов в послеоперационном периоде необходимы более низкие дозы тромболитиков (урокиназа $30\,000\text{—}60\,000$ Ед/ч). В остальных случаях используются более высокие дозы (урокиназа $50\,000\text{—}200\,000$ Ед/ч). Уровень фибриногена необходимо контролировать каждые 8 часов; он должен составлять около 200 мг/дл . Интенсивность терапии снижается, или она полностью отменяется при появлении клинически выраженных геморрагий. Селективная инфузия продолжается до тех пор, пока ангиографически не подтверждается полный лизис тромба.

Следует подчеркнуть, что селективная тромболитическая терапия всегда предпочтительна по сравнению с хирургической тромбэктомией. Эндотелиальное повреждение, которое развивается при тромбэктомии, в сочетании с эффектами ГЗА, может усугублять протромботический статус и снижать успешность хирургической тромбэктомии. Тем не менее, хирургическая тромбэктомия может быть единственным методом терапии в критических ситуациях, когда время ограничено и/или селективный тромболитизис не возможен (тромбоз мезентериальной артерии и пр.).

Возвращаясь к тромболитической терапии, следует подчеркнуть, что тромболитики не уменьшают тромбообразование, поэтому необходимо (равно как и при хирургической тромбэктомии) одновременное назначение ингибитора тромбина (лепирудина или др.) или данапароида в редуцированных дозах.

Установка кавальных фильтров пациентам с ГИТ-II с целью профилактики ТЭЛА не показана, поскольку может осложниться массивным тромбозом нижней полой вены, включая почечные вены, и другими осложнениями прогрессирующего тромбоза, в особенности в ситуациях, когда антикоагулянты не применяются.

Особого внимания требует вопрос инфузионной терапии.

Хотя ГИТ-II сопровождается тромбоцитопенией, трансфузия тромбоцитарной массы противопоказана.

Спонтанные кровотечения при ГИТ-II крайне редки, так как, наоборот, наблюдаемая лабораторно-клиническая тромбоцитопения является по своей сути тромботической. Трансфузия же тромбоцитов дополнительно «подливает масло в огонь», так как вводимые экзогенно тромбоциты активируются циркулирующими иммунными комплексами, усугубляя тромбофилию и способствуя развитию тромбозов.

В заключении хотелось бы еще раз отметить, что успешная профилактика и терапия ГИТ-II требует знания ее патогенеза и фармакологии антикоагулянтов. Учитывая тяжесть этого редкого осложнения гепаринотерапии, практический врач не должен забывать (или лениться) до начала гепаринотерапии и в процессе ее назначать простой лабораторный тест — количество тромбоцитов в периферической крови.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушенного гемостаза. Изд-во «Ньюдиамед». — Москва, 2001. — 285 с.
2. Макацария А.Д. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике. Изд-во «Руссо». — Москва, 2000. — 373 с.
3. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. Изд-во «Руссо». — Москва, 2001. — 703 с.

4. Almedia J.I., Coats R., Liem T.K., Silver D. Reduced morbidity and mortality rates of the heparin-induced thrombocytopenia syndrome. // *J. Vasc. Surg.*, 1998; 27:309—316.
5. Almeida J.I., Coats R., Liem T.K., Silver D. Reduced morbidity and mortality rates of the heparin-induced thrombocytopenia syndrome. *J. Vasc. Surg.*, 1998; 27: 309—316.
6. Almeida J.I., Liem T.K., Silver D. Heparin-bonded grafts induce platelet aggregation in the presence of heparin-associated antiplatelet antibodies. *J. Vasc. Surg.*, 1998; 27: 896—901.
7. Amiral J., Bridey F., Dreyful M., Vissac A.M., Fressinaud E., Wolf M., Meyer. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia (letter). // *Thromb. Haemost.*, 1992; 68: 95—96.
8. Arnout J. The pathogenesis of the antiphospholipid antibody syndrome: a hypothesis based on parallelisms with heparin-induced thrombocytopenia. // *Thromb. Haemost.*, 1996; 75: 536—541.
9. Asherson R.A., Khamashta M.A., Ordi-Ros J., Derksen R.H., Machin S.J., Barquero J., Outt H.H., Harris E.N., Vilardell-Torres M., Hughes G.R. The «primary» antiphospholipid syndrome: Major clinical and serological features. // *Medicine*, 1989; 68: 366—374.
10. Bauer T.L., Arepally G., Konkle B.A., Mestichelli B., Shapiro S.S., Cines D.B., Poncz M., McNulty S., Amiral J., Hauck W.W., Edie R.N., Mannion J.C. Prevalence of heparin-associated antibodies without thrombosis in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. // *Circulation*, 1997; 95: 1242—1246.
11. Bell W.R. Heparin-associated thrombocytopenia and thrombosis. // *J. Lab. Clin. Med.*, 1988; 111: 600—605.
12. Bombeli T., Mueller M., Haeberli A. Anticoagulant properties of the vascular endothelium. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 408—423.
13. Brunner-Bollinger S., Kiefel V., Horber F.F., Nydegger U.E., Berchtold P. Antibody studies in a patient with acute thrombocytopenia following infusion of plasma containing anti-PAI-1. // *Am. J. Hematol.*, 1997; 56: 119—121.
14. Butler T.J., Sodoma L.J., Doski J.J., Cheu H.W., Berg S.T., Stokes G.N., Lancaster K.J. Heparin-associated thrombocytopenia and thrombosis as the cause of a fatal thrombus on extracorporeal membrane oxygenation. // *J. Pediatr. Surg.*, 1997; 32: 768—771.
15. Carlsson L.E., Santoso S., Baurichter G., Kroll H., Papenberg S., Eichler P., Westerdal N.A.C., Kiefel V., van de Winkel J.G.J., Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: new insights into the impact of the FcγRIIIa-R-H131 polymorphism. // *Blood*, 1998; 92: 1526—1531.
16. Celoria G.M., Steingart R.H., Banson B., Friedmann P., Rhee S.W., Berman J.A. Coumarin skin necrosis in a patient with heparin-induced thrombocytopenia a case report. // *Angiology*, 1988; 39: 915—920.
17. Chong B.H., Pilgrim R.L., Cooley M.A., Chesterman C.N. Increased expression of platelet IgG Fc receptors in immune heparin-induced thrombocytopenia. // *Blood*, 1993; 81: 988—993.
18. Contreras M. The appropriate use of platelets: an update from the Edinburgh Consensus Conference. // *Br. J. Haematol.*, 1998; 101(suppl 1):10—12.
19. Eichler P., Budde U., Haas S., Kroll H., Loreth R.M., Meyer O., Pachmann U., Potzsch B., Schabel A., Albrecht D., Greinacher A. First workshop for detection of heparin-induced antibodies: validation of the heparin-induced platelet activation test (HIPA) in comparison with a PF4/heparin ELISA. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 81:625—629.

20. Gardyn J., Sorkin P., Kluger Y., Kabili S., Klausner J.M., Zivelin A., Eldor A. Heparin-induced thrombocytopenia and fatal thrombosis in a patient with activated protein C resistance. // *Am. J. Hematol.*, 1995; 50: 292—295.
21. Gordon L.I., Kwaan H.C. Cancer- and drug-associated thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. // *Semin. Hematol.*, 1997; 34: 140—147.
22. Greinacher A., Eckhardt T., Mussmann J., Mueller-Eckhardt C. Pregnancy complicated by heparin associated thrombocytopenia: management by a prospectively in vitro selected heparinoid (Org 10172). // *Thromb. Res.*, 1993; 71: 123—126.
23. Greinacher A., Zanssens U., Hach-Wunderle V., Kemkes-Matfes B., Eichler P., Muelle-Volten H.G., Potzsch for the Hit investigators Group. Recombinant hirudin (lepirudin) provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia. // *Circulation*, 1999; 99: 73—80.
24. Griffiths E., Dzik W.H. Assays for heparin-induced thrombocytopenia. // *Transf. Med.*, 1997; 7: 1—11.
25. Gupta A.K., Kovacs M.J., Sauder D.N. Heparin-induced thrombocytopenia. // *Ann. Pharmacother.*, 1998; 32: 55—59.
26. Guyatt G.H., Cook D.J., Sackett D.L., Eckman M., Pauker S. Grades of recommendation for antithrombotic agents. // *Chest*, 1998; 114(suppl): 4418—4448.
27. Hall A.V., Clark W.F., Parbtani A. Heparin-induced thrombocytopenia in renal failure. // *Clin. Nephrol.*, 1992; 38: 86—89.
28. Herauld J.P., Lale A., Savi P., Pflieger A.M., Herbert J.M. In vitro inhibition of heparin-induced platelet aggregation in plasma from patients with HIT by SR 121566, a newly developed Gp IIb/IIIa antagonist. // *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1997; 8: 206—207.
29. Herauld J.P., Peyrou V., Savi P., Bernat A., Herbert J.M. Effect of SR121566A, a potent GP IIb-IIIa antagonist on platelet-mediated thrombin generation in vitro and in vivo. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 383—388.
30. Herbert J.M., Savi P., Jeske W.P., Walenga J.M. Effect of SR 121566A, a potent GP IIb-IIIa antagonist, on the HIT serum/heparin-induced platelet mediated activation of human endothelial cells. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 326—331.
31. Hirsh J., Warkentin T.E., Raschke R., Granger C., Ohman E.M., Dalen J.E. Heparin and low-molecular-weight heparin. Mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy, and safety. // *Chest*, 1998; 114(suppl): 4898—5108.
32. Hirsh J. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. // *Blood*, 1995; 86: 3685—3691.
33. Huhle G., Song X., Wang L.C., Hoffman U., Harenberg J. Generation and disappearance of antihirudin antibodies during treatment with r-hirudin. // *Fibrinol. Proteol.*, 1998; 12 (Suppl 2): 91—113.
34. Keimowitz R.M., Collins J., Davis K., Aster R.H. Post-transfusion purpura associated with alloimmunization against the platelet-specific antigen, Bale. // *Am. J. Hematol.*, 1986; 21: 79—88.
35. Kelton J.G., Sheridan D., Santos A., Smith J., Steeves K., Smith C., Brown C., Murphy W.G. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. // *Blood*, 1988; 72: 925—930.
36. Kiefel V., Freitag E., Kroll H., Santoso S., Mueller-Eckhardt C. Platelet autoantibodies (IgG, IgM, IgA) against glycoproteins IIb/IIIa and Ib/IX in patients with thrombocytopenia. // *Ann. Haematol.*, 1996; 72: 280—285.

37. Klein H.G., Bell W.R. Disseminated intravascular coagulation during heparin therapy. // *Ann. Intern. Med.*, 1974; 80: 477—481.
38. Klement D., Rammos S., von Kries R., Kirschke W., Kniemeyer H.W., Greinacher A. Heparin as a cause of thrombus progression. Heparin-associated thrombocytopenia is an important differential diagnosis in paediatric patients even with normal platelet counts. // *Eur. J. Pediatr.*, 1996; 155: 11—14.
39. Koene H.R., Kleijer M., Roos D., de Haas M., von dem Borne AEGK. FcyRIIIB gene duplication: evidence for presence and expression of three distinct FcyRIIIB genes in NA (I+,2 +)SH(+) individuals. // *Blood*, 1998; 91: 673—679.
40. Laposata M., Green D., Van Cott E.M., Barrowcliffe T.W., Goodnight S.H., Sosolik R.C. College of American Pathologists Conference Therapy. The clinical use and laboratory monitoring of low-molecular-weight heparin, danaparoid, hirudin and related compounds, and argatroban. // *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 1998; 122: 799—807.
41. Law C., Marcaccio M., Tarn P., Heddle N., Kelton J.G. High-dose intravenous immune globulin and the response to splenectomy in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 1494—1498.
42. Lecomte-Raclet L., Alemany M., Sequeira-Le Grand A., Amiral J., Quentin G., Vissac A.M., Caen J.P., Han Z.C. New insights into the negative regulation of hematopoiesis by chemokine platelet factor 4 and related peptides. // *Blood*, 1998; 91: 2772—2780.
43. Liischer T.F., Barton M. Biology of the endothelium. // *Clin. Cardiol.*, 1997; 20 (suppl 2): II-3-II-10.
44. Look K.A., Sahud M., Flaherty S., Zehnder J.L. Heparin-induced platelet aggregation vs. platelet factor 4 enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia-thrombosis. // *Am. J. Clin. Pathol.*, 1997; 108: 78—82.
45. Magnani H.N., Beijering R.J.R., ten Gate J.W., Chong B.H. Organ anticoagulation for cardio-pulmonary bypass in patients with heparin-induced thrombocytopenia. In: Pifarre R, ed. *New Anticoagulants for the Cardiovascular Patient*. Philadelphia: Hanley & Belfus, 1997: 487—500.
46. Magnani H.N. Organ (danaparoid sodium) use in the syndrome of heparin-induced thrombocytopenia. // *Platelets*, 1997; 8: 74—81.
47. Mason E.C. Blood coagulation. The production and prevention of experimental thrombosis and pulmonary embolism. // *Surg. Gynecol. Obstet.*, 1924; 39: 421—424.
48. McKay D.G. Late manifestations of intravascular coagulation tissue necrosis. In: McKay DG, ed. *Disseminated Intravascular Coagulation. An Intermediary Mechanism of Disease*. New York: Harper & Row, 1965: 392—471.
49. McLean. The thromboplastic action of cephalin. // *Am. J. Physiol.*, 1916; 41: 250—257.
50. Moake J.L., Eisenstaedt R.S. Thrombotic thrombocytopenic purpura and the hemolytic uremic syndrome. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, eds. *Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practice*. 3rd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1994, pp 1064—1075.
51. Nand S., Wong W., Yuen B., Yetter A., Schmulbach E., Gross Fisher S. Heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis: incidence, analysis of risk factors, and clinical outcomes in 108 consecutive patients treated at a single institution. // *Am. J. Hematol.*, 1997; 56: 12—16.
52. Newman P.M., Swanson R.L., Chong B.H. Heparin-induced thrombocytopenia: IgG binding to PF4-heparin complexes in the fluid phase and cross-reactivity with low molecular weight heparin and heparinoid. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 292—297.

53. Olbrich K., Wiersbitzky M., Wacke W., Eichler P., Zinke H., Schwock M., Mox B., Kraatz G., Motz W., Greinacher A. Atypical heparin-induced thrombocytopenia complicated by intracardiac thrombus, effectively treated with ultra-low-dose rt-PA lysis and recombinant hirudin (lepirudin). // *Blood. Coagul. Fibrinolysis*, 1998; 9: 273—277.
54. Ortel T.L., Chong B.H. New treatment options for heparin-induced thrombocytopenia. // *Semin. Hematol.*, 1998; 35: 26—34.
55. Ortel T.L., Chong B.H. New treatment options for heparin-induced thrombocytopenia. // *Semin. Hematol.*, 1998; 35(suppl 5): 26—34.
56. Petri M. Pathogenesis and treatment of the antiphospholipid antibody syndrome. // *Adv. Rheumatol.*, 1997; 81: 151—77.
57. Polgar J., Eichler P., Greinacher A., Clemetson K.J. Adenosine diphosphate (ADP) and ADP receptor play a major role in platelet activation/aggregation induced by sera from heparin-induced thrombocytopenia patients. // *Blood*, 1998; 91: 549—554.
58. Popov D., Zarrabi M.H., Foda H., Graber M. Pseudopulmonary embolism: acute respiratory distress in the syndrome of heparin-induced thrombocytopenia. // *Am. J. Kidney Dis.*, 1997; 29: 449—452.
59. Rascu A., Repp R., Westerdaal N.A.C., Kalden J.R., van de Winkel J.G.J. Clinical relevance of Fey receptor polymorphisms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1997; 815: 282—295.
60. Remuzzi G. Thrombotic thrombocytopenic purpura and allied disorders; In: Verstraete M., Vermylen J., Lijnen R., Arnout J., eds. *Thrombosis and Haemostasis 1987*. Leuven: Leuven University Press, 1987, pp 673—708.
61. Roberts B., Rosato F.E., Rosato E.F. Heparin — a cause of arterial emboli? // *Surgery*, 1964; 55: 803—808.
62. Rosse W.F. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria as a molecular disease. *Medicine*, 1997; 76: 63—93.
63. Salama A., Mueller-Eckhardt C., Kiefel V. Effect of intravenous immunoglobulin in immune thrombocytopenia. Competitive inhibition of reticuloendothelial system function by sequestration of autologous red blood cells? // *Lancet*, 1983; 2: 193—196.
64. Shionova T. Studies on experimental extracorporeal thrombosis. III Effects of certain anticoagulants (heparin and hirudin) on extracorporeal thrombosis and on the mechanism of thrombus formation. // *J. Exp. Med.*, 1927; 46: 19—26.
65. Siegel J.B., Grey S.T., Lesnikoski B.-A. Kopp C.W., Soares M., am Esch J.S. II. Bach F.H., Robson S.C. Xenogeneic endothelial cells activate human prothrombin. // *Transplant.*, 1997; 64: 888—896.
66. Spadone D., Clark F., James E., Laster J., Hoch J., Silver D. Heparin-induced thrombocytopenia in the newborn. // *J. Vasc. Surg.*, 1992; 15: 306—312.
67. Volin M.V., Joseph L., Shockley M.S., Davies P.F. Chemokine receptor CXCR4 expression in endothelium. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 242: 46—53.
68. Warkentin T.E. Clinical presentation of heparin-induced thrombocytopenia. // *Semin. Hematol.* 1998; 35(Suppl. 5): 9—16.
69. Warkentin T.E., Chong B.H., Greinacher. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. // *Throm. Haemost.*, 1998; 79: 1—7.
70. Warkentin T.E., Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia. // *Marsel. Dekker. Inc. New-York-Basel*, 2000. — p.400.
71. Warkentin T.E., Kelton J.G. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. // *Am. J. Med.*, 1996; 101: 502—507.

72. Warkentin T.E., Lerine M.N., Hirsh J., Horsewood P., Roberts P., Gent M., Kelton J.G. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or infractionated heparin. // *J. Engl. J. Med.*, 1995; 332: 1330—1335.
73. Warkentin T.E. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis, frequency, avoidance and management. // *Drug Safety*, 1997; 17: 325—341.
74. Warkentin T.E. Limitations of conventional treatment options for heparin-induced thrombocytopenia. // *Semin. Hematol.*, 1998; 35 (suppl 4): 17—25.
75. Wiitschert R., Piletta P., Bounameaux H. Adverse skin reactions to low molecular weight heparins: frequency, management and prevention. // *Drug Safety*, 1999; 20: 515—525.
76. Wu J., Edberg J.C., Redecha P.B., Bansal V., Guyre P.M., Coleman K., Salmon J.E., Kimberly R.P. A novel polymorphism of FcyRH1a (CD 16) alters receptor function and predisposes to autoimmune disease. // *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 1059—1070.

akusher-lib.ru

Глава XVII.

Контроль противотромботической терапии

Как ранее уже указывалось, в условиях нормы система гемостаза находится в состоянии равновесия, обеспечиваемого слабой активацией коагуляционного каскада и противостоящей ей активностью естественной антикоагулянтной и фибринолитической систем, что предотвращает развитие спонтанных тромбозов. Однако эволюционно так сложилось, что в ответ на повреждение целостности сосудистой стенки происходит активация свертывающего потенциала системы гемостаза, что предупреждает повышенную кровопотерю путем образования тромба. Тем не менее, если на определенном этапе эволюции такой ответ системы гемостаза являлся явно полезным, то он же стал и причиной тромботических осложнений при целом ряде заболеваний, сопровождающихся повреждением эндотелия, когда риска повышенной кровопотери нет, но система гемостаза стандартно отвечает активацией свертывающей способности. В условиях же, когда в силу различных причин естественная антикоагулянтная и фибринолитическая системы угнетены, риск развития тромбоза возрастает многократно.

С точки зрения восстановления нарушенного баланса между свертывающей и противосвертывающей системами идеальным противотромботическим препаратом представляется такой, который, обеспечивая достаточный противотромботический эффект, не сопровождался бы побочными эффектами, к числу которых, в первую очередь, следует отнести геморрагические осложнения.

Однако, поскольку на сегодняшний день еще достаточно трудно отделить противотромботический эффект используемых противотромботических препаратов от глобального антикоагулянтного, то применение многих противотромботических препаратов в широкой практике достаточно ограничено, а дозы большинства из них требуют регулярного клинико-лабораторного мониторинга.

Клинико-лабораторный мониторинг противотромботической терапии включает обычно тесты, отражающие некоторые аспекты функционирования системы гемостаза, как например, АЧТВ, ПВ и МНО и т.д., и реже, прямые фармакологические исследования концентрации препарата в плазме. Теоретически, для ряда противотромботических препаратов, обычно возможно определить терапевтические границы и минимизировать риск кровотечений.

Гепарин

Прежде чем перейти к вопросам лабораторного мониторинга гепаринотерапии, имеет смысл остановиться на основных моментах его действия и фармакокинетики.

Как уже указывалось, гепарин является гликозаминогликаном, состоящим из полипептидного матрикса, связанного с сульфатированным полисахаридом. Молекулярная цепь нефракционированного гепарина состоит из молекул различного веса от 5 до 30 кДа. Средняя молекулярная масса составляет около 15 кДа, каждая цепь в среднем содержит около 50 полисахаридных остатков.

Антикоагулянтный эффект гепарина осуществляется при формировании его комплекса с антитромбином (АТ III). Образование такого комплекса в 1000—2000 раз повышает способность антитромбина ингибировать тромбин, фактор Ха

и в меньшей степени фактор XIa. Антитромбин-связывающий участок молекулы гепарина состоит из уникальной пентасахаридной последовательности, которая занимает только около 30% цепи гепарина. Молекулы гепарина, содержащие менее 18 полисахаридных остатков, не способны одновременно связывать и тромбин, и антитромбин и потому не могут усиливать ингибиторный эффект в отношении тромбина. Тем не менее, они сохраняют способность усиливать антитромбин-опосредованную инактивацию фактора Ха (что лежит в основе эффекта низкомолекулярного гепарина).

В высоких дозах гепарин может потенцировать инактивацию тромбина другим ингибитором — гепарин-кофактором II (HCII). Эта реакция также не требует связывания с уникальной пентасахаридной последовательностью. Также HCII не влияет на гепарин-опосредованную инактивацию фактора Ха или фактора XIa.

НМГ, как уже ранее указывалось, является продуктом химического или ферментативного фракционирования гепарина. Средняя молекулярная масса его составляет около 5—6 кДа. Благодаря меньшему содержанию молекул с 18 или более полисахаридными остатками, его антикоагулянтный эффект осуществляется преимущественно за счет инактивации фактора Ха, и в гораздо меньшей степени — за счет инактивации тромбина.

Преимущественно гепарин назначается внутривенно или подкожно. При этом методом выбора является либо непрерывное в/в введение его, либо подкожное через равные промежутки времени, так как прерывистый режим внутривенного введения препарата связан с повышенным риском геморрагических осложнений.

Биодоступность нефракционированного гепарина высоко вариабельна. Гепарин инактивируется в плазме различными гепарин-связывающими белками, включая vWF, PF4, фибронектин и богатый гистидином гликопротеин. Связывание с этими белками делает в определенной степени непредсказуемыми биодоступность и, соответственно, противотромботические и антикоагулянтные эффекты гепарина в различных клинических ситуациях. Отсюда следует, что у разных пациентов можно ожидать и разный антикоагулянтный эффект при фиксированной дозе. Связывание гепарина с vWF может быть также и причиной некоторого снижения адгезии тромбоцитов, что потенциально может обуславливать риск кровотечения при терапии высокими дозами гепарина. Кроме того, гепарин также может повышать проницаемость сосудистой стенки.

Высокомолекулярные цепи гепарина быстро удаляются из плазмы путем связывания с рецепторами эндотелиальных клеток и макрофагов, при этом расщепление молекулы гепарина происходит внутриклеточно (клеточный клиренс). Степень клеточного клиренса повышается в острых клинических ситуациях (фебрильная лихорадка, острый массивный тромбоз); следовательно, в таких случаях для обеспечения достаточного антикоагулянтного эффекта могут требоваться более высокие дозы гепарина. Молекулярные цепи гепарина с меньшей молекулярной массой в основном подвергаются почечному клиренсу. Следует также отметить, что дозо-зависимый эффект гепарина не является линейным и зависит от времени полужизни гепарина в плазме, которая может колебаться от 30 до 150 мин. При длительном назначении гепарина подкожно достичь эффекта полной антикоагуляции не удается, поскольку он удаляется.

В случаях, когда необходимо быстро достичь эффекта антикоагуляции, гепарин следует вводить внутривенно болюсно.

Лабораторный мониторинг с помощью активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ)

Наиболее часто используемым методом мониторинга антикоагулянтного эффекта гепарина является АЧТВ. АЧТВ чувствительно к ингибции тромбина, фактора Ха и фактора XIa. Наблюдается прямая взаимосвязь между терапевтическим уровнем АЧТВ и клинической эффективностью гепарина. Традиционно терапевти-

ческие границы АЧТВ подразумевают удлинение его в 1,5—2,5 раза. В последнее время принято говорить об АЧТВ-отношении, под которым подразумевают отношение АЧТВ плазмы пациента и АЧТВ пула нормальной плазмы.

$$\text{АЧТВ-отношение} = \frac{\text{АЧТВ плазмы пациента}}{\text{АЧТВ пула нормальной плазмы}}$$

Таким образом, терапевтическое АЧТВ-отношение колеблется между 1,5—2,5.

Экспериментальные данные исследований у животных свидетельствуют, что такие терапевтические границы АЧТВ-отношения соответствуют концентрации гепарина в плазме крови 0,2 МЕ/мл. Нет достоверных доказательств, что превышение этого уровня АЧТВ-отношения может указывать на повышенный риск геморрагий. Тем не менее, более высокие концентрации гепарина в плазме могут повышать риск геморрагических осложнений. Так, известно, что при значении АЧТВ-отношения более 2,5, соответствующем уровню гепарина в плазме 0,4 МЕ/мл (концентрация гепарина устанавливается путем реакции нейтрализации протаминам), риск геморрагий повышается.

Следует учитывать также, что различные коммерческие реагенты АЧТВ, используемые наряду с различными коагулометрами могут давать отличные друг от друга значения на фоне гепаринотерапии. Эти различия прежде всего связаны с различными фосфолипидами и контактными активаторами, используемыми в коммерческих реагентах АЧТВ, а также с различными методами детекции образования сгустка. В зависимости от системы исследования (инструмент/реагент) в ряде случаев даже при значении АЧТВ-отношения равном 1,5, терапевтическая концентрация гепарина в плазме может не быть достигнута. Поэтому каждая лаборатория должна утвердить локальный терапевтический интервал АЧТВ-отношения, который был бы эквивалентен концентрации гепарина в плазме 0,2—0,4 МЕ/мл, установленной методом нейтрализации протамина-сульфатом, или 0,3—0,7 МЕ/мл, установленной по анти Ха-факторной активности. Наиболее простым методом калибровки АЧТВ является использование в качестве контроля гепаринизированной плазмы с известной концентрацией гепарина.

При лечении венозного тромбоза и острых коронарных заболеваний наиболее часто применяемыми режимами являются: болюсное введение 5000 МЕ внутривенно с последующей внутривенной инфузией в постоянном режиме 30000—40000 МЕ в сутки (как правило, с помощью инфузомата). АЧТВ измеряется через 4—6 часов после начала терапии. В таких ситуациях крайне важно установить адекватную корреляцию между уровнем гепарина в плазме и АЧТВ-отношением. В случаях, когда значение АЧТВ остается в пределах субтерапевтических, гепарин может быть назначен дополнительно болюсно. Риск рецидивов тромбоза осложняется значительно снижается, если терапевтический уровень гепарина в плазме достигнут в первые 24 часа.

Гепаринорезистентность

В ряде случаев у некоторых пациентов, получающих 30 000—40 000 МЕ/сутки, АЧТВ-отношение не достигает или не превышает 1,5. У таких пациентов гепарин нейтрализуется гепарин-связывающими белками плазмы: к таким относятся, в том числе реактанты острой фазы, концентрация которых может значительно возрасти при острых процессах. Кроме того, повышенный уровень фактора VIII также может быть причиной укороченного АЧТВ как нормальной, так и гепаринизированной плазмы. Кроме того, АЧТВ-отношение, равное 1,5 и более может не достигаться в условиях повышенных концентраций гепарин-связывающих белков и/или уровня фактора VIII, несмотря на адекватный уровень гепарина в плазме. Экспериментальные данные, тем не менее, свидетельствуют, что «гепаринорезистентность» может быть лишь лабораторным феноменом, не связанным со

снижением противотромботического эффекта, если уровень гепарина плазмы, измеренный с помощью антиХа-активности, достигает 0,3—0,7 МЕ/мл.

Режимы подкожного введения гепарина

Поскольку полный терапевтический эффект при подкожном введении гепарина наступает отсрочено, для достижения быстрого антикоагулянтного эффекта необходимо болюсное введение 5000 МЕ гепарина внутривенно. Затем начальная поддерживающая доза, как правило, составляет 15 000—17 500 МЕ каждые 12 часов. АЧТВ должно измеряться не позднее чем через 6 часов после введения гепарина, и ежедневная доза должна корректироваться в зависимости от АЧТВ-отношения, эквивалентного концентрации гепарина в плазме 0,2—0,4 МЕ/мл (по тесту нейтрализации протамином) или 0,3—0,7 МЕ/мл (по анти-Ха-активности). Многочисленные проспективные исследования показали, что подкожное введение гепарина в терапевтических дозах ассоциируется с меньшим противотромботическим эффектом по сравнению с продолжительной внутривенной инфузионной терапией; поэтому часто необходимо увеличивать дозу для достижения адекватного терапевтического эффекта.

Подкожный режим введения гепарина с профилактической целью подразумевает использование малых доз гепарина по 5 000 МЕ каждые 12 часов, что эффективно предотвращает развитие венозного тромбоза и тромбозмболий (как в акушерской, так и хирургической, и общеклинической практике). Такие дозы не удлиняют АЧТВ, и нет необходимости в терапевтическом мониторинге. Тем не менее, следует заметить, что у пациентов с некоторыми генетическими формами тромбофилии (гомозиготная мутация FV Leiden, дефицит протеина C, AT III) или комбинированными формами тромбофилии, а также у пациентов в ортопедической хирургии (в особенности при операциях на бедренной кости и тазобедренном суставе) для предотвращения венозного тромбозмболизма необходимы более высокие профилактические дозы при подкожном введении: в таких случаях при измерении через 6 часов АЧТВ, АЧТВ-отношение должно составлять 1,1—1,2. Такой подход позволяет избежать послеоперационных геморрагических осложнений. Однако недостатком такой профилактики является необходимость частого контроля АЧТВ, эффективность которого, в свою очередь, зависит от чувствительности АЧТВ-реактива и системы измерения его (прибор, метод определения АЧТВ).

Необходимо также отметить, что, несмотря на то, что малые профилактические дозы гепарина не нуждаются в мониторинге АЧТВ, контроль количества тромбоцитов до назначения гепарина и в процессе профилактики необходим во избежание развития одного из самых тяжелых осложнений — гепарин-индуцированных тромбоцитопении и тромбоза (см. главу XVI).

Риск развития геморрагических осложнений

У пяти процентов и более пациентов, получающих в терапевтических дозах гепарин, развиваются геморрагические осложнения, которые зависят от ряда факторов, включая метод введения гепарина, дозу гепарина, соответствующие клинические условия, а также одновременное назначение других противотромботических препаратов (аспирин, фибринолитическая терапия).

Исследования, посвященные изучению влияния дозы и метода введения гепарина на риск геморрагических исследований, показали, что существует прямая корреляция между суточной дозой гепарина и риском массивных кровотечений. В то же время, постоянный режим введения гепарина внутривенно сопровождается меньшим риском развития геморрагических осложнений, чем прерывистый внутривенный. Однако чаще риск развития геморрагических осложнений определяет не столько метод введения гепарина, сколько суточная терапевтическая доза.

Со стороны пациента к факторам, повышающим риск геморрагических осложнений на фоне гепаринотерапии, относятся такие, как недавно проведенное

оперативное вмешательство или травма, возраст старше 65 лет, почечная недостаточность, недавний инсульт, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в активной фазе и тяжелое состояние больного. Пациенты, одновременно получающие аспирин, также подвержены большому риску геморрагических осложнений, хотя успешная терапия острых коронарных заболеваний подразумевает одновременное назначение гепарина и аспирина. Назначение гепарина после фибринолитической терапии при остром инфаркте миокарда также сопряжено с относительно более высоким риском развития геморрагического инсульта по сравнению с пациентами с заболеваниями коронарных сосудов и получающих гепарин без тромболитической терапии [GUSTO Investigators 1993]. Хотя очевидно, что более высокие дозы гепарина повышают риск геморрагий, терапевтический мониторинг АЧТВ не является достаточным условием для прогнозирования риска кровотечений. Тем не менее, в широкой практике пользуются именно АЧТВ-отношением, эквивалентным содержанию гепарина в плазме 0,4 МЕ/мл (в тесте нейтрализации протаминсульфатом) или 0,6—0,7 МЕ/мл (в тесте антиХа-активности).

Активированное время рекальцификации АВР в мониторинге гепаринотерапии в терапевтических дозах

АЧТВ чувствительно к концентрации гепарина 0,1—1 МЕ/мл и потому наиболее часто применяется в качестве основного лабораторного теста контроля дозы гепарина в процессе лечения ТГВ/ТЭЛА, острых коронарных заболеваний, периферических артериальных тромбозов и т.д. При уровне гепарина в плазме больше 1 МЕ/мл, АЧТВ также удлиняется и может использоваться в практических целях.

Однако при более высоких концентрациях гепарина в плазме, которые необходимы после коронарной ангиопластики и при кардиопульмонарном «bypass» — шунтировании успешно применяется активированное время рекальцификации (АВР) с целью мониторинга гепаринотерапии. Существует прямая линейная зависимость между значением АВР и концентрацией гепарина в плазме 1—5 МЕ/мл, а также АВР и \log АЧТВ. Тем не менее, существуют интер-индивидуальные вариации в значениях АВР в ответ на одну и ту же концентрация гепарина в плазме, что также обусловлено чувствительностью различных реактивов и измерительной системой (прибор, метод).

Низкомолекулярные гепарины

1. Фармакокинетика

Низкомолекулярные гепарина (НМГ) подобно нефракционированному гепарину, не абсорбируются при пероральном применении и назначаются парентерально. НМГ обладают меньшим аффинитетом к циркулирующим гепарин-связывающим белкам, эндотелиальным клеткам и макрофагам. В связи с этим НМГ имеют лучшую биодоступность с преимущественной анти-фактор Ха-активностью, близкой к 100%. Отсутствие значительного связывания с гепарин-связывающими белками обусловило и более предсказуемый антикоагулянтный эффект на фиксированную дозу НМГ у различных больных вне зависимости от остроты состояния больного с характерным повышением уровня рекантин острой фазы.

НМГ обладают низким аффинитетом к фактору фон Виллебранда (vWF) и потому в меньшей степени ингибируют функцию тромбоцитов. Кроме того, НМГ не повышают проницаемость сосудистой стенки. Таким образом, для НМГ характерен меньший риск геморрагических осложнений, чем для нефракционированного гепарина, что подтвердили многочисленные экспериментальные и клинические исследования. Практически незначительное связывание с эндотелиальными клетками и макрофагами привело к удлинению времени полужизни в плазме, а соответственно и к возможности применять НМГ 1 раз в сутки. Принципиально важно, что экскреция НМГ осуществляется через почки; следует учитывать в связи с этим, что при почечной недостаточности время полужизни в плазме увеличивается.

2. Лабораторный анти-фактор Ха мониторинг

В терапевтических дозах НМГ значительно не удлиняют АЧТВ, в связи с чем этот тест не может использоваться для контроля дозы. Линейная зависимость существует между дозой НМГ и концентрацией его в плазме, измеренной с помощью анти-фактор Ха активности с использованием хромогенных субстратов. Однако поскольку НМГ обладают хорошо прогнозируемым эффектом в зависимости от массы тела (соотношение масса/доза), как правило, в большинстве клинических ситуаций нет необходимости в контроле дозы НМГ. Исключением могут быть почечная недостаточность и некоторые акушерские ситуации (см. главу XIX). В таких случаях необходимо измерение анти-фактор Ха активности. Исследование с помощью хромогенных субстратов является наиболее удобным методом, позволяющим использовать автоматические коагуляционные приборы.

3. Клиническая эффективность и риск геморрагических осложнений

Низкие дозы НМГ (эквивалентные 0,1—0,2 МЕ/мл анти-фактор Ха активности) обладают достаточным антикоагулянтным эффектом (не менее чем нефракционированный гепарин) для профилактики венозных тромбозов и тромбоэмболий в общей хирургии, акушерстве, однако характеризуются отсутствием послеоперационных и послеродовых кровотечений.

Риск развития геморрагических осложнений при использовании НМГ значительно ниже, чем при использовании нефракционированного гепарина с целью профилактики тромбозов и тромбоэмболий. При лечении острых тромбозов и тромбоэмболий терапевтические дозы НМГ подбираются в зависимости от массы тела: при этом, по меньшей мере, они так же эффективны, как и внутривенно вводимый гепарин в постоянном режиме, и в то же время риск развития геморрагий практически отсутствует. Поскольку кроме этого нет необходимости в постоянном лабораторном мониторинге, НМГ могут применяться амбулаторно, чаще всего инъекциям обучаются сами пациенты, когда необходима длительная терапия. В частности, наш опыт подтверждает, что беременные с тромбофилией, которые в течение все беременности получают НМГ, успешно справляются с этой задачей сами, благодаря удобству применения препаратов НМГ: во-первых, инъекция делается подкожно, во-вторых — 1 раз в сутки, в третьих — препарат расфасован в готовые шприцы. Проведенные нами исследования (см. главу VIII) свидетельствуют, что на сегодняшний день НМГ являются препаратом выбора у беременных с тромбофилией, и позволяют предупредить развитие не только тромбоэмболических осложнений, но и основных акушерских, к каковым относится невынашивание беременности, гестозы, ПОНРП, задержка внутриутробного развития плода, антенатальная гибель плода, фетоплацентарная недостаточность.

Спектр заболеваний и патологических состояний, при которых НМГ эффективны, чрезвычайно широк. Следует отметить, что по последним данным, эти препараты относят к препаратам выбора у больных с острыми заболеваниями коронарных сосудов, нестабильной стенокардией. Наш опыт свидетельствует о высокой эффективности НМГ у беременных с искусственными клапанами сердца, а также в комплексной терапии шоковых и шокopodobных состояний. Тем не менее, при использовании высоких терапевтических доз препаратов следует учитывать, что во избежание геморрагических осложнений доза НМГ не должна превышать 1,0 МЕ/мл анти-фактор Ха активности.

Варфарин

1. Механизм действия

1. Эффекты на витамин К-зависимые факторы свертывания

Варфарин, как и другие кумарины, является структурным аналогом витамина К. Свой антикоагулянтный эффект он осуществляет через ингибицию витамина К в процессе посттрансляционной модификации прокоагулянтных белков факто-

ров свертывания II, VII, IX и X. В нормальных условиях (в отсутствие кумаринов) глутаминовые остатки у N-конца белков-факторов свертывания превращаются в карбоксилглутамат (gla). Повторяющиеся gla-последовательности (обычно 10—13 остатков) связываются ионами Ca^{2+} и подвергаются конформационным изменениям в молекуле белка, что обуславливает взаимодействие с другими факторами и активацию на фосфолипидных поверхностях. Снижение числа gla-остатков (под действием варфарина или по другим причинам) до 9 является причиной снижения прокоагулянтной активности примерно на 30%; снижение же количества gla-остатков до 6 или меньше, предположительно, абсолютно устраняет прокоагулянтную активность.

Помимо витамин К-зависимых факторов свертывания, варфарин также ингибирует активность естественных антикоагулянтов — протеинов С и S. Таким образом, эффекты варфарина на каждый из витамин К-зависимых факторов разнообразны, и конечный клинический эффект зависит от множества факторов, среди которых одним из наиболее важных являются время полужизни витамин К-зависимых факторов в плазме (табл. 97).

Таблица 97.

Время полужизни в плазме витамин К-зависимых факторов.

Фактор	Время полужизни
Фактор II	72 часа
Фактор VII	4—6 часов
Фактор IX	18—30 часов
Фактор X	48 часов
Протеин С	6—9 часов

2. Кинетика витамин К-зависимых факторов свертывания в процессе терапии варфарином

С началом варфаринотерапии синтез в печени функционально полноценных витамин К-зависимых факторов свертывания ингибируется. Это связано с быстрым снижением уровня фактора VII, поскольку время его полужизни в плазме относительно коротко, и он быстро выводится из плазмы. Однако уровень протеина С также падает достаточно быстро. Значительное снижение же уровня факторов II, IX и X «запаздывает» на 48—72 часа. Поэтому в первые 28—48 часов после начала терапии варфарином потенциальный риск нарушения гемостатического баланса, увеличения фибринообразования и тромбозов повышается. Это объясняет редкий феномен варфарининдуцированного некроза кожи, чаще связанного с дефицитом протеина С. Однако риск тромбозов в начале варфаринотерапии выше у пациентов с тромбофилией, в особенности, когда изначально страдает естественный антикоагулянтный путь протеина С, что имеет место при АФС, мутации FV Leiden, дефиците протеина С. Традиционно противотромботический эффект варфарина связывали с глобальным антикоагулянтным эффектом, однако в последнее время благодаря более подробному изучению этого вопроса, было доказано, что противотромботический эффект варфарина преимущественно связан со снижением активности фактора II, в меньшей степени — фактора X. При назначении варфарина в условиях острого тромбоза или у пациентов с АФС, мутацией фактора Leiden, дефицитом протеина С и с другими формами тромбофилии необходимо первые 4—5 дней «прикрыть» гепарином или НМГ, пока не будет достигнуто «противотромботическое состояние», обусловленное варфарином. Это позволяет избежать возможных тромботических осложнений в начале терапии варфарином.

3. Вариабельность фармакологического ответа

При назначении варфарина возможны интер-индивидуальные вариации во взаимосвязи «доза-ответ». В основном эти различия зависят от метаболизма

варфарина и в меньшей степени — от степени абсорбции и биодоступности. Время полужизни варфарина в плазме может колебаться от 15 до 50 часов. В постоянных неменяющихся условиях существует баланс между уровнем вновь синтезируемых витамин К-зависимых протеинов и степенью их клиренса из плазмы, что регулирует более низкий уровень этих факторов в плазме (табл. 98).

Таблица 98.

Типичная активность витамин К-зависимых прокоагулянтных факторов в постоянных условиях терапии варфарином.

Фактор	Типичная активность
Фактор II	20—30%
Фактор X 1	0%
Фактор VII, IX	40—50%

Более интенсивная варфаринотерапия при повышении ежедневной дозы ведет к дальнейшему снижению синтеза витамин К-зависимых факторов свертывания и установлению новой постоянной системы уже на другом уровне с более низким содержанием факторов свертывания в плазме. Следует отметить, что уровень метаболизма варфарина с возрастом снижается. Поэтому пожилым пациентам, как правило, необходимы более низкие дозы для поддержания терапевтического эффекта.

II. Лабораторный мониторинг

1. Протромбиновое время

Протромбиновое время (ПВ) чувствительно к изменению уровня факторов II, VII, X и может использоваться для мониторинга антикоагулянтного эффекта. Методика измерения ПВ подразумевает использование тромбопластина, содержащего фосфолипиды и тканевой фактор, необходимый для активации фактора VII. Первые коммерческие тромбопластины готовились из экстрактов мозга человека. Однако современные тромбопластины в целях безопасности получают из животного сырья, обычно из мозга кроликов. Результаты теста ПВ зависят от тромбопластинового реагента, применяемого в исследовании. Поэтому традиционно тест ПВ сравнивается с тестом ПВ пула нормальной плазмы и обозначается как отношение протромбинового времени (PTR, prothromnim time ratio, ОПВ), где

$$\text{ОПВ} = \frac{\text{ПВ плазмы пациента}}{\text{ПВ пула нормальной плазмы}}$$

В 1948 году, American Heart Association утвердила терапевтический интервал варфаринотерапии эквивалентный ОПВ 2,0—2,5. Данные рекомендации относятся лишь к высокочувствительным тромбопластинам, используемым в тестах ПВ. Однако эти рекомендации не пересматривались и после того, как стали использоваться менее чувствительные тромбопластины. Отсюда, анализируя ретроспективно, пациенты получали более интенсивную терапию варфарином. Кроме того, широкая вариабельность значений ОПВ связана с различными тромбопластинами, применяемыми в различных лабораториях.

2. Стандартизация тромбопластиновых реагентов

С начала 80-ых годов начались исследования по разработке калибровки ПВ-теста с использованием различных тромбопластинов. При этом была обнаружена линейная зависимость между значениями log ПВ с референсным тромбопластином и log ПВ с использованием сравниваемого тромбопластина при тестировании «варфаринизированной» и нормальной контрольной плазмы. Угол наклона графика позволял измерить чувствительность сравниваемого образца тромбопластина с референсным; в дальнейшем она получила название международного

индекса чувствительности (МИЧ, ISI — international sensitivity index). С 1985 года большинство лабораторий перешло от определения ОПВ к так называемому международному нормализованному отношению (МНО), где $MHO = OPBISI$ или, иначе,

$$MHO = - \log OPB \times ISI.$$

Поскольку данная формула является результатом исследования эмпирической модели (МИЧ референсного тромбопластина в экспериментальной модели условно был принят за единицу: $МИЧ=1,0$), различные тромбопластины могут отличаться от использованного в данной модели. Высокочувствительные тромбопластины имеют МИЧ, близкий к 1,0, в то время как менее чувствительный — 1,5—2,8. Менее чувствительные тромбопластины вызывают более быструю активацию фактора X комплексом фактор VII/тканевой фактор, поэтому удлинение ПВ на фоне терапии варфарином может быть незначительным или отсутствовать вовсе, по сравнению с результатом ПВ, измеренного с использованием более чувствительных тромбопластинов. В связи с разной чувствительностью тромбопластинов такой показатель как МНО представляется более достоверным методом мониторинга дозо-зависимого эффекта варфарина.

В процессе мониторинга варфаринотерапии с использованием МНО, определение ПВ может осуществляться как с применением современных автоматизированных инструментов, так и мануальным методом. Это, в свою очередь, объясняет и вариабельность результатов.

3. Выбор тромбопластинов для клинического мониторинга

Многочисленные клинические исследования последних лет показали, что варфаринотерапия средней интенсивности — INR 2,0—3,0 (2,5—3,5 для механических клапанов сердца) безопасна и эффективна. Во всех опубликованных исследованиях значение МНО определялось с использованием высокочувствительных тромбопластинов с МИЧ, близким к 1,0. Аналитические ошибки минимизируются, когда для расчета МНО используются высокочувствительные тромбопластины и автоматические инструменты, калиброванные для таких реагентов. Тем не менее, несмотря даже на столь тщательное измерение, время от времени даже при одной и той же дозе варфарина возможны вариации в значении МНО. Последнее может быть следствием так называемой «биологической флюктуации» прокоагулянтных и антикоагулянтных протеинов у пациента. Флюктуация может быть вызвана разнообразными факторами, в том числе диетой (богатой или бедной витамином К) и взаимодействием с другими лекарственными средствами.

III. Риск геморрагий

Кровотечение — одно из наиболее частых осложнений терапии варфарином. К тяжелым геморрагическим осложнениям относятся: внутрисердечные, внутримозговые, ретроперитонеальные кровотечения, которые требуют заместительной трансфузионной терапии. К так называемым малым, или «минорным» кровотечениям, относятся все остальные менее серьезные эпизоды геморрагий, не требующие трансфузии или госпитализации (меноррагия, гематурия, носовые, гастроинтестинальные кровотечения). По обобщенным данным мировой литературы, массивные кровотечения развиваются у 5% пациентов, получающих терапию варфарином, при этом почти у 2% — фатальные. Риск развития геморрагических осложнений в первую очередь связан с интенсивностью варфаринотерапии, ее продолжительностью, индивидуальными особенностями организма и взаимодействием с другими одновременно принимаемыми лекарственными средствами.

Как массивные, так и «минорные» кровотечения чаще развиваются у пациентов с МНО более 2,5. Многочисленные клинические исследования показали, что сдвиг терапевтических границ МНО от 3,0—4,5 до 2,0—3,0 или 2,5—3,5 позволили значительно снизить уровень больших геморрагических осложнений, практически не уменьшив противотромботическую эффективность при ведении пациентов с ТГВ, биопротезами и механическими протезами клапанов сердца.

Клинические особенности пациентов могут явиться даже более важной причиной, чем интенсивность проводимой терапии. Риск массивных кровотечений значительно повышается у пожилых пациентов (старше 65 лет), у пациентов с желудочно-кишечными кровотечениями в анамнезе, тяжелой гипертензией, нарушениями функции почек, анемией, цереброваскулярными заболеваниями, тяжелыми заболеваниями сердца, при дополнительном (неучтенном) приеме других лекарственных средств (в частности, аспирина) и злоупотреблении алкоголем. Если кровотечение развивается в условиях, когда значения МНО составляет 3,0 и менее, необходим поиск вторичных причин (т.е. не связанных с дозой варфарина). Поскольку, как уже указывалось, у пожилых пациентов клиренс варфарина снижен, это может стать причиной чрезмерного антикоагулянтного ответа. Поэтому у пожилых пациентов терапию варфарином следует начинать с малых доз.

IV. Практические аспекты дозирования варфарина

Одним из основных условий безопасной варфаринотерапии является оценка потенциальных факторов риска геморрагических осложнений. Необходима клиническая оценка таких возможных факторов риска как гипертензия, желудочно-кишечные кровотечения, алкогольная зависимость и пр. Кроме того, до назначения варфарина необходимо проведение ряда исследований: количество тромбоцитов, ПВ, АЧТВ, оценка функции печени и почек.

В настоящее время более приоритетно начинать варфаринотерапию с малых доз во избежание не только геморрагических осложнений, но и тромботических (прежде всего у пациентов с дефицитом протеина С или другими нарушениями в системе протеина С, как FV Leiden мутация, АФС). Если раньше нагрузочные дозы варфарина в первые два дня традиционно составляли 9—10 мг, то на сегодняшний день нагрузочная дозы снижена до 5 мг. Несмотря на то, что в первые 2—5 дней терапии ПВ (а соответственно и МНО) удлинятся вследствие быстрого падения уровня фактора VII, полный антиромботический эффект, тем не менее, в большей степени зависит от снижения уровня фактора II и в меньшей — фактора X.

С нашей точки зрения, начало варфаринотерапии следует проводить под прикрытием прямых антикоагулянтов. При этом предпочтение следует отдавать низкомолекулярным гепаринам (фраксипарин, фраксипарин, тропарин и др.) в профилактических дозах. Это позволяет избежать транзиторного состояния гиперкоагуляции в начале варфаринотерапии из-за быстрого снижения уровня протеина С. По достижении значения МНО=2 в течение, по крайней мере, 48 часов прямые антикоагулянты (гепарин, НМГ) следует отменить. МНО должно оцениваться 6 часов спустя после отмены гепарина/НМГ для решения вопроса об отмене или продолжении терапии гепарином/НМГ. Как правило, чаще терапевтические значения МНО достигаются к 3-м суткам.

V. Поддерживающая терапия

Длительная варфаринотерапия требует постоянного контроля эффективности и безопасности. В начале терапии контроль МНО должен осуществляться не менее 2 раз в неделю (а в течение первой недели терапии каждые 2 дня). По достижении стойкого терапевтического значения МНО, интервалы между контрольными измерениями МНО могут быть дольше — от 6 до 8 недель. Более частый контроль бывает необходим при изменении дозы, а также в начале или по окончании терапии другими лекарственными средствами, которые потенциально могут взаимодействовать с варфарином.

В последнее время, в основном, в развитых западных странах появилась возможность осуществлять компьютерный мониторинг антикоагулянтной терапии на основе компьютерного алгоритма. Недавно появились автоматические мобильные системы исследования для определения МНО в процессе варфаринотерапии. Одним из преимуществ этого метода является то, что пациенты сами легко могут определить значение МНО с помощью специальных приборов, что значительно облегчает и удешевляет антикоагулянтный мониторинг.

VI. Альтернативные методы контроля варфаринотерапии

1. Исследование функциональной активности протромбина

Как уже указывалось, антитромботический эффект варфарина хорошо коррелирует с ингибцией активности фактора II. Измерение активности протромбина, поэтому, также является одним из методов оценки эффективности и безопасности режима варфаринотерапии: снижение активности протромбина до 10%—25% соответствует адекватному антитромботическому эффекту и минимальному риску геморрагических осложнений. Преимуществом этого метода является то, что он достаточно стандартизирован. К недостаткам же можно отнести то, что он требует больше времени для воспроизводства, а также является более дорогостоящим. Тем не менее, по-видимому, автоматизированное определение антигена протромбина иммуноферментным методом может преодолеть эти недостатки.

2. Фрагменты протромбина F1+2

Пептиды F1 и F2 образуются в процессе активации фактором II тромбина. Время их полужизни в плазме составляет 90 минут. Определяется уровень F1+2 обычно иммуноферментным методом (ELISA). Поскольку варфарин подавляет активность фактора II, уровень его фрагментов F1+2 также падает ниже нормальных значений. К недостаткам метода относится отсутствие возможности адекватного прогнозирования риска геморрагических осложнений.

Прямые ингибиторы тромбина

1. Роль тромбина в тромбообразовании

Тромбин играет центральную роль, как в физиологическом функционировании системы гемостаза, так и в патологическом тромбообразовании. В процессе активации системы гемостаза тромбин катализирует активацию фактора II через «амплификационный» (внутренний) путь, что способствует дальнейшему тромбообразованию и фибринообразованию по принципу положительной обратной связи. Помимо того, что тромбин катализирует превращение фибриногена в фибрин, он дополнительно активирует факторы V, VIII и XIII. Кроме того, тромбин является потенциальным активатором агрегации тромбоцитов и их реакции высвобождения. Связанный с фибрином тромбин (в составе фибринового сгустка) способствует дальнейшему росту тромба в результате амплификации его протромботической активности почти в 100 раз. Одним из объяснений такому увеличению тромбогенной активности тромбина в составе фибринового сгустка является тот факт, что связанный с фибрином тромбин уже не обладает свойственной ему в свободном состоянии антикоагулянтной активностью (активация тромбомодулина и, как следствие, системы протеина C).

2. Механизм действия

Теоретически прямые ингибиторы тромбина имеют преимущества над гепарином. Во-первых, они действуют независимо от активности антитромбина III и обладают отличными от гепарина свойствами связываться с белками плазмы; во-вторых, дозозависимый антитромботический эффект потенциально более предсказуем; в-третьих, они обладают способностью ингибировать тромбин, связанный с фибрином (в составе сгустка) в отличие от гепарина, и потому обеспечивают большую эффективность ингибции процесса тромбообразования и роста тромба.

Клинический опыт применения прямых ингибиторов тромбина в широкой практике на сегодняшний день невелик. Гирудин — основной антикоагулянтный пептид медицинской пиявки, прямо связывается с тромбином в области его каталитического сайта с фибриногеном, предотвращая тем самым каталитическую активность тромбина. Синтетические (рекомбинантные) прямые ингибиторы тромбина, как дезирудин, лепирудин и др., а также аналоги гирудина как бивалирудин (Гирулог) наиболее широко исследуются в последнее время в клинике.

Первые клинические исследования при острых коронарных расстройствах показали, что терапевтический спектр этих препаратов оказался более узким, чем

ожидалось (GUSTO IIa Investigators 1994). При исследовании высоких терапевтических доз (200—300 мг/24ч) наблюдались массивные кровотечения, включая внутренние. Средние дозы требовали продолжительного применения для достижения клинического эффекта (DASIS Investigators, 1997). Низкие дозы (10—20мг/12ч) требуют дополнительного назначения нефракционированного гепарина или НМГ для профилактики венозных тромбозов и тромбоемболий. Однако, риск массивных геморрагий при этом минимален.

3. Лабораторный мониторинг

При терапии средними дозами гирудина, АЧТВ является чувствительным методом контроля антикоагулянтного эффекта. В более высоких дозах линейная дозозависимость АЧТВ может отсутствовать. Наиболее информативным методом контроля может выступать анти-фактор IIa исследование с помощью хромогенных субстратов, которое демонстрирует линейную зависимость доза-антикоагулянтный эффект вне зависимости от терапевтических доз.

Тромболитики

1. Клиническое применение

Фибринолитики, или тромболитики, прямым или непрямым образом активируют плазминоген плазмы с образованием протеолитического энзима плазмина, который в свою очередь, обладает литическим эффектом на фибрин и фибриноген. Лизис тромбов может улучшать исходы при лечении острого инфаркта миокарда, тромботических инсультов, периферических артериальных тромбозов, а также массивного острого венозного тромбоемболизма. Наиболее часто используемыми для этой цели тромболитиками являются стрептокиназа (в нашей стране), рекомбинантный активатор плазминогена тканевого типа (альтеплаза), плазминоген-активаторный комплекс, активатор плазминогена урокиназного типа и рекомбинантная стафилокиназа. Альтеплаза и стафилокиназа теоретически имеют преимущества перед другими тромболитиками, поскольку в основном активируют плазминоген на поверхности фибринового сгустка, что минимизирует системный антиплазминовый эффект. После успешного тромболитического лечения обычно необходимо назначение гепарина и/или аспирина во избежание рецидивов тромбоза после тромболитического лечения. Комбинированная тромболитическая терапия ведет к значительному повышению риска геморрагических осложнений, чем применение каждого из других противотромботических препаратов (как гепарин, аспирин или варфарин) в отдельности.

2. Мониторинг тромболитической терапии

Несмотря на то, что все глобальные тесты реагируют на тромболитики удлинением времени (АЧТВ, ПВ, ТВ), к сожалению, ни один из них не позволяет оценить ни эффективность тромболитической терапии, ни риск развития геморрагических осложнений. Хотя уровень плазминогена в плазме снижается, тем не менее, судить по нему об эффективности тромболитической терапии невозможно. Снижение же, с другой стороны, уровня фибриногена, может успешно использоваться с целью прогнозирования риска кровотечений: снижение уровня фибриногена меньше 1 г/л связано с повышенным риском внутримозговых, ретроперитонеальных и желудочно-кишечных кровотечений, когда продолжительная внутривенная инфузия продолжается 48—72 часа. Исследование основных гемостатических функций до начала тромболитической терапии может быть весьма успешным для своевременного выявления нераспознанных факторов, предрасполагающих к геморрагиям (например, заболевания печени, ДВС и т.д.). Измерение уровня продуктов деградации фибрина/фибриногена в условиях тромболитической терапии может успешно свидетельствовать о достижении литического состояния.

Поскольку успех тромболитической терапии не повышается с ее длительностью, как правило, она продолжается в течение фиксированного времени. Терапевтический мониторинг для таких режимов не показан, за исключением рутинного мониторинга, при условии повышенного риска возможных геморрагических осложнений.

Антитромботические препараты

1. Аспирин

1. Клинический эффект

Антитромбоцитарная терапия играет важную роль в процессе ведения пациентов с тяжелыми расстройствами, включая заболевания коронарных артерий, цереброваскулярные заболевания и заболевания периферических артерий. Аспирин уже давно хорошо известен как эффективный антитромбоцитарный препарат, который, в основном, хорошо переносится. Тем не менее, в терапевтических дозах при длительном применении аспирина риск геморрагических осложнений умеренно повышается, включая легкую синячковость, носовые кровотечения и желудочно-кишечные кровотечения.

2. Механизм действия

Аспирин ингибирует циклооксигеназу тромбоцитов и эндотелиальных клеток. В тромбоцитах следствием этого является ингибция синтеза тромбосана A₂ — одного из мощных агонистов агрегации тромбоцитов и вазоконстрикторов; в эндотелиоцитах же ингибция циклооксигеназы блокирует синтез простаглицлина. Простаглицлин может взаимодействовать с рецепторами тромбоцитарных мембран и ингибировать агрегацию тромбоцитов через эффекты на цАМФ. Поэтому теоретически этот эффект аспирина является протромботическим. Однако многочисленные исследования дозо-зависимых эффектов аспирина показали, что низкие дозы аспирина (20—80 мг/день) селективно подавляют тромбосан A₂, но не синтез простаглицлина. Кроме того, ингибиторный эффект аспирина на тромбоциты носит необратимый характер, в то время как эндотелиальные клетки могут быстро ресинтезировать простаглицлин. Таким образом, клинически значимых протромботических эффектов не наблюдается, если аспирин применяется ежедневно в дозе не более 100—350 мг.

3. Лабораторный мониторинг

Аспирин вызывает удлинение времени кровотечения, однако этот эффект также вариабелен у некоторых пациентов. Кроме того, время кровотечения является инвазивным тестом, потенциально связанным с образованием царапин и келоида, а также достаточно плохо стандартизированным и неудобным для воспроизводства. Этот тест также не может служить методом оценки антитромботического эффекта и прогнозирования риска геморрагических осложнений.

Турбидиметрический метод исследования агрегационной активности тромбоцитов является потенциально более пригодным для оценки антитромботического эффекта аспирилотерапии. Аспирин ингибирует коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов, а также вторую волну агрегации в ответ на такие агонисты, как АДФ и адреналин. Максимальная ингибция коллаген-индуцированной агрегации тромбоцитов происходит только при очень высоких дозах аспирина, которые нежелательны для клинического применения (вследствие значительного повышения риска желудочно-кишечных кровотечений).

Агрегация тромбоцитов на фоне аспирилотерапии также может быть исследована с помощью импедансной агрегометрии (при этом используется цельная цитратная кровь). К сожалению, эта техника менее чувствительна к ингибции агрегационной активности на фоне аспирилотерапии, чем турбидиметрическая агрегометрия с использованием богатой тромбоцитами плазмы.

Существующий в настоящее время лабораторный мониторинг, таким образом, не может быть использован для установления оптимальной дозы аспирина с учетом эффективности и безопасности (в частности прогнозирования риска желудочно-кишечных кровотечений). Выбор оптимальной терапии, таким образом, по-прежнему зависит от произвольного выбора дозы и клинической оценки эффективности.

4. Другие антитромбоцитарные препараты

На сегодняшний день появились новые антитромбоцитарные препараты с более селективным действием. В первую очередь к таким препаратам следует

отнести ингибиторы рецепторов тромбоцитов, в частности GPIIb/IIIa. Тиклопидин ингибирует АДФ-опосредованную агрегацию тромбоцитов и широко используется в хирургии коронарных артерий. Ингибиторы GPIIb/IIIa обладают обратной антитромбоцитарной активностью. Они ингибируют агрегацию тромбоцитов в ответ на все известные агонисты, поскольку рецепторы GPIIb/IIIa вовлечены в финальный общий путь агрегации тромбоцитов. Внутривенное, или, что используется чаще, пероральное применение антагонистов GPIIb/IIIa ассоциируется с меньшим риском геморрагических осложнений и хорошей клинической эффективностью в лечении нестабильной стенокардии. Мониторинг этих препаратов, однако, также остается открытым вопросом. Дозы, применяемые в клинической практике, вызывают, как правило, ингибицию на 70—80% агонист-индуцированной агрегации *in vitro*. Тем не менее, еще не установлено, ведет ли такой уровень антитромбоцитарной активности к лучшему балансу между риском и пользой *in vivo*, в особенности при постоянном пероральном приеме или в комбинации с тромболитиками. Таким образом, адекватный мониторинг терапии антагонистами GPIIb/IIIa по-прежнему остается значительной проблемой.

Список литературы

1. Грицюк А.И., Амосова Е.Н., Грицюк И.А. Практическая гемостазиология. — Киев: Здоровья, — 1994. — 256 с.
2. Ломая П.В. Клиническое значение динамического контроля за системой гемостаза у больных с неразвивающейся беременностью I—II триместрах. / Автореф. дисс... канд. мед. наук. М., 1987. — 22 с.
3. Anand S., Ginsberg J.S., Kearon C., Gent M., Hirsh J. The relation between the activated partial thromboplastin time response and recurrence in patients with venous thrombosis treated with continuous intravenous heparin. // *Arch. Intern. Med.*, 1996; 156(15): 1677—1681.
4. Anseli J.E., Hughes R. Evolving models of warfarin management: anticoagulation clinics, patient self-monitoring, and patient self-management. // *Am. Heart J.*, 1996; 132: 1095—1100.
5. Bara L., Samama M. Pharmacokinetics of low molecular weight heparins. // *Acta. Chir. Scand. Suppl.*, 1988; 543: 65—72.
6. Basu D., Gallus A., Hirsh J., Cade J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. // *N. Engl. J. Med.*, 1972; 287: 324—327.
7. Bertina R.M. The relationship between international normalised ratio and coumarin-induced coagulation defect. In: Van den Besselaar A, Gralnick H, Lewis S (eds): *Thromboplastin calibration and oral anticoagulant control*, Martinus Nijhoff, Boston, 1984.
8. Brigden M.L. Oral anticoagulant therapy: practical aspects of management. // *Postgrad. Med.*, 1996; 99: 81—84, 87—89, 93—94.
9. Bussey H.I., Force R.W., Bianco T.M., Leonard A.D. Reliance on prothrombin time ratios causes significant errors in anticoagulation therapy. // *Arch. Intern. Med.*, 1992; 152: 278—282.
10. Cade J.F., Buchanan M.R., Boneu B., Ockelford P., Cater C.J., Cerskus A.L.H.J. A comparison of the antithrombotic and haemorrhagic effects of low molecular weight heparin fractions: the influence of the method of preparation. // *Thromb. Res.*, 1984; 35: 613—625.
11. Callus A.S., Hirsh J., Tuttle R.J., Trebilcock R., O'Brien S.E., Carroll J.J., et al. Small subcutaneous doses of heparin in prevention of venous thrombosis. // *N. Engl. J. Med.*, 1973; 288: 545—551.

12. Chiu H.M., Hirsh J., Yung W.L., Regoeczi E., Gent M. Relationship between the anticoagulant and antithrobotic effects of heparin in experimental venous thrombosis. // *Blood*, 1977; 49: 171—184.
13. Cruickshank M.K., Levine M.N., Hirsh J., Roberts R., Siguenza M. A standard heparin nomogram for the management of heparin therapy. // *Arch. Intern. Med.*, 1991; 151: 333—337.
14. D'Angelo A., Seveso M.P., D'Angelo S.V., Gilardoni F., Dettori A.G., Bonini P. Effect of clot-detection methods and reagents on activated partial thromboplastin time (APTT). Implications in heparin monitoring by APTT. // *Am. J. Clin. Pathol.*, 1990; 94: 297—306.
15. Forster W., Parratt J.R. The case of low-dose aspirin for the prevention of myocardial infarction: but how low is low? // *Cardiovasc. Drugs Ther.*, 1997; 10: 727—734.
16. Fratantoni J.C., Pollel R., Cralnack H.K. Heparin-induced thrombocytopenia: confirmation of diagnosis with in vitro methods. // *Blood*, 1975; 45(3): 395—401.
17. Harrison L., Johnston M., Massicotte M.P., Crowther M., Moffat K., Hirsh J., et al. Comparison of 5-mg and 10-mg loading doses in initiation of warfarin therapy. // *Ann. Intern. Med.*, 1997; 126: 133—136.
18. Hermans J., Van den Besselaar A.M., Loeliger E.A., vander Velde E.A. A collaborative calibration study of reference materials for thromboplastins. // *Thromb. Haemost.*, 1983; 50: 712—717.
19. Hirsh J., Levine M. Confusion over the therapeutic range for monitoring oral anticoagulant therapy in North America. // *Thromb. Haemost.*, 1988; 59: 129—132.
20. Hirsh J., Raschke R., Warkentin T.E., Dalen J.E., Deykin D., Poller L., et al. Heparin: mechanism of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy and safety. // *Chest*, 1995; 108: 258s—275s.
21. Hogg P.J., Jackson C.M. Fibrin monomer protects thrombin from inactivation by heparin-antithrombin III: implications for heparin efficacy. // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1989; 86 (10): 3619—3623.
22. Homer E. A new, simple chromogenic substrate assay for heparin and heparin-like anti FXa activity in plasma. // *Thromb. Haemost.*, 1985; 54: 29—31.
23. Hull R.D., Raskob G.E., Brant R.F., Pineo G.F., Valentine K.A. Relation between the time to achieve the lower limit of the APTT therapeutic range and recurrent venous thromboembolism during heparin treatment for deep vein thrombosis. // *Arch. Intern. Med.*, 1997; 157(22): 2562—2568.
24. Kitchen S., Jennings I., Woods T.A., Preston F.E. Wide variability in the sensitivity of APTT reagents for monitoring of heparin dosage. // *J Clin. Pathol.*, 1996; 49: 10—14.
25. Kornberg A., Francis C.W., Pellegrini V.D. Jr, Gabriel K.R., Narder V.J. Comparison of native prothrombin antigen with the prothrombin time for monitoring oral anticoagulant prophylaxis. // *Circulation*, 1993; 88: 454—460.
26. Kundu S.K., Heilman E.J., Sio R., Garcia C., Davidson R.M., Ostgaard R.A. Description of an in vitro platelet function analyzer-PFA-100. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1995; 21: 106—112.
27. Landefeld C.S., McGuire E., Rosenblatt M.W. A bleeding risk index for estimating the probability of major bleeding in hospitalized patients starting anticoagulant therapy. // *Am. J. Med.*, 1990; 89: 569—578.
28. Lane D.A., Ryan K. Heparin and low molecular weight heparin: is anti-factor Xa activity important? // *J. Lab. Clin. Med.*, 1989; 114: 331—333.

29. Lane D.A. Heparin binding and neutralizing protein in: Lane DA, Lindahl U, eds, Heparin, chemical and biological properties? clinical applications. London: Edward Arnold. 1989; 363—374.
30. Le Bras P., Halfon P. Standardization of heparin therapy improved efficacy. // Arch. Intern. Med., 1992; 152: 2140—2143.
31. Levine M., Hirsh J., Gent M., Turpie A.G., Cruickshank M., Weitz J., et al. A randomized trial comparing activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin. // Arch. Intern. Med., 1994; 154: 49—56.
32. Levine M.N., Hirsh J., Gent M., et al. A randomized trial comparing I activated thromboplastin time with heparin assay in patients with acute venous thromboembolism requiring large daily doses of heparin. // Arch. Intern. Med., 1994; 154: 49—56.
33. Lind S.E. The bleeding time does not predict surgical bleeding. // Blood, 1991; 77: 2547—2552.
34. Marder V.J. How have trials of thrombolytics influenced clinical management of patients with acute myocardial infarction. // Thromb. Haemost., 1997; 78: 548—552.
35. Mielke C.H. Jr Aspirin prolongation of the template bleeding time, influence of venostasis and direction of incision. // Blood, 1982; 60: 1132—1142.
36. Morabia A. Heparin doses and major bleedings. // Lancet, 1986; 1: 1278—1279.
37. Moriarty H.T., Lam Po Tang P.R., Anastas N. Comparison of thromboplastins using the ISI and INR system. // Pathology, 1990; 22:71—76.
38. Nakamura K., Toyohira H., Kariyazono H., Yamada K., Moriyama Y., Taira A. Relationship between changes in FI +2 and TAT levels and blood coagulation early after prosthetic valve replacement. // Thromb. Res., 1997; 86: 161—171.
39. O'Brien J.R., Etherington M.D. How much aspirin? Thromb. Haemost., 1982 64: 486—491.
40. Poller L., Taberner D.A. Dosage and control of oral anticoagulants: An international collaborative survey. // Br. J. Haematol., 1990; 51: 479—485.
41. Poller L., Thomson J.M., Taberner D.A., Clarke D.K. The correction of coagulometer effects on international normalized ratios: a multicentre evaluation. // Br.J. Haematol., 1994; 86: 112—117.
42. Poller L., Wright D., Rowlands M. Prospective comparative study of computer programs used for management of warfarin. // J. Clin. Pathol., 1993; 46: 299—303.
43. Raschke R., Hertel G. Clinical use of the heparin nomogram. //Arch. Intern. Med., 1991;151:2318— 2321.
44. Raschke R.A., Reilly B. Monitoring heparin therapy. // Ann. Intern. Med., 1994; 120: 169—170.
45. Ray M.J., Smith I.R. The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time. // Thromb. Haemost., 1990; 63: 424—427.
46. Salzman E.W., Deykin D., Shapiro R.M., Rosenberg R.U. Management of heparin therapy. // N. Engl. J. Med., 1975; 292: 104.
47. Simko R.J., Tsung F.F., Stanek E.J. Activated clotting time versus activated partial thromboplastin time for therapeutic monitoring of heparin. // Ann. Pharmacother., 1995; 29: 1015—1021.
48. Thomson J.M., Taberner D.A., Poller L. Automation and prothrombin time: a United Kingdom field study of two widely used coagulometers. // J. Clin. Pathol., 1990; 43: 679—684.

49. Tohg H., Konno S., Tamura K., Kimura B., Kawano K. Effects of low-to-high doses of aspirin on platelet aggregability and metabolites of thromboxane A2 and prostacyclin. // *Stroke*, 1992; 23: 1400—1403.
50. Verstraete M. Direct thrombin inhibitors: appraisal of the antithrombotic/hemorrhagic balance. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 357—363.
51. Weiss P., Soff G.A., Halkin H., Seligsohn U. Decline of proteins C and S and factors II, VII, IX and X during the initiation of warfarin therapy. // *Thromb. Res.*, 1987; 45: 783—790.
52. Weitz J.I., Hudoba M., Massel D., Maraganore J., Hirsh J. Clot-bound thrombin is protected from inhibition by heparin-antithrombin III but is susceptible to inactivation by antithrombin III — independent inhibitors. // *J. Clin. Invest.*, 1990; 86: 385.
53. Willerson J.T. Inhibitors of Platelet Glycoprotein IIb/IIIa Receptors. Will they be useful when given chronically? // *Circulation*, 1996; 94: 866—868.
54. Young E., Prins M., Levine M.N., Hirsh J. Heparin binding to plasma proteins, an important mechanism for heparin resistance. // *Thromb. Haemost.*, 1992; 67: 639—643.

Глава XVIII.

Геморрагические и тромботические осложнения противотромботической терапии

Несмотря на значительное расширение показаний к применению противотромботических препаратов в клинической практике и прогресс в разработке новых, более эффективных и безопасных препаратов, полностью решить проблему геморрагических осложнений все еще не удастся.

Тем не менее, значительно снизить риск этих осложнений на современном этапе можно при условии правильной клинико-лабораторной диагностики и оптимального выбора противотромботического препарата. Последнее крайне важно, поскольку уже более 40 лет назад один из крупнейших специалистов по антикоагулянтной терапии, Перлик, утверждал, что абсолютным противопоказанием для применения антикоагулянтов является незнание фармакологии антикоагулянтов и патофизиологии тромбозов.

С другой стороны, относительно необходимости правильной клинико-лабораторной диагностики и выявления показаний к антикоагулянтной терапии очень верно отметил другой не менее известный ученый, Раби, который утверждал, что осторожность при применении антикоагулянтов «не мать безопасности, а дочь малодушия и некомпетентности».

Знание факторов риска значительно влияет на решение о назначении и выборе антикоагулянтов. При этом перед назначением их следует учитывать следующие факторы риска, связанные:

а) с пациентом и его индивидуальными особенностями (характер заболевания, коморбидное состояние, возраст, пол (реже), кровотечения в анамнезе, сопутствующий прием других лекарственных препаратов, особенности диеты — последнее важно в большей степени при назначении ОАК;

б) характером, травматичностью и длительностью хирургического вмешательства или инвазивной терапевтической процедуры, если таковые предстоят;

в) с терапией, в частности с видом антикоагулянта, длительностью и интенсивностью терапии.

Чаще геморрагии возникают в местах повреждения целостности сосудистой стенки (например, хирургическая рана, обширная раневая поверхность послеродовой матки и пр.) или в области злокачественной опухоли. Однако значительно реже возможны спонтанные геморрагические осложнения. Механизм возникновения таких геморрагий до конца еще не ясен, хотя следует подчеркнуть, что возникают они при интенсивной (высокими дозами) и длительной антикоагулянтной терапии. Возможно, это связано с наличием микроскопических нарушений целостности сосудистой стенки, которая усиливается и клинически проявляется кровотечениями при присоединении антикоагулянтной терапии. Вероятно таков механизм внутримозгового кровотечения у пожилых людей, а также у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями.

Частота геморрагических осложнений антикоагулянтной терапии по данным различных исследований значительно варьирует. Это отчасти зависит от различных критериев определения массивности кровотечения, а также от изучаемой популяции. Обычно частота меньше по данным рандомизированных исследований по

сравнению с большими популяционными исследованиями, так как из рандомизированных исследований, как правило, исключаются пациенты, предрасположенные к кровотечениям, а также в процессе клинических исследований проводится более тщательный лабораторный мониторинг.

Гепарин и НМГ

В клинической практике гепарин обычно назначается подкожно в малых дозах для профилактики тромбозов и/или таких акушерских осложнений, как синдром потери плода, гестоз, ПОНРП (см. главы XXI, XXII, XXIII) либо в высоких дозах для лечения острых тромбозов, острых коронарных синдромов, а также операциях на открытом сердце. Следует отметить, что беременные с ИКС также получают терапевтические дозы гепарина наряду с антиагрегантами (аспирином).

Геморрагическая склонность при назначении терапевтических доз гепарина обусловлена угнетением коагуляции, некоторым снижением функции тромбоцитов, а также увеличением проницаемости сосудов. Следует отметить, что НМГ, в отличие от НГ, не повышают проницаемость сосудов, что тоже является одной из составляющих более низкого риска геморрагических осложнений, по сравнению с НГ.

Факторы риска при терапии гепарином, также как и большинством других противотромботических препаратов, включают пожилой возраст, женский пол, коморбидные заболевания, а также сопутствующий прием других препаратов. Женский пол как фактор риска в настоящее время оспаривается. Однако при осложненной гестозом беременности часто имеет место волнообразное течение ДВС-синдрома, что следует учитывать перед назначением гепарина с целью профилактики тромботических осложнений накануне операции кесарева сечения или родоразрешения через естественные родовые пути. Назначение гепарина в таких ситуациях в отсутствие заместительной терапии плазмой или концентратом факторов может усугубить кровотечение и привести к массивному акушерскому кровотечению в результате сочетания коагулопатического эффекта ДВС и ятрогенного — гепарина.

Клинически значимое увеличение риска кровотечений характерно для пациентов старше 70 лет. Важным фактором риска являются такие коморбидные состояния, как недавняя хирургическая операция, травма, почечная недостаточность и гемодиализ.

Дополнительное назначение аспирина наряду с гепарином перед операцией значительно повышает риск геморрагических осложнений. Поэтому у беременных, длительно получавших в течение беременности наряду с профилактическими дозами гепарина аспирин, последний отменяется за 2 недели до предполагаемого планового родоразрешения или в 35 недель беременности.

Хотя сочетание аспирина и гепарина увеличивает риск геморрагических осложнений, его часто применяют в терапии острых коронарных синдромов. Риск кровотечений значительно повышается при сопутствующей терапии тромболитиками (при остром инфаркте миокарда, тромбозе или ТЭЛА) или антагонистами гликопротеина IIb/IIIa.

В акушерской практике не следует забывать, что периоперативная антикоагулянтная профилактика гепарином или НМГ может стать причиной повышенной кровопотери во время оперативного родоразрешения, если интраоперационно применяют декстраны или реополиглюкин и не учитывается их потенцирующий эффект.

Риск кровотечения зависит, кроме того, от пути введения гепарина, помимо дозы. Кровотечения возникают чаще при прерывистом внутривенном режиме введения гепарина по сравнению с непрерывным; в то же время согласно метаанализу практически не отмечено разницы между непрерывным введением и подкожным — 2 раза в день.

В ряде случаев возможно несоответствие между дозой вводимого гепарина, удлинением АЧТВ и антикоагулянтным ответом (чувствительность к гепарину). Ре-

зультаты большинства исследований свидетельствуют, что частота кровотечений значительно выше у пациентов, получающих гепарин в дозах поддерживающих значение АЧТВ в 1,5 раза и более по сравнению с нормальным значением, чем у пациентов, получающих гепарин в низких профилактических дозах (5 тыс. ЕД дважды в сутки подкожно).

Кроме того, возможны ситуации, когда серьезное кровотечение может возникнуть при терапии гепарином, даже если антикоагулянтный ответ находится в терапевтических рамках.

Так, результаты исследований GUSTO (Global Use of Streptokinase and TPA for Occluded Arteries) и TIMI 9A (Thrombolysis in Myocardial Infarction) у пациентов с ИБС демонстрируют, что увеличение внутривенно вводимой дозы гепарина на 20% выше 1000 ЕД/час увеличивает риск внутримозгового кровотечения при сочетании гепаринотерапии с тромболитической терапией.

Метаанализ исследований, посвященных сравнению риска геморрагических осложнений НМГ и НГ при лечении венозного тромбоза, где используются терапевтические дозы препаратов, показал, что при внутривенном введении гепарина частота кровотечений составляет 0—7%, фатальных — 0—2%. При применении НМГ тяжелые кровотечения обнаруживаются у 0—3%, фатальные — у 0—0,8%.

Частота возникновения кровотечений при применении НМГ, таким образом, несколько меньше, однако, что особенно важно, частота фатальных кровотечений крайне низка при применении НМГ (табл.99).

Таблица 99

Частота геморрагических осложнений у пациентов с венозным тромбозом на фоне терапии НМГ и НГ.

Исследование	Терапия	Частота кровотечений (%)	
		Тяжелые	Фатальные
Prandoni et al.	Надропарин 2р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,0	1/85 (1,0) 3/85 (4,0)	0/85 0/85
Hull et al.	Тинзапарин 175Ха, 1р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,0	1/213 (0,5) 11/219 (0,5)	0/213 2/219 (0,9)
Lopaciuk et al.	Надропарин 92Ха 2р/д. Гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,5	0/74 1/72 (1,0)	0/74 0/72
Simoneau et al.	Эноксапарин 1мг/кг 2р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,5	0/67 0/67	0/67 0/67
Lindmarker et al.	Дальтепарин 200Ха 1р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—3,0	0/101 0/103	0/101 0/101

Исследование	Терапия	Частота кровотечений (%)	
		Тяжелые	Фатальные
Fiessinger et al.	Дальтепарин 200Ха 1р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—3,0	0/127 2/133 (2,0)	0/127 0/133
Levine et al.	Эноксапарин 1мг/кг 2р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение	5/247 (2,0) 3/253 (1,0)	2/247 (0,8) 0/253
Koopman et al.	Надропарин 2р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,0	1/202 (0,5) 4/198 (2,0)	0/202 2/198 (1,0)
Columbus study	Ревипарин 3500—6300Ха 2р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 1,5—2,5	16/510 (3,0) 12/511 (2,0)	0/510 2/511 (0,4)
Thesee study Simmoneau et al.	Тинзапарин 175Ха 1р/д. В/в гепарин аРТТ-отношение 2,0—3,0	0/304 1/308 (0,3)	0/304 1/308 (0,3)

аРТТ — активированное тромбластиновое время

Частота тяжелых кровотечений при применении НМГ, вероятно, зависит от многих факторов: типа НМГ, получал ли пациент альтернативную антикоагулянтную терапию до назначения НМГ или вместе с НМГ, проводилась ли терапия стационарно или амбулаторно. Дальнейшие исследования подразумевают более глубокое изучение возможных причин геморрагических осложнений.

При сравнении частоты геморрагических осложнений в течение 3-х-месячной терапии после эпизода ТГВ с использованием ОАК, НМГ и НГ, НГ и НМГ, применяемые в средних дозах вызывали меньшие кровопотери, а также такую же или меньшую частоту тяжелых кровотечений ~1% по сравнению с ОАК (МНО 2,0—3,0).

Результаты сравнения НМГ с плацебо и внутривенным гепарином у пациентов с нестабильной стенокардией демонстрируют, что помимо большей эффективности НМГ обладают значительно меньшим риском развития тяжелых геморрагий по сравнению с нефракционированным гепарином.

Результаты исследований применения НМГ, НГ в комбинации с аспирином или в процессе монотерапии у пациентов с острым ишемическим инсультом свидетельствуют, что риск геморрагических осложнений у пациентов с острым ишемическим инсультом несколько выше, чем у пациентов с тромбозами другой локализации как при использовании НГ, так и НМГ, при этом наблюдается дозозависимый эффект (табл.100). Однако здесь следует учитывать наличие дополнительных факторов риска, в частности артериальную гипертензию и/или одно-

временное назначение аспирина. Кроме того, вероятно большая частота геморрагических осложнений у пациентов с острым ишемическим инсультом или транзиторными ишемическими атаками в анамнезе объясняется повышенной проницаемостью сосудистой стенки, что характерно также и для пожилых пациентов. В связи с этим обстоятельством теоретически предпочтительны НМГ, которые в отличие от НГ не повышают проницаемость сосудистой стенки.

Оральные антикоагулянты (ОАК)

Оральные антикоагулянты — антагонисты витамина К — традиционно характеризуются более высоким риском геморрагических осложнений, что во многом связано с его фармакокинетикой и фармакодинамикой. В акушерстве применение ОАК, как уже указывалось, возможно в течение короткого промежутка времени — во II триместре (вследствие известных тератогенных и эмбриотоксических эффектов) и в послеродовом периоде (речь идет о варфарине), тем не менее, в некоторых странах (в том числе и Великобритании) ОАК применяются в группах высокого риска тромботических осложнений и в III триместре вплоть до 35 недель.

В основном ОАК во время беременности получают пациентки с ИКС, которым необходима более высокая степень антикоагуляции.

Большинство работ по применению ОАК у пациентов с ИКС опубликовано в 80—90-е годы. Интенсивность терапии ОАК при этом изучалась ретроспективно с оценкой МИЧ-реагентов при определении ПВ. С 1990 года было проведено не менее 6 рандомизированных исследований, посвященных изучению эффектов длительной терапии ОАК у пациентов ИКС (табл. 101). В трех из них сравнивался эффект различных доз терапии. Saour et al. сравнивал умеренную терапию варфарином (МНО 2,65) с интенсивной (МНО 9,0). В первом случае частота составила 3,2%, во втором — 7,2%.

Исследования по сравнению применения варфарина (МНО 3,0—4,5) и варфарин+аспирин (Turpie et al.) показали, что частота геморрагических осложнений в первом случае — 10,3% и 12,9% — во втором.

Частота ежегодных геморрагических осложнений у пациентов с ИКС, получающих ОАК колеблется от 1,25—5,6% в год (табл. 101). Таким образом, частота геморрагических осложнений у пациентов с ИКС в первую очередь зависит от интенсивности антикоагуляции и ее длительности.

Метаанализ исследований по применению ОАК у пациентов с венозным тромбозом свидетельствует, что частота геморрагических осложнений коррелирует с интенсивностью и длительностью ее (табл. 102).

Характерно, что снижение интенсивности терапии ОАК (МНО 2,0—3,0) способствовало снижению частоты геморрагических осложнений без снижения антитромботической эффективности.

Сравнение частоты геморрагических осложнений на фоне ОАК и НМГ показало, что не угрожающие жизни кровотечения достоверно чаще возникают при лечении ОАК, однако частота массивных кровотечений почти одинакова (табл. 102), что, по-видимому, свидетельствует о наличии других факторов, потенцирующих геморрагическую склонность (со стороны пациента или в результате одновременного приема других препаратов и пр.).

Метаанализ большинства рандомизированных клинических исследований свидетельствует о высокой эффективности варфарина у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий. При этом риск геморрагических осложнений не высок (табл. 103).

Риск геморрагических осложнений выше у пожилых пациентов (>75 лет). Внутречерепные геморрагии по данным SPAF II связаны в основном с МНО>3,0. Попытки исследовать эффект фиксированной низкой дозы варфарина (1,5 мг в день) были прекращены, что привело к остановке исследования SPAF III, так как первые же результаты свидетельствовали о недостаточности низких доз (МНО<1,5) для предотвращения инсультов, хотя геморрагические осложнения были очень редки.

Частота геморрагических осложнений при терапии острых ишемических коронарных синдромов с применением НМГ и НГ.

Исследование	Терапия	Длительность терапии	Кол-во пациентов	Частота кровотечений (%)	
				Тяжелые	Фатальные
Gurfinkel et al.	Аспирин	5-7 д.	73	0	0
	В/в гепарин	5-7 д.	70	2 (2,9)	0
	аРТТ-отношение 2,0	5-7 д.	68	0	0
	Надропарин 214Ед/кг 2р/д	5-7 д.	68	0	0
FRISC 1996	Плацебо 2р/д	0-6 д.	760	4 (0,5)	1 (0,1)
	Дальтепарин 120 Ед/кг 2р/д	0-6 д.	746	6 (0,8)	0
	Плацебо 1р/д	6-45 д.	614	2 (0,3)	0
	Дальтепарин 7500Ед 1р/д	6-45 д.	619	2 (0,3)	0
FRISC 1997	В/в гепарин	0-6 д.	731	7 (1,0)	—
	аРТТ-отношение 1,5	0-6 д.	751	8 (1,1)	—
	Дальтепарин 120Ед/кг 2р/д	6-45 д.	565	2 (0,4)	—
	Плацебо 1р/д	6-45 д.	567	3 (0,5)	—
TIMI 11A 1997	Эноксапарин 1,25мг/кг через 12 ч.	14 д.	321	21 (6,5)	—
	Эноксапарин 1,0мг/кг через 12 ч.	14 д.	309	6 (1,9)	—
ESSENCE 1997	В/в гепарин	2-8 д.	1564	107 (6,8)	—
	аРТТ-отношение 55-85	2-8 д.	1607	102 (6,3)	—
	Эноксапарин 1,0мг/кг через 12 ч.	Змес.	1056	16 (1,5)	—
FRISC II 1999	Плацебо 2р/д	Змес.	1049	34 (3,2)	—
	Дальтепарин 120Ед/кг 2р/д	8 д. (в стаци.)	1957	19 (1,0)	4 (0,2)
TIMI IIIB 1999	В/в гепарин,	8 д. (в стаци.)	1953	29 (1,5)	4 (0,2)
	аРТТ-отношение 1,5-2,5	8 д. (в стаци.)	1185	18 (1,5)	—
	Эноксапарин 1,0мг/кг через 12 ч.	43 д.	1179	34 (2,9)	—
	Плацебо через 12 ч.	43 д.	1179	34 (2,9)	—
Эноксапарин 40мг или 60мг 1р/д	43 д.	1179	34 (2,9)	—	

аРТТ — активированное тромбопластинное время

Частота геморрагических осложнений у пациентов с ИКС на фоне терапии ОАК.

Исследования	Терапия	Кол-во пациентов	Частота кровотечений			
			Тяжелые, % % в год	Фатальные, % % в год	Тяжелые, %	Фатальные, %
Saour et al.	Варфарин МНО 2,65	122	4(3,2)	0	—	—
	Варфарин МНО 9,0	125	9(7,2)	2(1,6)	—	—
Turpie et al.	Варфарин МНО 3,0—4,5+плацебо	184	19(10,3)	4(2,2)	5,2	0,7
	Варфарин МНО 3,0—4,5+аспирин 100мг	186	24(12,9)	3(1,6)	4,1	0,9
Altman et al.	Аценокумарол МНО 2,0—3,0+аспирин	207	15(7,2)	2(1,0)	3,6	—
	Аценокумарол МНО 2,0—3,0+аспирин 650мг	202	19(9,4)	1(0,5)	5,1	—
AREVA	Аценокумарол МНО 2,0—3,0	188	13(6,9)	1(0,5)	4,0	0,24
	Аценокумарол МНО 3,0—4,5	192	19(10,0)	1(0,5)	5,6	0,24
Pengo	Варфарин МНО 2,5—3,5	104	4(3,8)	0	1,2	—
	Варфарин МНО 3,5—4,5	101	11(11,0)	1(1,0)	3,8	—

Частота геморрагических осложнений у пациентов с венозным тромбозом на фоне терапии ОАК.

Исследование	Терапия	Кол-во пациентов	Кровотечения (~ 3 мес.) (%)	
			Тяжелые	Фатальные
Вунм and Wilson	Варфарин(МНО-2,6—4,4	24	4(16,7)	0
	Гепарин(5000Ед 2р/д)	24	0	0
Hull et al.	Варфарин(МНО-2,6—4,4)	33	4(12,1)	0
	Гепарин(5000Ед 2р/д)	36	0	0
Hull et al.	Варфарин(МНО-2,6—4,4)	53	3(5,7)	0
	Гепарин(~ 10000Ед 2р/д)	53	0	0
Hull et al.	Варфарин(МНО-2,6—4,5)	49	2(4,1)	0
	Варфарин(-2,2)	47	2(4,3)	0
Pini et al.	Варфарин(МНО-2,7)	94	12(12,8)	0
	Эноксапарин(4000Ед)	93	3(3,2)	0
Das et al.	Варфарин(МНО-2,0—3,0)	56	0	0
	Дальтепарин(5000Ед)	50	0	0
Lorasiuk et al.	Аценокумарол(МНО-2,0—3,0)	96	2(2,1)	0
	Надропарин(85Ед/кг)	98	1(1,0)	0

МНО — международное нормализованное отношение.

Частота геморрагических исследований у пациентов с фибрилляцией предсердий на фоне терапии варфарином.

Исследование	Терапия	Кол-во пациентов	Частота кровотечений(%)		МНО
			Тяжелые	Фатальные	
Petersen et al.	Варфарин	335	—	1 (0,3)	2,8—4,2
	Аспирин(75мг)	336	—	0	
	Плацебо	336	—	0	
SPAF	Варфарин	201	1,7% в год	—	2,0—3,5
	Аспирин(325мг)	192	0,9% в год	—	
	Плацебо	195	1,2% в год	—	
Boston	Варфарин	212	8 (3,8)	—	1,5—2,7
	Но-Рэкс	208	8 (3,8)	—	
CAFA	Варфарин	187	5(2,7)	2 (1,1)	2,0—3,0
	Плацебо	191	1 (0,5)	0	
SPAF II	Варфарин <=75лет	358	1,7% в год	—	2,0—4,5
	Аспирин <=75лет	357	0,9% в год	—	
	Варфарин <=75лет	197	4,2% в год	—	
	Аспирин <=75лет	188	1,6% в год	—	
European	Варфарин	225	13 (5,8)	3 (1,3)	2,5—4,0
	Плацебо	230	3 (1,3)	1 (0,4)	
	Аспирин (300мг)	404	6 (1,5)	2 (0,5)	
Veterans Affairs	Варфарин	260	6 (2,3)	0	1,4—2,8
	Плацебо	265	4 (1,5)	1 (0,4)	
SPAF III	Варфарин+аспирин (325мг)	521	13 (2,4% в год)	3(0,6%в год)	1,2—1,5 2,0—3,0
	Варфарин	523	12 (2,1% в год)	2(0,4%в год)	
Morocutti et al.	Варфарин	454	6,0% в год	1,0% в год	2,0—3,0
	Индобуфен	462	1,05 в год	0	

Gullov et al.	Варфарин	170		1,1% в год	0,3% в год	—
	Варфарин (1,25мг)	167		0,8% в год	0	—
	Варфарин(1,25мг)+аспирин (300мг)	171		0,3% в год	0	2,0—3,0
	Аспирин (300мг)	169		1,4% в год	0,3% в год	—
Pengo et al.	Варфарин	153		2,6% в год	—	—
	Варфарин(1,25мг)	150		1,0% в год	—	2,0—3,0
Heilemons et al.	Фенпрокумон/аценокумарин	131		0,5% в год	—	—
	Фенпрокумон/аценокумарин	122		1,4% в год	—	2,5—3,5
	Аспирин (150мг)	141		1,4% в год	—	1,1—1,6

МНО — международное нормализованное отношение.

Частота геморрагических осложнений у пациентов с ИБС на фоне терапии варфарином.

Исследования	Терапия	Кол-во пациентов	Частота кровотечений (%)		МНО
			Тяжелые	Фатальные	
Sixty-plus	Аценокумарин Плацебо	439	18(4,1)	6(1,4)	2,2—5,0 —
		439	1(0,2)	1(0,2)	
EPSIM group	ОАК Аспирин (500 мг 4р/д)	652	21(3,2)	8(1,2)	— —
		651	5(0,8)	4(0,6)	
Breddin et al.	Фенпрокумон Аспирин (500 мг 4р/д) Плацебо	320	—	0	2,5—5,0 — —
		317	—	0	
		309	—	0	
Meuwissen et al.	Фенпрокумон Плацебо	68	0	0	1,9—5,0 —
		70	0	0	
Loeliger et al.	Фенпрокумон Плацебо	128	1(0,8)	0	2,0—5,0 —
		122	1(0,8)	1(0,8)	
Bjerkelund et al.	Дикумарол Без лечения	138	20(14,5)	4(2,9)	1,3—2,1 —
		139	5(3,6)	1(0,7)	
Harvald et al.	Дикумарол Плацебо	145	28(19,3)	1(0,7)	1,5—2,1 —
		170	0	0	
Smith et al.	Варфарин Плацебо	607	13(2,1)	3(0,5)	2,8—4,8 —
		607	0	0	
ASPECT	Никумалон/фенпрокумон Плацебо	1700	73(4,3)	11(0,6)	2,8—4,8 —
		1704	19(1,1)	0	
CARS	Варфарин 3 мг + аспирин 80 мг Варфарин 3 мг + аспирин 80 мг Аспирин 160 мг	3382	75(2,2)	—	1,2 1,0 1,0
		2082	42(1,7)	—	
		3393	57(1,5)	—	

МНО — международное нормализованное отношение.

Метаанализ исследований по оценке терапии ОАК у пациентов с ИБС свидетельствует о связи между интенсивностью ОАК и тяжелыми кровотечениями. В исследованиях с высокоинтенсивной терапией (МНО 2,8—4,8) хотя и отмечалось снижение смертности от тромбоземболических осложнений, частота тяжелых кровотечений увеличивается в 6 раз. При терапии низкими дозами ОАК (МНО < 2,0) в сочетании с аспирином по сравнению с монотерапией аспирином значительного снижения смертности не наблюдалось, равно как и инфарктов или инсультов, однако частота кровотечений увеличилась в 1,3 раза (с 1,8% до 2,3%) (табл. 104).

Терапия ОАК у пациентов после острых эпизодов ишемической цереброваскулярной болезни связана с повышением частоты геморрагических осложнений (при МНО > 4 от 2% до 13% через 6—30 месяцев по данным АССР исследования).

Высокая частота кровотечений в ранних исследованиях по антикоагуляции возможно связана со многими факторами, включая высокую интенсивность антикоагуляции, неучтенными субклиническими внутримозговыми геморрагиями, отсутствием адекватного контроля за сопутствующей гипертензией, а также с назначением антикоагулянтной терапии в условиях острой ишемии мозга.

В исследовании Stroke Prevention in Reversible Ischemia Trial (SPIRIT) участвовали 1316 пациентов с транзиторными ишемическими атаками или микроинсультами, им назначали 30 мг аспирина в день или варфарин до достижения МНО 3,0—4,5. Было отмечено статистически значимое увеличение тяжелых кровотечений, связанных с варфарином; 27 внутримозговых, смертельных против 6 (0,9%) в случае аспирина (3 внутримозговых, ни одного летального в течение 14 месяцев).

С нашей точки зрения у родильниц с АФС и рецидивирующими тромбозами и/или ишемическими инсультами и/или ТИА в анамнезе показана длительная антикоагулянтная терапия варфарином после начального курса терапии НМГ. При этом МНО следует поддерживать в пределах 2,0—2,5. Возможно, меньший риск геморрагических осложнений у них может быть результатом того, что, как правило, это молодые женщины, чаще без коморбидных заболеваний (артериальная гипертензия, ИБС и пр.). В нашей практике мы не отмечали ни одного случая внутримозгового или экстракраниального кровотечения у беременных и родильниц на фоне терапии ОАК.

Что касается риска геморрагических осложнений антиагрегантов, то следует заметить, что частота спонтанных геморрагий чрезвычайно мала. Однако если аспирин применяется длительно перед хирургическим вмешательством или родами риск геморрагий значительно повышается, в особенности, если антиагреганты сочетаются с аспирином, НМГ или ОАК.

Таким образом, практический врач, в том числе акушер-гинеколог, прежде чем назначать антикоагулянтную терапию, должен тщательно оценить соотношение «польза-риск» и в процессе антикоагуляции регулярно осуществлять контроль эффективности и безопасности ее.

Может показаться парадоксальным и абсолютно нелогичным, на первый взгляд, обсуждение проблемы тромботических осложнений в контексте осложнений антикоагулянтной терапии, однако действительность, с которой сталкивались врачи еще 50 лет назад, лишь недавно получила научное объяснение. Речь идет о двух наиболее опасных (к счастью, редких) осложнениях гепаринотерапии и терапии оральными антикоагулянтами: гепарин-индуцированной тромбоцитопении и тромбозах и кумариновых тромботических осложнениях и некрозах кожи.

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения детально описана в главе XIV, а кумарин-индуцированные тромботические осложнения соответственно в главе VI.

Поскольку ГИТ является редким осложнением, возможно, практический врач никогда с ним не столкнется в своей практике. Однако если данное осложнение развивается, и на фоне гепаринотерапии совершенно неожиданно возникают тяжелые угрожающие жизни тромбозы или гангрена конечностей, забыть такое сложно. Поэтому хоть в соответствующей главе мы подробно излагаем вопросы, связанные с патогенезом, проявлениями и ведением пациентов с ГИТ, а также прин-

ципы профилактики ГИТ II, лишние будет сделать акценты специально для практического врача в главе осложнений антикоагулянтной терапии.

1. Профилактика и своевременная диагностика ГИТ II требует подсчета количества тромбоцитов до начала терапии и в процессе ее проведения наряду с выяснением анамнеза (аллергия к гепарину, ГИТ в анамнезе).

2. В случае развития ГИТ II необходима немедленная отмена препарата и назначение альтернативного антикоагулянта.

3. Учитывать, что в 80% случаев НМГ дают перекрестную реакцию с гепарином, а потому НМГ для лечения ГИТ II неприемлемы.

4. Клинические проявления ГИТ II могут быть разнообразны (табл. 105) и в ряде случаев требовать срочной хирургической операции.

Таблица 105.

Осложнения ГИТ II.

Венозные тромбозы	Артериальные тромбозы	Другие проявления
Тромбоз глубоких вен (ТГВ, 50%)	Аорто-подвздошный тромбоз (острая ишемия конечностей, 5—10%)	Гепарин-индуцированные повреждения кожи (~25% сенсibilизированных пациентов, получающих гепарин подкожно)
ТЭЛА (25%)	Острые ишемические церебро-васкулярные проявления (3—5%)	Острые системные реакции после внутривенного болюса гепарина (~25% сенсibilизированных пациентов, получающих в/в болюс)
Варфарин-индуцированная гангрена нижних конечностей (у 5—10% пациентов, леченных варфарином)	Инфаркт миокарда (3—5%)	Геморрагические инфаркты надпочечников (1—3%)
Редко: тромбозы мозговых синусов (23%)	Редко: тромбозы верхних конечностей, почечные, мезентериальные, спинальные и др. (<3%)	Редко: ДВС с гипофибриногенемией и множественными тромбозами (<3%)

Кумарин-индуцированные тромботические осложнения и некрозы кожи лучше известны практическим врачам, тем не менее, следует отметить следующие важные аспекты:

1. Чаще кумарин-индуцированные тромбозы и некрозы кожи возникают у пациентов с изначальными нарушениями в системе протеина С (дефицит протеина С, АФС, мутации FV Leiden, APC-R в III триместре беременности) вследствие более быстрого снижения уровня протеина С по сравнению с витамин К-зависимыми факторами свертывания под действием варфарина. Это объясняется более коротким временем его полувыведения (табл. 106).

Таблица 106.

Время полувыведения витамин К-зависимых факторов.

Фактор	Время полувыведения
Прокоагулянты	
Фактор II (протромбин)	60 ч.
Фактор X	40 ч.

Фактор	Время полувыведения
Фактор IX	24 ч.
Фактор VII	4—6 ч.
Антикоагулянты	
Протеин С	9 ч.
Протеин S	60 ч.

2. Частота возникновения осложнений выше при высоких нагрузочных дозах варфарина.
3. С целью профилактики тромбозов и кожных некрозов показано начало варфаринотерапии «прикрывать» гепарином или НМГ, пока не установится терапевтическое МНО.
4. Клинические проявления разнообразны:
 - периферические кумарин-индуцированные некрозы кожи (КИНК) — венозная гангрена конечностей (пальцы ног, рук, стопы, голени и пр.);
 - центральные кумарин-индуцированные некрозы кожи, чаще в участках с выраженной подкожно-жировой клетчаткой (молочные железы, ягодицы, бедра, реже передняя брюшная стенка, боковая область живота, лицо, пенис);
 - кумарин-ассоциированные синдромы «пурпуры конечностей» и холестериновой эмболии.

Проявления в форме «пурпурных» или «синюшных» пальцев стоп чаще возникают у пациентов с выраженным атеросклерозом. Этот синдром впервые был описан Feder и Auerbach. Они наблюдали у шести пациентов (мужчин) через 3—8 недель от начала терапии ОАК появление синюшно-багровой окраски стоп, особенно в области подошвенной поверхности и двух боковых пальцев. Другие клинические проявления включали боли и напряжение в области стоп, побледнение при умеренном надавливании в области кожного проявления и персистенцию проявлений, несмотря на отмену кумариновых производных. Единственным объяснением этому проявлению поражения кожи в условиях терапии ОАК ученые сочли холестериновую микроэмболизацию, хотя некоторые из пациентов не имели каких-либо других клинических проявлений синдрома «холестеринового эмболизма».

Классический синдром холестеринового (или атероматозного) эмболизма характеризуется другими периферическими ишемическими проявлениями (*livedo reticularis*, синюшность пальцев ног, фокальный некроз пальцев), а также нарушением функции почек.

Чаще синдром холестериновой эмболии возникает после недавнего хирургического вмешательства или инструментального повреждения сосудистой стенки (например, кардиохирургия, ангиография и пр.) либо в результате лизиса тромба в области атеросклеротической бляшки (например, после тромболитической терапии).

К другим кожным проявлениям ОАК относится экхимозная пурпура. У некоторых пациентов развиваются макулярные, папулярные, везикулярные или уртикарные повреждения, в основном, аллергической природы. Аллопеция также может быть проявлением побочных эффектов ОАК.

5. Важно подчеркнуть, что терапия данных осложнений ОАК подразумевает антикоагуляцию другими препаратами (гепарин, предпочтительнее НМГ). Возможно, наилучшим методом лечения будет введение концентрата протеина С.

Список литературы

1. Мухитдинова Т.К. Патогенез и профилактика коагулопатических кровотечений в родах. // Автореф. дисс... докт. мед. наук. — М., 1992, 43 с.
2. Просвирякова И.Г. Ведение беременности, родов и послеродового периода у женщин с тромботическими осложнениями в анамнезе. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. — М., 1988, 23 с.
3. Серов В.Н., Макацария А.Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. — М.: Медицина, 1987. — 288 с.
4. Сушкевич Т.Н., Ляско Л.И., Дроздовский Б.Я. Противотромботическая терапия в клинической практике. Новое в терапии, диагностике, лечении. — М., 1982.
5. Campbell N.R., Hull R.D., Brant R., et al. Aging and heparin-relation bleeding. // Arch. Intern. Med.Б 1996; 156: 857—860.
6. Cannegieter S.C., Rosendaal F.R., Wintzen A.R., et al. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. // N.Engl. J. Med.Б 1995; 333: 11—17.
7. Das S.K., Cohen A.T., Edmondson R.A., et al. Low-molecular-weight heparin versus warfarin for prevention of recurrent venous thromboembolism: a randomized trial. // World J. Surg., 1996; 20: 521—527.
8. Fihn S.D., McDonnell M., Martin D., et al. Risk factors for complications of chronic anticoagulation: a multi-center study. //Ann. Intern. Med. 1993; 118: 511—520.
9. Gallus A.S., Jackaman J., Tillett J., et al. Safety and efficacy of warfarin started early after submassive venous thrombosis or pulmonary embolism. // Lancet 1986; 2: 1293—1296.
10. Gullov A.L., Koefoed B.G., Petersen P, et al. Fixed minidose warfarin and aspirin alone and in combination vs. adjusted-dose warfarin for stroke prevention in atrial fibrillation: Second Copenhagen Atrial Fibrillation, Aspirin, and Anticoagulation Study. // Arch. Intern. Med., 1998; 158: 1513—1521.
11. Gullov A.L., Koefoed B.C., Petersen P. Bleeding during warfarin and aspirin therapy in patients with atrial fibrillation. // Arch. Int. Med., 1999; 159: 1322—1328.
12. Hull R., Detnore T., Genton E. Warfarin sodium versus low dose heparin in the long term treatment of venous thromboembolism. // N. Engl. J. Med. 1979; 301: 855—858,
13. Hull R., Hirsh J., Jay R., et al. Different intensities of oral anticoagulant therapy in the treatment of proximal-vein thrombosis. // N. Engl. J. Med. 1982; 307: 1676—1681.
14. Hylek E., Singer D.E. Risk factors for intracranial hemorrhage in outpatients taking warfarin. //Ann. Intern. Med.1994; 120: 897—902.
15. Jick H., Slone D., Borda I.T., et al. Efficacy and toxicity of heparin in relation to age and sex. // N. Engl. J. Med., 1968; 79: 284—286.
16. Kuijjer P.M., Hutten B.A., Prins M.H., Biiller M.R Prediction of the risk of bleeding during anticoagulant treatment for venous thromboembolism. // Arch. Intern. Med., 1999; 159: 457—460.
17. Landefeld C.S., Goldman L., Major bleeding in outpatients treated with warfarin: incidence and prediction by factors known at the start of outpatient therapy. // Am. J. Med., 1989; 87: 144—152.
18. Landefeld C.S., McGuire E., Rosenblatt M.W. A bleeding risk index for estimating the probability of major bleeding in hospitalization patients starting anticoagulant therapy. // Am. J. Med., 1990; 89; 569—578.

19. Levine M.N., Raskob G., Landefeld S., Kearon C. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. // *Chest*, 1998; 114: 5115—5235.
20. Lopaciuk S., Bielska-Falda H., Noszczyk W., et al. Low molecular weight heparin versus acenocoumarol in the secondary prophylaxis of deep vein thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 81: 26—31
21. Pengo V., Barbero F., Banzato A., et al. A comparison of a moderate with moderate-high intensity oral anticoagulant treatment in patients with mechanical heart valve prostheses. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 839—844.
22. Petitti D., Strom B., Melmon K. Duration of warfarin anticoagulation therapy and the probabilities of recurrent thromboembolism and hemorrhage. // *Am. J. Med.* 1986; 81: 255—259.
23. Pollard J.W., Hamilton M.J., Christensen N.A., et al. Problems association with long-term anticoagulant therapy. // *Circulation*, 1962; 25: 311—317.
24. Prandoni P., Lensing A.W., Buller M.R., et al. Comparison of subcutaneous low molecular weight heparin with intravenous standard in proximal deep vein thrombosis. // *Lancet*, 1992; 339: 441—445.
25. Research Committee of the British Thoracic Society. Optimum duration of anticoagulation for deep-vein thrombosis and pulmonary embolism. // *Lancet* 1992; 340: 873—876.
26. Salzman E.W., Deykin D., Shapiro R.M., et al. Management of heparin therapy. // *N. Engl. J. Med*, 1975; 292: 1046—1050.
27. Sethi G.K., Copeland J.G., Goldman S., et al. Implications of preoperative administration of aspirin in patients undergoing coronary artery bypass grafting. // *J Am. Coll. Cardiol.*, 1990; 15: 15—20.
28. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) HA Trial Investigators. Dose-ranging trial of enoxaparin for unstable angina: results of TIMI HA. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1997; 29: 1471—1482.
29. van der Meer F.J., Rosendaal F.R., Van Den Broucke J.P., et al, bleeding complications in oral anticoagulant therapy: an analysis of risk factors. // *Arch. Intern. Med*, 1993; 154: 1557—1562.
30. Warkentin T.E., Chong B.H., Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 1—7.
31. Weismann R.E., Tobin R.W. Arterial embolism occurring during systemic heparin therapy. // *Arch. Surg.*, 1958; 76: 219—227
32. While R.H., Beyth R., Zhou H., Romano P.S., Major bleeding after hospitalization for deep vein thrombosis. // *Am. J. Med*, 1999; 107: 414—424.
33. Yett H.S., Skillman J.J., Salzman E.W., The hazards of heparin plus aspirin. // *N. Engl. J. Med.*, 1978; 298: 1092.

Глава XIX. Беременность, тромбозы и противотромботическая терапия

История вопроса

Несмотря на то, что венозные тромбозы — не редкое заболевание, несколько неожиданным оказался тот факт, что хорошо документированного случая заболевания, которое бы соответствовало диагнозу венозного тромбоза (с современных позиций) нет в античных манускриптах. Венозный тромбоз не описывался ни Гиппократом, ни Галеном, ни Авиценной. Нет упоминаний о тромбозе и в Библии.

О том, кто впервые увидел тромб в кровеносном сосуде мы, вероятно никогда не узнаем: возможно, это были древние египтяне — «мумификаторы», которые считали, что ядовитые вещества всасываются из кишечника в кровь, в результате чего кровь сворачивается, образуя «твердые массы», которые затем нагнаиваются и являются причиной различных гнойных заболеваний. Возможно, древние исследователи уже могли видеть сгустки крови в сердце.

2000 лет назад считалось, что верхний отдел кишечника ответственен за переваривание пищи («персис»), а нижний отдел кишечника — за образование «ядовитых» веществ («сепсис»). Позже эта концепция легла в основу стандартных методов терапии — очистительные клизмы (т.н. «клизтиры») и слабительные.

Относительно недавно открытые амины, образующиеся в кишечнике (путресцин, кадаверин) в некоторой степени отражают эту идею. Более того, интересно отметить, что и одна из предложенных теорий раннего и позднего токсикоза у беременных предполагает «токсическую» их природу в результате попадания токсических продуктов обмена патогенной флоры кишечника в кровь.

Египтяне стремились «очистить» организм от вредных субстанций двумя путями — очистительной клизмой и кровопусканием.

Гиппократ считал, что в весеннее время года в организме человека присутствует большее количество крови, требующее кровопусканий.

Термин «лейкофлегмазия», впервые использованный Гиппократом для описания двустороннего отека ног, вряд ли можно считать описанием венозного тромбоза: скорее всего эти отеки были следствием сердечной недостаточности, цирроза печени или почечной недостаточности.

Весьма странно, что и в античных манускриптах врачей и исследователей Египта, Греции, Рима, Персии не ни единого упоминания о состоянии, отвечающем диагнозу «венозный тромбоз».

Первое хорошо документированное описание венозного тромбоза появилось в прекрасно иллюстрированном манускрипте 13-го века, хранящемся в Национальной библиотеке Парижа. В этом манускрипте описывается случай одностороннего тромбоза глубоких вен у молодого (двадцатилетнего) жителя Нормандии по имени Рауль. После того, как «опухоль», поражавшая его правое колено, распространилась на всю голень и бедро, на ноге стали появляться абсцессы. К счастью, недуг был «излечен» в течение 9 дней, проведенных в молитве. С точки зрения сегодняшней концепции тромбозов можно предположить, что у Рауля (уже в XIII веке) было тромбофилическое состояние. Анализируя этот случай с современных позиций,

возможно, имел место какой-то генетический дефект гемостаза, предрасполагающий к тромбозу, если учесть столь юный возраст, в котором манифестировал тромбоз. Учитывая, что в течение последующих 12 лет согласно манускрипту Рауль оставался в здравии, вряд ли можно расценить случай тромбоза как первое проявление злокачественного заболевания.

В начале XVI века появились концепции о возможности образования тромбов в сосудах и сердце, которые рассматривались в качестве причины серьезных патологических нарушений (концепция Морганьи).

В 1681 году Willis обнаруживал тромбы в полостях сердца. А в 1726 году Goetzius описал в своей диссертации тромбы как «полипоидные утолщения».

Внутрисердечные тромбы уже давно представляют большой интерес для врачей. В 1666 году Malpighi описал «полипы» сердца. Он полагал, что эти полипы представляют собой тромбы, отмытые от эритроцитов. Nuxham (1809) наблюдал за группой из 20 молодых мужчин, которые после работы в Восточной Индии в 1742 году начали страдать тяжелым астматическим кашлем. У трех из них он обнаружил «полипы монстры» в сердце. James Stewart (1817) выявил тромбы («полипы») в обоих желудочках у мужчины, скончавшемся в возрасте 30 лет. В связи с увеличенными размерами сердца врач предположил, что эти тромбы существовали там уже давно.

Eber и Shimmelbusch (1888) связали возникновение прижизненных тромбов с предположениями неизвестных исследователей 17 века о том, что тромбы возникают при избытке фибрина в крови. Однако в те времена перед исследователями возникали трудности в разграничении прижизненных тромбов и тромбов, возникших уже после смерти (Leichengerinsel).

Laennec (1823) полагал, что «глобулярные тромбы» (шаровидные тромбы) являются распространенными тромбами в сердце: чаще они представляют собой кисты. Burns (1809) заметил, что полипы левого желудочка часто сочетаются с кальцификацией коронарных артерий. Шаровидные тромбы, баллотирующие в левом предсердии, были впервые описаны William Wood в Эдинбурге в 1914 году. Организованные тромбы («тромбы на ножке» [Burns, 1809]) более характерны для левого предсердия.

Malpighi в своем 1666 докладе (Adelmann, 1966) описал разницу между прижизненными и посмертными тромбами. Queue (1735) и Burns (1809) считали, однако, что тромбы могут возникать только в течение жизни. Laennec (1823) полагал, что отличительной особенностью прижизненных тромбов является их прочная связь с сосудистой стенкой. Не подозревая о возможности существования эмболий, Burns описал больного с тромбом в левом предсердии и сгустком в легочной артерии. Corvisart (1806) выявил «бородавки» на клапанах сердца, возникшие, по его мнению, еще при жизни. Так как эти разрастания были похожи на генитальные венерические бородавочки, он назвал их «венерические разрастания». Laennec, однако, выразил сомнение в их венерическом происхождении. Hodgson (1815) описал разрастания в виде грибов. Bichat отметил небольшие «опухоли» на митральном клапане, а Rokitansky (1852, 1854) назвал их «глобулярными вегетациями». Hughes (1839), в свою очередь, предположил, что все эти клапанные тромбы являются следствием эндокардита.

Шаровидные тромбы встречаются достаточно редко. Они находятся обычно в предсердиях, где часто заполняют атриовентрикулярное отверстие. Подобные случаи описывал в свои трудах Ogle (1863), Legg (1878) and Recklinghausen (1885).

Огромный вклад в развитие теории тромбозов внесли J. Hunter, Рудольф Вирхов, J. K. Eberth, C. Schimmelbusch, W. Welch, K. Rokitansky, A. Trousseau, S. Wessler, не говоря уже о современных ученых конца XX начала XXI века, когда благодаря успехам молекулярной медицины, биохимии и биологии были открыты новые формы генетически обусловленной тромбофилии и расширены представления о молекулярных аспектах тромбообразования.

Джон Хантер (1728—1793)

Джон Хантер родился в Ланкашире, Шотландии, в 1728 году. Получив медицинское образование в Лондоне, он ушел в армию. С наступлением мира, Джон вернулся в Лондон и начал хирургическую практику. Он был известен как выдающийся лектор по анатомии и хирургии. Созданный им в своем большом доме биологический музей пользовался большой популярностью.

Начиная с 1760 года и заканчивая 1790 годом, Джон Хантер работал хирургом в Британской Армии. Постепенно он стал экспертом в области огнестрельных ранений, воспалительных процессов и кровеносной системы, что было отражено в его трудах, изданных в 1794 году и в дальнейшем переизданных в 1828 году. В своих исследованиях он не ограничивался ранеными, а также проводил и различные эксперименты на животных.

Джон Хантер был первым, кто описал воспаление стенки венозного сосуда — флебит — и его связь с тромбозом. В 1794 году он предположил, что если кровь, извлеченная из организма, необратимо сворачивается, то же самое может происходить и внутри кровеносных сосудов. Он определил, что только жидкая часть крови («коагулирующая лимфа») способна сворачиваться. Джон проводил эксперименты с кровью, извлекая ее из вены и, перенося в чашу, где она сворачивалась в течение 15—20 минут. Он пришел к выводу, что сосуды обладают неведомым свойством замедлять процесс свертывания крови. Им же было доказано, что добавление к крови соли Глаубера препятствовало тромбообразованию.

Хантером было предложено три теории, объясняющие, почему сворачивается кровь вне сосудистого русла. Первая из них гласила: «Кровь сворачивается при замерзании». Такой вывод сделал Хантер в связи с тем, что в его эксперименте у океанической рыбы при температуре 30 градусов по Фаренгейту кровь сворачивается быстрее, чем при повышении температуры. Вторая теория гласила: «Контакт с воздухом усиливает свертывание», так как кровь в чаше, находящаяся в вакууме, сворачивалась медленнее. Третья теория гласила: «Движение уменьшает интенсивность свертывания, а неподвижное состояние ускоряет его». Эти три гипотезы не объясняли, тем не менее, причины свертывания крови. Хантер отмечал, что лимфа сворачивается быстрее, когда она проходит через сосуды, вовлеченные в воспалительный процесс. Кроме того, тромб может нарушать проходимость сосуда, хотя эта проходимость и восстанавливается со временем. Хантер был убежден, что больному с воспалительным процессом необходимо проводить кровопускания, так как слишком много крови при воспалении нарушает нормальную циркуляцию.

Рудольф Вирхов (1821—1902)

Рудольф Вирхов родился в городе Шивельбейн, в Пруссии, 13 октября 1821 года. В 1843 году он закончил в Берлине Медицинский институт Фридриха-Вильгельма. В 1847 году вместе с Benno Reinhardt он начал работы над «Архивом по патологической анатомии, физиологии и клинической медицине». Его работа в области патологической анатомии особенно глубоко затронула проблему тромбоза. Он является автором таких терминов, как «тромб», «эмбол», «фибриноген». Менее известной является его деятельность как социального реформатора, организовавшего медицинскую политическую газету под названием «Медицинские реформы». С 1880 по 1893 год Вирхов заседал в Рейхстаге, где состоял в оппозиции к Бисмарку. Не менее интересными являются его антропологические и археологические исследования. Вирхов скончался 5 сентября 1902 года.

Вирхов является создателем доктрины эмболии, к которой он пришел через анатомические, экспериментальные и клинические исследования. Однако и до него ряд авторов предполагали о существовании эмболии, к ним относятся Bonetus, живший в 17 веке. Swieten — в 18 веке и Allibert и Francois — в 19 веке. В 1844 году при аутопсии молодого человека, умершего внезапно в госпитале Шаритэ в Бер-

лине, страдавшего ревматической лихорадкой, а также в последнее время испытывавшего сильную боль в области правого бедра, которая сопровождалась пульсацией и локальной гипертермией, Вирхов выявил в вене правой голени тромб, плотно прикрепленный к сосудистой стенке. В легочной артерии располагался сгусток крови. С этого момента Вирховым овладела идея о возможности легочной эмболии. В августе 1845 года им было произведено 76 аутопсий. В 18 из них были выявлены венозные тромбы, а в 11 случаях выделены эмболы в сосудах легких и сердца. Во всех случаях эмболии имел место венозный тромб.

Тромбозы в сосудах легких были хорошо изучены в начале 19 века. Traves (1821), Lee (1835), Baron (1838), Cruveithier (1852) не раз отмечали взаимосвязь между наличием тромбов в сосудах легких и периферических венах. Мало того, они уже усматривали причину наступления внезапной смерти в острой обструкции легочной артерии. Ими же было выявлено, что тромбы возникают не только у людей, но и, например, у лошадей, в том числе и в сердце. Некоторые исследователи были убеждены, что наличие тромбов более чем в одном сосуде являлось ни чем иным как генерализованной тенденцией к тромбообразованию (Hughes, 1839), следствием отравления (Rokitansky, 1854) или признаком системного заболевания (Humphry, 1859). Andrai и Gavarret (1840) объясняли склонность к тромбозам низкой концентрацией эритроцитов и повышенным содержанием фибриногена в крови. В 1844 году Paget указывал на то, что тромбы в легких являются первичными, однако, позже, он согласился, что венозные тромбы способны «мигрировать» в легкие (1866).

Одним из самых интересных моментов в патофизиологии венозного тромбоза является способность тромбов мигрировать. Однако не все эмболы проходят через артерии легких, некоторые из них могут проникать через овальное отверстие. Такие эмболы были названы «ретроградными» (Heller, 1870) или «парадоксальными» (Zahn, 1889).

Концепция Вирхова о тромбозе и эмболии была изложена в 1856 году в его труде «Gesammelte Abhandlungen». В нем было представлено описание клиники и аутопсии 94 случаев на 514 страницах. Было также приведено подробное изложение 49 экспериментов на животных. В этих экспериментах, в основном на собаках, Вирхов вводил в подключичную, яремную вены или сонную артерию различные вещества, включая человеческие тромбы и тромбы из крови собак, отмытые тромбы, частички золота и пр. Он стремился отграничить первичное свертывание от вторичного, а также прижизненное — от посмертного.

Вирхов искал причину остроты развития респираторных и неврологических расстройств при легочной эмболии. Он подвергал сомнению мнение о том, что всему причиной является обеднение кровью легких, так как проходимость бронхиальных артерий всегда сохранялась. Им была выдвинута мысль о влиянии блуждающего нерва, вызывающего развитие неврологических нарушений.

Позже выяснилось, что играет роль и размер тромба. Крупные тромбы приводили к внезапной смерти. Мелкие — вызывали атрофию части или доли легкого, пневмонию, гангрену или геморрагический инфаркт. Повторная эмболия мелкими тромбами способна была вызвать развитие хронического бронхита или астмы.

В своей монографии «Accumulated Treatise», Вирхов приводит множество причин развития артериального и венозного тромбозов. Основной из них он считает воспалительные изменения сосудистой стенки. Другими важными причинами, по его мнению, были нарушения тока крови и повышение ее вязкости. Вирхов выявлял тромбы в участках компрессии сосудов, или инвазии в них опухолевых клеток, а также при абсцессах, наложении лигатур и переломах со смещением. Одним из особенных видов «компрессионных» тромбозов, являлись тромбозы при флебитах после венесекций, когда вышедшая за пределы вены кровь сдавливала сосуд извне. Вирхов доказал, что дилатация сосуда также может приводить к развитию тромбоза, например, при аневризмах. Однако он сомневался, что в этом случае лишь замедление тока крови играет решающую роль.

Вирхов полагал, что субстратом для образования тромбов в венах могут являться венозные клапаны, в то время как в артериях такими субстратами являются атеросклеротические бляшки. В конечном итоге Вирхов пришел к выводу, что и изменения в самой крови способны приводить к развитию тромбоза. Эта идея была впервые выдвинута Cruveilhier (1852). Вирхов отмечал развитие тромбозов при различных заболеваниях, таких как сифилис, тиф, ревматизм, экзантема, болезни мозга. Им была выдвинута теория о «ферментах свертывания», то есть веществах, усиливающих свертывание крови. К тому моменту уже было показано, что при различных состояниях в крови повышается содержание фибрина. Следовательно, существуют такие вещества, которые приводят к подобному подъему. Так возник новый термин, созданный Вирховым — «фибриноген». Сейчас его значение не соответствует представлениям Вирхова. Он полагал, что в крови циркулирует предшественник фибрина, который активируется до «растворимого фибрина» или «фибриногена», образующего в конечном итоге фибриновый тромб. В его понимании фибриноген являлся «посредником» или «профибрином».

Гипотеза Вирхова о насыщенности крови кислородом и тромбозе была основана на ряде признаков, обычно наблюдаемых при тромбозах: кровь непосредственно соприкасается с воздухом (венесекция, ампутация, удаление опухоли); орган вступает в контакт с воздухом (рана, легкое, матка); эритроциты выделяют накапливаемый кислород (лигатура, компрессия); инородные поверхности способствуют выделению эритроцитами кислорода (повреждение эндотелия, инородные материалы, находящиеся в сосудах). Первый и третий факторы на его взгляд были менее важными.

Вирхов великолепно описал морфологию тромба, как макро-, так и микроскопическую его картину. Тромбы, по его мнению, состояли в основном из фибрина с различным содержанием эритроцитов, белых клеток крови и «частичек жира». Вирхов выделил три этапа в формировании тромба. Первый состоял в наслаивании слоев тромба один на другой. На втором этапе тромб уплотнялся за счет потери жидкости и ретракции. Третий этап состоял в пропитывании клетками гноя. Таким образом, возраст тромба можно было легко определить, однако, надо было иметь в виду, что развитие тромба зависит от степени обструкции сосуда и количества полиморфноядерных лейкоцитов крови.

После того как тромб пенетрирует стенку сосуда он становится «организованным». Старая часть тромба начинает размягчаться, а в центральной начинают образовываться каналы.

Триада Вирхова часто упоминается в современной литературе. Триаду составляют поврежденный кровеносный сосуд, замедление тока крови и нарушение свертываемости. Как таковую, триаду Вирхов не выдвигал, он просто обсуждал в деталях каждый из ее компонентов. По Вирхову артериальный тромбоз подразделяется на три различных этапа: экстенсивная обструкция артерии или артерий, локальная обструкция и ограниченный стенкой сосуда тромбоз. Третий тип обычно сопутствует атеросклеротическому поражению артерии, имеет место в области аневризм или артерий, проходящих через абсцесс. В свою очередь, тромбы на клапанах сердца являются следствием эндокардита. В случае если в зоне тромбоза отсутствовало поражение артерии, Вирхов считал, что причиной является повышенная свертываемость крови либо тромб является эмболом. При этом периферические тромбы являются более молодыми, и симптомы, связанные с ними, обычно развиваются внезапно.

Волновал Вирхова также и вопрос о связи онкологических заболеваний и тромбоза. Раковая опухоль часто поражает сосудистую стенку, однако тромбы обычно бывают достаточно удалены от места расположения опухоли.

Систематизируя тромботические состояния, Вирхов подразделил их на семь групп:

1. *«Марантические» тромбозы* — тромбозы, связанные с такими заболеваниями, как рак, туберкулез, послеоперационное состояние. Такие тромбы обычно располагаются в области верхних конечностей таза или синусов мозга. Хронический воспалительный процесс в сердце обычно сопровождается тромбообразованием на клапанах и в толще трабекул.
2. *Компрессионные тромбы* в артериях и венах являются следствием замедления тока крови или обструкции в результате прорастания опухоли, наличия абсцесса, лигатуры или перелома со смещением.
3. *Дилатационные тромбозы* возникают в месте аневризм, телеангиэктазий.
4. *Травматические тромбозы* бывают также двух типов — возникающие после веносекцией, в связи с «наружным тромбом», сдавливающим вену, и после ампутации, когда лигированная артерия подвергается процессам ретракции и контракции с образованием статического тромба: в случае перевязки вены, протяженность тромба достигает следующего клапана.
5. *Тромбозы новорожденных*. В случае инфицирования возможно возникновение тромбоза пупочных сосудов. Тромбы также могут формироваться и превращаться в эмболы в области овального отверстия.
6. *Тромбозы в послеродовом периоде*. В норме формирование тромбов в матке необходимо для предотвращения кровотечения. Патологические тромбы представлены двумя типами: одни представляют собой маточные тромбы значительных размеров. Другие располагаются вне матки, чаще в области нижних конечностей. Вирхов объясняет возникновение тромбов наличием препятствия оттоку венозной крови от нижних конечностей, представляющего собой беременную матку.

Первые отек нижних конечностей после родов описал С. White в 1784 году в своей публикации, где он указывал, что открыл это явление Boerhaave в 1709 году. В 1740 году Mauriceau выдвинул предположение, что отек может быть связан с рефлюксом лохий в вены ног. Puzo в 1759 году указывал на возможность накопления молока в ногах, особенно у некормящих женщин. Молочную теорию опровергнул Denman (1782), указывая на подобные симптомы и у кормящих женщин. Hunter (1828) полагал, что ноги являются депо молока.

С. White заметил, что отек ног у женщин возникает между 1 днем и 5 недель послеродового периода, обычно он приходится на 12—15 дни после родов и не связан с ревматизмом, флегмоной и анасаркой, а также лохиями и молоком.

По теории White, отеки ног были связаны с повреждением лимфатических сосудов в том месте, где голова ребенка прижимала их к костям таза. После родов происходило накопление лимфы. Для этого состояния он предложил термин — «phlegmasia alba dolens puerperarum». Одна из его пациенток скончалась от внезапного приступа астмы. Неизвестно, был ли это тромбоз или эмболия.

7. *Тромбозы при флебитах*. Вирхов полагал, что сосуды способны абсорбировать различные вещества и каким-то образом запускать свертывание.

Вирхов свел свою концепцию об эмболии тромба к функциональным и анатомическим нарушениям. Функциональные нарушения включали внезапную смерть, апоплексию, острый психоз, ангину (коронарных сосудов), диспноэ и острую параплегию. Среди анатомических расстройств он выделял некроз, размягчение, воспаление, геморрагию, гангрену и абсцедирование.

Несмотря на этиологическую связь гиперфибриногемии и тромбоза, не у всех больных с тромбозом уровень фибриногена в крови был повышен. Вирхов описал молодую женщину с обострением ревматизма, перитонитом, перикардитом и низким содержанием фибрина в крови. На аутопсии у нее был выявлен тромбоз вен голени и эмболия легочной артерии.

Вирхов не раз отмечал, что при тяжелых инфекционных заболеваниях свертывание крови заметно ухудшается, тромбы формируются медленно. Polii (1844)

полагал, что такие тромбы характеризуются «пониженной пластичностью». Вирхов называл такие сгустки «парафибрином».

Не все исследователи были согласны с работами Вирхова. Zahn (1872, 1875) не соглашался с делением тромбов Вирховым на красные, белые и смешанные. Вирхов считал, что красные тромбы сравнимы с *in vitro* тромбами, а белые тромбы в своей основе имеют такую же структуру, но их насыщаемость эритроцитами зависит от скорости тока крови. Zahn в свою очередь полагал, что образование белых тромбов обусловлено в большей мере лейкоцитами, чем процессом свертывания крови. Pitters поддержал идею Zahn, поскольку не обнаружил фибрина в белых сгустках (1876).

Споры вокруг триады Вирхова велись как до, так и после ее опубликования.

1. *Стаз* в области венозных клапанов считался ведущей причиной тромбозов среди таких исследователей, как Aschoffi (1892), Cruveilhier (1852), Laennec (1823), Eberth and Scheimmerbusch (1852) и др. Hayem сомневался, что стаз является единственной причиной.
2. *Нарушение свертывающей способности крови*. Veneke (1890) считал, что к тромбозу приводит «некроз крови». Rokitansky уделял больше внимания повышенному содержанию фибрина в крови. Glenard в свою очередь отстаивал теорию воздействия воздуха или кислорода, с которой спорили многие исследователи. Richardson выявил, что соединения аммония в крови препятствуют свертыванию. Согласно этой теории Humphry проводил терапию аммонийными соединениями у больных с тромбозами. Lister, однако, эту теорию и принципы терапии категорически не поддерживал. A. Wright и Кпарр (1903) выявили повышенное содержание кальция в крови больных тифом с тромботическими осложнениями. Им они рекомендовали использовать цитрат натрия. Такая терапия была эффективна и приводила к удлинению времени свертывания. В дальнейшем исследователи выдвинули предположение, что таким больным не рекомендован прием молока, так как оно богато кальцием.

В 1889 году Hayem описал эксперимент, который позже был (в 1953—1955 годах) описан и изучен Весслером. Hayem вводил сыворотку одной собаки в лигированную в двух местах яремную вену другой собаки сразу же или спустя 4 часа после лигирования. В обоих случаях между лигатурами сразу же формировались тромбы.

3. *Повреждение сосудистой стенки* — флебиты. По мнению Хантера, флебиты являлись основной причиной тромбозов. Hodson и Paget, а также представители французской школы (Corni, Ranvier, Vidal, Vaque и др.) полностью подтверждали эту теорию. Ribert (1916) считал, что без повреждения сосуда нет тромба. Однако возникало немало сомнений. Vichat (1825) описал тромбы в области аневризмы не воспалительного происхождения. Вирхов также сомневался, что флебит всегда предшествует тромбозу. И в наши дни термин «тромбозы глубоких вен» давно сменил термин тромбофлебит. По мнению Lee (1866), тромбы могут формироваться как в пораженных, так и в здоровых венах; внедряясь в сосудистую стенку, они способны вызвать развитие воспалительного процесса. На его взгляд невозможно отличить первичный флебит от вторичного. Микроскопическая картина вторичного флебита описана Koester (1875). Он также полагал, что тромбы в венах могут возникать и в отсутствие флебита. Humphry пошел дальше, чем Lee. Он утверждал, что в большинстве случаев флебиты вторичны по отношению к тромбозу. Cruveilhier предполагал наличие анатомических различий между первичным и вторичным флебитом. В случае если флебит предшествовал тромбозу, тромб адгезировался на стенке сосуда, однако тромбы, приводящие к стазу, не были адгезированы. Zurhelle (1910) указывал на то, что тромбоз является довольно частым яв-

лением при генерализованных инфекционных состояниях, однако он не присутствует при них постоянно. При этом тромбы могут находиться в непосредственной близости от пораженного участка или быть удаленными. Аналогичные дискуссии велись и по поводу артериитов.

Мысль о том, что кровь сворачивается внутри сосудистого русла в связи с ее температурой, движением и отсутствием контакта с воздухом устарела. Все больше и больше исследователей убеждалось в том, что к тромбозу ведут другие механизмы, а отсутствие патологического свертывания возникает, например, в связи с тем, что сосудистая стенка «отторгает» фибрин в норме и притягивает при патологии сосуда (Beale). Ряд исследователей считали, что при повреждении сосуда выделяет предрасполагающие к тромбообразованию факторы (Хантер, Andraé, Cruveilhier). С другой стороны, Dietrich (1921) предполагал, что интактная интима выделяет антитромбин. О наличии антитромбина утверждал также Baumgarten (1925) и другие исследователи (Gutschy, Nolf, Doyon).

Четвертый компонент. Aschoff (1924) добавил еще и четвертый компонент в триаду Вирхова. Он утверждал, что изменения в агглютинирующей способности клеток крови предшествуют и сопровождают формирование тромба. Кроме того, он считал, что укорочение времени свертывания крови не является обязательным условием возникновения тромбоза.

Белые тромбы

Наличие различных по цвету тромбов долгое время оставалось загадкой. Белые тромбы чаще обнаруживались в артериях. Под «белыми тромбами» подразумевали два абсолютно разных понятия. С одной стороны, белый тромб — это внутрисосудистый тромб, образовавшийся после оседания эритроцитов. С другой стороны, белый тромб состоит из мелких нерегулярных глыбок, собранных преимущественно тромбоцитами, они возникали в основном у определенной группы больных с антителами к гепарину при его введении.

Структура классического белого тромба была подробно описана Welsh (1887). Вирхов (1856) выдвигал предположение, что белые тромбы — это не что иное, как красные тромбы, но содержащие обесцвеченные эритроциты. Большинство исследователей полагало, однако, что белые тромбы — это отдельные структуры.

Zahn (1881), проводя эксперименты с повреждением стенок кровеносных сосудов, получал на стенках сосудов тромбы из белых кровяных клеток, окруженные фибрином. В дальнейшем он пришел к выводу, что окружающая субстанция представляла собой не фибрин, а вещества, выделяемые белыми клетками крови. По его мнению, белые тромбы представляли собой агрегаты из лейкоцитов, в свою очередь, красные тромбы — агрегаты из эритроцитов.

Pitres (1876) соглашался с положением о том, что белые тромбы состоят из белых клеток крови, однако, по его мнению, окружающей тромб субстанций все-таки был фибрин. Такого же мнения придерживались Weigert и Cornheim.

Lower (1897) пришел к выводу, что первым этапом свертывания крови является агрегация белых клеток крови. Baumgarten (1925) полагал, что ими могут быть как лейкоциты, так и тромбоциты.

Школой Александра Шмидта было доказано, что лейкоциты содержат субстанции, предрасполагающие к тромбообразованию. Следствием этого явилось убеждение Шмидта о том, что в создании белого тромба участвуют именно лейкоциты. Kohler (1877), ученик Шмидта, вызывал развитие тромбоза путем внутривенного введения свежей крови, не содержащей фибрина. Он связывал свертывание с ферментом фибрина (тромбином) в сыворотке крови, а также с фибринопластическими субстанциями, выделяемыми белыми клетками крови.

Противопоставление белых клеток крови тромбоцитам исчезло только после публикации работы Vizzozero.

Giulio Bizzozero (1846—1901)

Giulio Bizzozero родился 20 марта 1846 года в городе Varese, Lombardy, в Италии. Получив медицинское образование в городах Pavia, Zurich, он работал с Вирховым в Берлине. Свою первую работу, посвященную анатомическому строению кости, он опубликовал в 16 лет. В 1873 году он стал профессором патологии в Турине, а позднее и профессором гистологии. Его научные исследования касались, прежде всего, кровеносной системы, костной системы и также патологии лимфатических узлов. В 1882 году Bizzozero дает название тромбоцитам и описывает их вклад в процесс свертывания крови и развитие тромбов *in vivo*. Bizzozero скончался 8 апреля 1901 года в Турине.

Начиная с 1867 года и до самой смерти, Bizzozero посвятил свою жизнь изучению тромбоцитов и их роли в развитии тромбоза. Он также идентифицировал гигантские клетки в костном мозге в 1869 году, однако, не мог себе и представить, что именно они являются источниками эритроцитов.

Bizzozero обобщил все сообщения, касающиеся возникновения белых тромбов. Он изучал мезентериальные сосуды через микроскоп у живых кроликов и свиней. При этом он не видел непосредственно клеток крови, но при компрессии артериол его внимание было обращено на эритроциты, лейкоциты и элементы «другого рода». Эти элементы представляли собой мелкие, плоские, имеющие форму диска клетки. При извлечении крови из кровеносного сосуда, эти клетки быстро формировали группы из трех-четырех клеток. Клетки начинали «сжиматься» и образовывать выросты на своей поверхности. Небольшие агрегаты клеток начинали обволакиваться нитями фибрина с формированием тромбоцитарного тромба.

Многочисленные наблюдения привели к выводу о том, что тромбоциты являются независимыми клетками. Они не содержат ядер, но богаты различными гранулами. Во время агрегации гранулы концентрируются определенным образом, приводя к изменению светопроводимости тромбоцитов. Образованные выросты способствуют адгезии тромбоцитов друг с другом и к инородным поверхностям.

Bizzozero пришел к выводу, что тромбоциты состоят из трех основных компонентов: гранулярной части, прозрачного компонента и невидимой части, запускающей свертывание.

Роль тромбоцитов в коагуляции также объясняла причину отсутствия свертывания крови в сосудах и быстрое ее свертывание в пробирке. Bizzozero брал пробы крови у умершего животного до того момента, пока кровь не стала сворачиваться внутри организма животного. Посмертное тромбообразование происходит благодаря агглютинации тромбоцитов. Этот же процесс происходил и при перевязке сосуда у живого животного. С началом формирования тромба и изменений тромбоцитов все остальные клетки, в частности эритроциты и лейкоциты, остаются морфологически неактивными.

Bizzozero изучал тромбоциты как *in vivo*, так и *in vitro*. Он также мог индуцировать развитие белых тромбов. По его мнению, свертывание крови невозможно без участия тромбоцитов. Однако для него оставалось загадкой, для чего концентрация тромбоцитов в крови столь высока, если единственной их функцией является предотвращение потери крови. Одной из его версий было наличие каких либо жизненно важных функций тромбоцитов в отношении кровеносной системы.

George Hayem (1841—1935)

George Hayem родился 24 ноября 1841 года в Париже. В медицинский институт он поступил в 1861 году и вскоре его с успехом закончил. В 1876 году Hayem описал молодого человека, умершего после 15 лет продолжительных периодически возникающих кровотечений. Выделив на аутопсии большое количество тромбов в мелких сосудах, он диагностировал геморрагическую пурпуру.

Двумя годами позже, в 1878 году Нает выдвинул мысль о том, что в крови находятся элементы, намного меньшего размера, чем эритроциты и красные клетки крови. Он назвал их «гематобластами», так как полагал, что они не что иное, как предшественники эритроцитов. Он обнаружил, что гематобласты достаточно быстро меняют свою форму и способны адгезироваться на стекле и друг с другом, образуя глыбки. Он также нашел вещества, способные препятствовать образованию таких глыбок, тем самым, получив возможность подсчитать количество гематобластов. Одним из лучших средств оказалась осмиевая кислота. По подсчетам Нает количество гематобластов составило 225.000/мм в кубе.

Нает, наряду с Bizzozero, Eberth and Schlimmelbusch был одним из пионеров, идентифицировавших тромбоциты и изучавших их функции, включая образование гемостатической «пробки».

Важным этапом в понимании патофизиологии тромбообразования стала концепция Joseph Carl Eberth и его ученика Curt Schlimmelbusch, которые были изложены в классической монографии (1888) «Die Thrombose». В основу этой концепции были положены предыдущие представления о факторах тромбообразования Хантера, Вирхова и Цана. Эберт и Шлиммельбуш, признавая роль лейкоцитов в тромбообразовании, отводили важную роль тромбоцитам, и в частности, их морфологическим изменениям, характерным для этих «функциональных» клеток. Они подтвердили в своих исследованиях, что тромбоциты присутствуют в циркулирующей крови и отвечают за свертывание *in vitro*, а также за образование, как красного, так и белого тромбов *in vivo*: тромбоциты, независимо от эритроцитов и лейкоцитов, являются составляющими тромбов.

Они изучили феномен адгезии и агрегации тромбоцитов в эксперименте и пришли к выводу, что тромбоциты претерпевают морфологические изменения с образованием «псевдоподий», благодаря чему возможна «конглотинация» — агрегация тромбоцитарных масс.

Несмотря на это, Эберт и Шлиммельбуш достаточно скептически относились к предположению Нает и Bizzozero, согласно которому образование любого сгустка инициируют тромбоциты. Подобно Вирхову, Эберт и Шлиммельбуш считали, что тромбогенез обусловлен замедлением тока крови, повреждением сосудистой стенки и нарушениями крови (дискразия).

Они же ввели термин «гиалиновый» тромб для обозначения старых тромбов, содержащих фибрин. Карл Рокитанский (1852) описал дальнейшую эволюцию тромба (лизис, реканализация).

В контексте истории развития учения о тромбозе, нельзя обойти имя Армана Труссо (1801—1867). Арман Труссо родился 14 октября 1801 года в городе Туре, во Франции, где учился медицине и был лучшим учеником в Бретони. За время своей деятельности в должности профессора в Париже он приобрел репутацию выдающегося клинициста и преподавателя. Наряду с множеством открытых им симптомов, в клинической гемостазиологии его имя связывают с «феноменом Труссо» — тромбофлебитами («*phlegmasia alba dolens*») в связи со злокачественными новообразованиями: Труссо связывал этот симптом в основном с раком желудка или «висцеральной карциномой». По иронии судьбы, обнаружив у себя тромбофлебит левой ноги в 1867 году, он предопределил прогноз своего заболевания. Труссо умер 23 июня 1867 года от рака желудка.

В заключение хотелось бы отметить, что буквально шквал открытий в области клинической и лабораторной гемостазиологии в конце XX века и уже в XXI веке, произошед не только благодаря технологическому прогрессу и достижениям молекулярной биологии, биохимии, биофизики: фундамент тех знаний, которые накоплены в мире к сегодняшнему дню, был заложен выдающимися учеными предыдущих столетий, имена которых запечатлены в названиях многих симптомов, синдромов и болезней.

Факторы риска, клиника, диагностика и основные принципы профилактики и лечения тромбозов во время беременности

Артериальные и венозные тромбы, а также тромботические осложнения, являются одними из наиболее опасных для жизни осложнений различных заболеваний. Они продолжают оставаться в то же время и важнейшей причиной материнской заболеваемости и смертности. В экономически развитых странах, где последние 30 лет удалось снизить материнскую смертность от геморрагий, эклампсии и сепсиса, тромбоз легочной артерии на сегодняшний день — ведущая причина материнской смертности. По обобщенным данным мировой литературы частота тромботических осложнений во время беременности колеблется в пределах 2—5 на 1000 родов.

Беременность сама по себе является состоянием, в 5—6 раз увеличивающим риск венозных тромбозов, что связано с наличием таких предрасполагающих факторов, как тенденция к стазу в результате гормональных и механических причин, состояние физиологической гиперкоагуляции в результате повышения уровня факторов свертывания в крови (табл. 107). Таким образом, физиологической беременности практически присуща «триада» Вирхова, предрасполагающая при неблагоприятных условиях к развитию тромбозов и тромбозов. При осложненном течении беременности, родов и послеродового периода степень выраженности триады Вирхова возрастает. Так, у беременных и родильниц с экстрагенитальной патологией (ревматические пороки сердца, оперированное сердце, искусственные клапаны сердца, заболевания почек, гипертония, гнойно-септические заболевания и пр.), а также у беременных с гестозом и родильниц с послеродовыми гнойно-септическими заболеваниями возникает синдром ДВС, который определяет основной патологический фактор риска возникновения тромбозов.

Таблица 107.

Уровни прокоагулянтных факторов во время нормальной беременности.

Фактор свертывания	Небеременные	Поздние сроки беременности
Фибриноген	2—4 г/л	4,0—6,5 г/л
Протромбин	70—120%	100—120%
Фактор V	70—120%	100—150%
Фактор VII	70—120%	150—250%
Фактор VIII	70—150%	200—500%
Фактор IX	70—120%	100—150%
Фактор X	70—120%	150—250%
Фактор XI	70—120%	50—100%
Фактор XII	70—120%	100—200%
Фактор XIII	70—120%	35—75%

Важнейшая роль в возникновении артериальных и венозных тромбозов, а также тромбозов принадлежит приобретенным и генетически обусловленным причинам тромбофилии, к которым относятся антифосфолипидный синдром (АФС) и генетические мутации факторов свертывания или генетически обусловленные дефициты ингибиторов свертывания: мутация фактора V Leiden, мутация протромбина, дефициты AT III, протеина C, S и пр. (см. главу II). Риск тромботических осложнений во время беременности при предсуществующей тромбофилии повышается в десятки и сотни раз.

Основными факторами риска развития тромбозов в акушерской практике являются:

1. Оперативное вмешательство (кесарево сечение, операции на беременной матке, наложение акушерских щипцов).
2. Осложненное течение беременности, родов и послеродового периода, обусловленное заболеваниями, протекающими с синдромом ДВС: а) ревматические пороки сердца; застойная сердечная недостаточность; искусственные клапаны сердца; б) заболевания почек, артериальная гипертензия; в) гестоз; г) гнойно-септические заболевания.
3. Возраст беременных старше 35 лет, а также многорожавшие.
4. Ожирение.
5. Длительные госпитализация и иммобилизация (например, при длительном токолизе).
6. Подавление лактации с применением эстрогенов.
7. Тромбоз глубоких вен или тромбозомболия в анамнезе (в том числе в связи с беременностью или приемом оральных контрацептивов).
8. АФС.
9. Генетически обусловленная тромбофилия.

Метод родоразрешения также является важным фактором, так, согласно обобщенным данным мировой литературы, частота симптоматичного ТГВ после родов через естественные родовые пути составляет в среднем 0,08%—1,2%, после кесарева сечения возрастает до 2,2%—3,0%. При этом экстренное кесарево сечение в большей степени увеличивает риск тромботических осложнений.

Группу высокого риска по развитию тромбозов составляют беременные с эпизодами тромбозов или тромбозов в предыдущую беременность, беременные с мультигенными формами наследственной тромбофилии (при сочетании нескольких генетических нарушений), приобретенной формы тромбофилии (АФС и пр.), а также с комбинированными формами тромбофилии (АФС + генетика).

Особо следует подчеркнуть, что если в предыдущую беременность у женщины с тромбофилией не было манифестирующего тромбоза, это не исключает риск его развития в последующую беременность. При этом риск венозного тромбоза (ВТЭ) часто зависит от типа тромбофилии и наличия дополнительных факторов риска. Наиболее «тромбогенным» среди генетических дефектов гемостаза является дефицит антитромбина III. Частота дефицита АТ III в общей популяции колеблется от 0,02% до 0,17% и выше у пациентов с ВТЭ (1,1%). Риск тромбоза у беременных с дефицитом АТ III, не получающих антикоагулянтную терапию, составляет почти 50%.

Нарушения в системах протеина С и протеина S встречаются в среднем у 0,14—0,5% в общей популяции и у 3,2% пациентов с тромбозами. Риск развития тромбоза во время беременности составляет от 3% до 10% для пациенток с дефицитом протеина С и 0%—6% для пациенток с дефицитом протеина S, что значительно меньше, чем у пациенток с дефицитом АТ III. В послеродовом же периоде риск тромбозов повышается до 7%—19% для пациенток с дефицитом протеина С и 7%—22% для пациенток с дефицитом протеина S. В этой связи хотелось бы заметить, что если антигенный и функциональный уровень протеина С во время беременности остаются практически без изменений, то уровень протеина S значительно снижается (свободный или функциональный протеин S). Уровень протеина S часто снижается на 25% у здоровых беременных в I триместре, на 60% — во II триместре и на 83%—100% — в третьем. Следовательно, если имеются подозрения на наследственный дефицит протеина S во время беременности, относительно достоверные результаты об его уровне можно получить только при исследовании в течение первого месяца беременности. Одним из альтернативных вариантов может быть обследование родителей пациентки на предмет дефицита протеина S.

Резистентность к активированному протеину С (APC-R) встречается в среднем у 3%—7% населения кавказской (европейской) расы и у 20%—30% пациентов с тромбозами. В большинстве случаев причиной APC-R является мутация FV Leiden, однако следует отметить, что феномен APC-R может иметь место и при других мутациях FV (FV Hong-Kong, FV Cambridge; HR11-гаплотип), а также в условиях циркуляции АФА и, что немаловажно, может сопровождать физиологическое течение беременности в отсутствие генетических форм тромбофилии или АФА. APC-R, по данным Hallak M. et al., обнаруживается у 78% женщин, перенесших венозный тромбоз во время беременности, в то же время генотип FV Leiden — лишь в 46% случаев.

Недавние исследования Gerhardt et al. по тромбофилии показали превалирование у женщин с эпизодами ВТЭ во время беременности мутации FV Leiden (43,7%), в то время как в контрольной группе эта мутация была обнаружена только у 7,7%. Мутация протромбина G20210A была выявлена у 16,9% женщин с ВТЭ по сравнению с 1,3% в контрольной группе. Частота комбинированных дефектов (сочетание FV Leiden+FIIIG20210A) составила 9,3%, в то время как в контрольной группе — 0%. Наличие одновременно двух мутаций и более повышает риск развития тромбоза почти в 100 раз. Наличие таких дополнительных факторов риска как дефицит АТ III, протеина С или протеина S было выявлено у 25% женщин с ВТЭ в анамнезе (по сравнению с 11% в контрольной группе).

Весьма интересны более поздние исследования Hunt et al., которые исследовали риск развития тромбозов во время беременности у «асимптоматических» женщин с мутацией FV Leiden. Были обследованы 43 женщины из «симптоматических» семей. Тромбоз во время беременности развился у 14%, при этом было сделано заключение, что риск развития тромбозов выше в послеродовом периоде.

McColi et al. определили риск развития ВТЭ во время беременности как 1:437 для FV Leiden, 1:113 для дефицита протеина С, 1:28 для дефицита (количественного) АТ III (тип I) и 1:42 для функционального (тип II) дефицита АТ III.

Как уже указывалось, состояние APC-R во время беременности может быть обусловлено не только мутацией FV Leiden, но и другими генетическими дефектами молекулы FV, а также циркуляцией АФА. Приобретенная APC-R также может возникать в отсутствие каких-либо генетических дефектов FV или АФА, во II—III триместрах беременности в результате значительного повышения уровней FV и FVIII и снижения уровня протеина S, играющего, как известно, важную роль в антикоагулянтном пути протеина С. Точный механизм такой «физиологической» APC-R еще не полностью известен, однако следует отметить, что риск как ВТЭ, так и акушерских осложнений, повышается.

Мутация протромбина G20210A (PtG20210A) ассоциируется с повышением уровня протромбина (активность FII достигает 130% и выше) и присутствует у 2—5% здорового населения. Эта мутация в среднем в 3 раза повышает риск ВТЭ. Риск ВТЭ во время беременности (прежде всего осложненного течения гестационного процесса) и при приеме оральных контрацептивов значительно выше. Gerhardt et al. в своих исследованиях показали, что как мутация FV Leiden, так и мутация протромбина G20210A являются самостоятельными факторами риска ВТЭ во время беременности и в пуэрперии. При сочетании же этих двух мутаций риск становится непропорционально более высоким, чем при наличии одного из этих факторов. Так, согласно предварительным данным, в западной популяции при наличии мутации FV Leiden риск ВТЭ во время беременности составляет 1:500, для мутации PtG20210A 1:200, при сочетании же этих двух мутаций — 4,6:100!

Гипергомоцистеинемия часто является результатом гомозиготной мутации MTHFR C677T и встречается в среднем у 8—20% здорового населения. При физиологическом течении беременности уровень гомоцистеина, как правило, снижается. Хотя до сих пор механизм такого снижения не ясен, с нашей точки зрения этот феномен сродни снижению уровня гомоцистеина на фоне ЗГТ: повышение уровня естественных эстрогенов как во время беременности, так и ЗГТ, возможно, явля-

ется причиной снижения уровня гомоцистеина. Хотя ряд исследователей не считают мутацию MTHFR C677T фактором повышенного риска ВТЭ во время беременности, следует отметить, что эти исследователи изучали риск тромбозов при MTHFR C677T у женщин экономически развитых западных стран, где беременные уже с ранних сроков беременности получают фолиевую кислоту в качестве витаминной добавки, что способствует, в свою очередь, снижению уровня гомоцистеина. Здесь следует акцентировать также внимание на характере питания и в целом, образе жизни. Наши данные свидетельствуют о повышении риска не только гестозов и синдрома потери плода, ПОНРП, но и ВТЭ. Прежде всего, мы связываем такие разноречивые данные с более высокой морбидностью нашего населения, отсутствием концепции «здорового образа жизни» и, соответственно, дефицитом в пищевом рационе необходимых витаминов, антиоксидантов и, в первую очередь, непосредственно фолиевой кислоты.

Нами было обследовано 29 беременных в возрасте 25—39 лет с рецидивирующими тромбозами (у 21 — ТГВ, у 2 — нарушение мозгового кровообращения ишемического характера, у 1 — инфаркт миокарда, у 5 — ТЭЛА, у 1 — мезентериальный тромбоз в анамнезе) (табл. 108).

Таблица 108.

Беременные с рецидивирующими тромбозами в анамнезе.

Методы диагностики	Пациентки
PCR	29 беременных женщин (возраст 25—39 лет) с повторными прерываниями беременности в анамнезе и эпизодами тромбозов в виде: <ul style="list-style-type: none"> — рецидивирующих ТГВ (21) — нарушений мозгового кровообращения (2) — инфарктов миокарда (1) — мезентериальных тромбозов (2) — легочной тромбоэмболии (5)
AT III (ELISA, STAGO, France)	
Протеин С (STAGO, France)	
Маркеры тромбофилии: <ul style="list-style-type: none"> — ТАТ (BehringWerke, Germany) — ПДФ (BehringWerke, Germany) — Д-димер (STAGO, France) 	
Тесты активации тромбоцитов (Chronolog, France) <ul style="list-style-type: none"> — индукторы: АДФ, коллаген, арахидоновая кислота и др. 	Терапия: <ul style="list-style-type: none"> — НМГ

Обращало на себя внимание и отягощенное течение гестационного процесса у этих женщин: так, у 65% пациенток в анамнезе привычное невынашивание беременности, у 14% — ПОНРП, у 34% — гестоз, у 3% — АГП, у 72% — ЗВРП (рис. 102).

Учитывая тромботический анамнез, нами было проведено исследование на предмет генетических форм тромбофилии и/или циркуляции АФА.

Анализ причин рецидивирующих тромбозов в анамнезе показал превалирование генетических и комбинированных форм тромбофилии: мутация FV Leiden — у 41% пациенток, АФА — у 14%, комбинированные дефекты — у 27% пациенток (рис. 103).

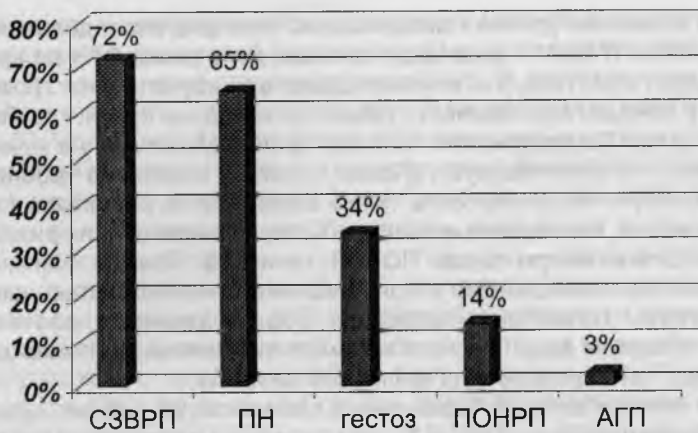


Рис. 102. Акушерский анамнез у беременных с тромбофилией в анамнезе.

Здесь хотелось бы отметить, что все пациентки с личным или семейным анамнезом еще до планирования беременности (в крайнем случае, как можно раньше во время беременности) должны скринироваться на генетическую тромбофилию или приобретенную (АФА) и получать противотромботическую профилактику, как в фертильном цикле, так и в течение гестационного процесса.

В мировой практике существует два подхода к ведению беременных с тромбозами в анамнезе — активная профилактика гепарином или НМГ и клиническое динамическое наблюдение. Мы стоим на позиции активной антикоагулянтной профилактики у беременных с тромбозами в анамнезе, тем более, если присутствуют дополнительные факторы риска, такие как рвота, ожирение, иммобилизация, хирургическое вмешательство или имеют место гестоз или другие конкурентные патологические состояния, связанные с тромбозом, как-то нефротический синдром, сахарный диабет, воспалительные заболевания кишечника, инфекция (в том числе хламидийная, герпес-вирусная) и пр. Вторым важным аргументом в пользу анти-тромботической профилактики во время беременности является влияние на перинатальные факторы. Известно, что тромбофилия является одним из основных факторов таких осложнений беременности, как гестоз, ЗВРП, АГП, ПОНРП, преждевременные роды и рождение маловесных детей.

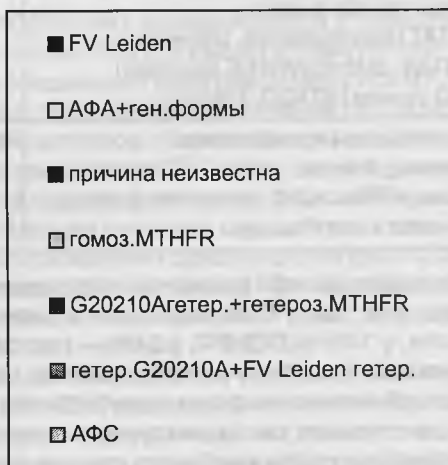
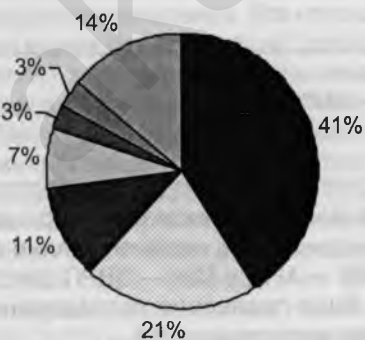


Рис. 103. Причины рецидивирующих тромбозов во время беременности.

В нашем исследовании все пациентки с начала беременности получали низкомолекулярный гепарин фраксипарин в дозе 150 ICU/кг 1 раз в сутки подкожно в течение всей беременности и в пуэрперии в течение 10 дней с дальнейшим переходом на варфарин (МНО 2,0—3,0) в течение 6 недель послеродового периода.

Эффективность вторичной профилактики оценивалась с помощью молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ, ПДФ (X-Y-фрагменты), Д-димера. Характерно, что снижение уровня комплексов ТАТ и ПДФ обнаруживалось уже на 1-й день терапии фраксипарином (рис. 104).

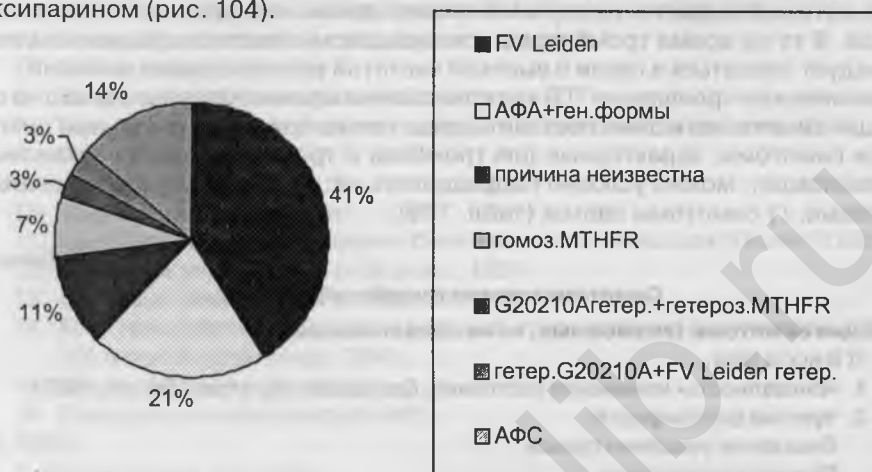


Рис. 104. Изменение уровня маркеров тромбофилии у беременных с тромбозами в анамнезе на фоне терапии фраксипарином.

Все беременные родили в срок. У 4 беременных было проведено кесарево сечение по акушерским показаниям. У 2 беременных в III триместре появились признаки легкой формы гестоза, что, однако, не стало причиной досрочного родоразрешения. Не было ни одного случая тромбоза или ТЭЛА, равно как и геморрагических осложнений.

Хотя долгое время считалось, что тромбозы и тромбоэмболические осложнения более характерны для послеродового периода, согласно последним данным, частота их почти одинаковая в антепартальном и постпартальном периодах. Согласно данным Rutherford S. et al, среди 170 беременных без тромбоэмболических проявлений, 75% тромбозов глубоких вен (ТГВ) развились ante partum, и 50% из них — с 15 недель беременности. В то же время риск возникновения ТЭЛА в послеоперационном периоде (после кесарева сечения) наиболее высок в первые 4—8 часов.

Относительно риска тромбоэмболических осложнений следует признать, что приобретенные факторы риска так же серьезны, как и генетические. Скринирование на наследственную и приобретенную тромбофилию должно четко ограничиваться женщинами с персональной или семейной историей тромбозов, с рано начавшимся и повторным гестозом, повторными потерями плода и мертворождениями. Последнее понятно, учитывая роль тромбофилии в патогенезе этих акушерских осложнений (см. главу II).

Однако, к сожалению, скрининг на приобретенную и, тем более, наследственную тромбофилию не всегда возможен, поскольку это требует наличия специализированной лаборатории, а с другой стороны, в редких случаях, возможно развитие тромбоэмболических осложнений и у беременных, которые не входили в группу риска по тромбоэмболическим осложнениям. В таких ситуациях для своевременного предупреждения и лечения тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА) необходима ранняя диагностика, а также знание клинических проявлений тромбо-

зов, являющихся в большинстве случаев источником ТЭЛА, а также клинической симптоматики непосредственно ТЭЛА.

Следует отметить, что существуют некоторые отличия в течение тромбозов во время беременности и в послеродовом (послеоперационном) периоде. Так, тромбозы беременных обладают склонностью к затяжному течению, вероятно, из-за постоянного присутствия факторов риска тромбоза, в то время как в послеродовом периоде они могут лизироваться в течение нескольких дней. Половина тромбозов беременных рецидивирует в послеродовом периоде. Эмболии во время беременности наблюдаются реже, чем в послеродовом периоде, однако летальность их выше. В то же время тромбозов в послеродовом и послеоперационном периодах следует опасаться в связи с высокой частотой возникновения эмболий.

Клинические проявления ТГВ многочисленны и разнообразны, однако на основе общих симптомов можно поставить чаще только предположительный диагноз.

Все симптомы, характерные для тромбоза и тромбоемболии, независимо от их локализации, можно условно подразделить на: а) общие; б) функциональные; в) болевые; г) симптомы застоя (табл. 109).

Таблица 109.

Симптоматология тромбоемболизма.

I. Общие симптомы (возможные, но не обязательные).

А. ТГВ ног и таза.

1. «Внезапность» изменения состояния, беспокойство, страх (Scherf, 1937)
2. Чувство дискомфорта.
Внезапное учащение пульса.
Подъем температуры.
Бледность, нарушения психики.
Холодный пот.
Головокружение, обморок.
Апатия.
Страх смерти.
«Вагусная» гипертония (Schwiegh, 1935).
Падение артериального давления
Коллапс.
Остановка сердца.

Б. ТЭЛА.

1. Недомогание, беспокойство (Heidemann, 1901)
2. «Скачущий» пульс (Mahler, 1895)
3. Подъем температуры (Michaelis, 1911)
4. Лихорадка (двугорбый тип) (Koller, 1954)
5. Озноб (Conner, 1913)
6. Высокий пульс (Merz, 1954)

II. Функциональные симптомы.

А. ТГВ ног и таза.

1. Субилеус, илеус (Ducuing, 1929)
2. Симптомы раздражения брюшины (перитонеальные симптомы)
3. Метеоризм, обстипация (Lyboss, 1924)
4. Локальное повышение температуры кожи в области флебита
5. Исчезновение рефлексов mm. Erectores pilorum при пробе с холодной водой.
6. Нарушение вегетативной регуляции, влажная кожа.
7. Спазмы артериальных сосудов, холодная кожа (Dabasse, 1910)
8. Повышение венозного давления (Burch, 1943)
9. Повышение свода стопы (Konig, Ipsen, 1931)

Б. ТЭЛА

1. Кашель.
2. Одностороннее ослабление дыхания.

3. Ослабление дыхательных шумов.
4. Шум трения плевры (25%)
5. Инфильтраты в легких.
6. Выпот в плевральную полость (50%)

III. Болевые симптомы.

А. ТГВ ног и таза.

1. Боли в боках.
2. Боли при пальпации матки и при ее смещении (при влагалищном осмотре).
3. Боли в прямой кишке, геморроидальные боли.
4. Боли в области половых губ, мочевого пузыря.
5. Боли в паху.
6. Боли в аддукторном канале (Guilhem)
7. Боли при наложении манжеты на бедро (150 мм рт ст) (Lodenberg, 1954)
8. Парестезии.
9. «Тяжесть» в ногах.
10. Боли в подколенной ямке.
11. Мышечные судороги, «рвущие» боли в икроножных мышцах (Fischer, 1952)
12. 3 болевые точки Meyer'a (v.tib.post.), 1939
13. 5 болевых точек Putzer'a (v.tib.post.), 1939
14. Боли при наложении манжеты в нижней трети голени с нагнетением давления 150 мм рт ст (Lodenberg, 1954)
15. Боли в подошве ноги.
16. Боли при движениях пальцев ног.

Б. ТЭЛА

1. Боли в плечах, ключицах.
2. Боли в лопатках.
3. Боли при дыхании.
4. Колющие боли в груди.
5. Загрудинные боли.
6. Иррадиация болей в область сердца.

IV. Застойные симптомы.

А. ТГВ ног и таза.

1. Отеки в области поясницы.
2. «Уплотнение» консистенции параметриев при ректо-вагинальном исследовании (Jeannin, 1912)
3. «Уплотнение» консистенции прямой кишки (Niinnberger, 1934)
4. Отек половых губ (Guilhem)
5. Отек бедер.
6. Цианотичная окраска кожи (Sperling, 1893)
7. Выраженный рисунок поверхностных вен (Pratt, 1950)
8. Гидрартроз (Bridnean)
9. «Блестящая» кожа вдоль тибиальной кости (Tschmarke)
10. Отек голеней.
11. Уплотнение тканей (Tschmarke)
12. «Баллотирование» икр.
13. Боли в икрах.
14. Отеки в области щиколоток.
15. Отеки тыла стопы.
16. «Голубоватый» оттенок ногтей пальцев ног.

Б. ТЭЛА.

1. Субиктеричность склер глаз (поздний симптом)
2. Кровохарканье.
3. Цианоз.
4. Диспноэ.
5. Тахипноэ.

6. Акцент II тона над легочной артерией.

7. Острое «Cor pulmonale» на ЭКГ.

Учитывая, что в послеродовом периоде в условиях нормы вегетативная симптоматика протекает в виде упорядоченной реакции восстановления, то любое отклонение в этом процессе может быть признаком патологической нагрузки, в том числе и тромбоза.

Так, существуют классические вегетативные общие симптомы тромбоза — это субъективное ощущение болезни, плохого самочувствия, беспокойства, неровный высокий пульс. Особенно типична «двугорбая» постпартальная температурная реакция: после падения повышенной температуры, обусловленной родами, наступает отчетливо выраженный второй подъем температуры, вызванный тромбозом.

На наличие внутрисосудистых тромбов могут указывать функциональные симптомы, возникающие в случаях, когда органы в области тромботических событий вследствие коллатеральных рефлексов больше не функционируют нормально.

Так, при тромбозе тазовых вен не редкой находкой являются субилеус, перитонизм, обстипация, метеоризм, задержка мочи, остаточная моча.

Тромбозы вен нижних конечностей (ног) вызывают локальное повышение температуры кожи в области флебита, исчезновение рефлексов (*Mm errectores pilorum* при пробе с холодной водой), а также вегетативные нарушения регуляции, такие как влажная кожа (чаще в области голени); спазмы артериальных сосудов (и локально, как следствие — холодная кожа), характерны повышенная температура свода стопы и, естественно, повышенное венозное давление.

Болевые симптомы возникают в случае, если наличие тромба в качестве инородного (альтертирующего) тела ведет к реактивному флебиту. Боль в боках, боли в области матки при пальпации и при смещении во время влагалищного исследования наблюдаются при тромбозах тазовых вен. Характерны также геморроидальные боли, а также боли в области прямой кишки, половых губ, мочевого пузыря и в паху.

Боль вдоль вен нижних конечностей — явный признак тромбофлебита: это и боли в канале аддукторов, боли при наложении манжеты с нагнетанием давления до 150 мм рт. ст. на нижнюю треть бедра и дистальную часть голени, ощущение «ползанья мурашек по коже» — парестезии; ощущение тяжести в ногах, боли в подколеннике, рвущие боли и мышечные судороги (чаще в области голени), 3 болевые точки Мейера (вдоль медиальной поверхности голени) и 5 болевых точек Путцера (вдоль *v. Tibialis posterior*), появление боли в икроножных мышцах при тыльном сгибании стопы (симптом Хоманса).

Также могут присутствовать боли при надавливании на сухожилие стопы, боли в подошве ноги и при движении пальцев ног.

Вообще следует отметить, что если появилась боль, можно предположить начало организации тромба. Внезапное усиление или рецидив болей и отека являются весьма настораживающим признаком, так как рецидивы тромбоза из-за полной облитерации венозных сосудов могут привести как к некрозам стопы, так и эмболии, в том числе фатальной.

Застойные симптомы — типичные поздние явления. Они являются показателем облитерации всех венозных оттоков. Отек боков, половых губ, бедер, в паховой области, а также уплотнение параметриев, стенки прямой кишки являются следствием тромбоза тазовых вен.

Отек бедра, цианотическая окраска кожи, выступание поверхностных вен, блестящая кожа над тibiей, отек голени и усиленный венозный рисунок на икрах встречаются при тромбозе вен нижних конечностей. Другими проявлениями этого процесса могут быть гидрартроз, уплотнение тканей ног, пассивная подвижность икры и боли в ней, отеки щиколотки, тыла стопы, а также голубоватый оттенок ногтей на ногах.

Как уже указывалось, тромбоемболия в результате отрыва венозного тромба ведет к обструкции (полной или частичной) легочных артерий с развитием гемоди-

намических и респираторных расстройств, появлению неперфузируемого в результате обструкции участка легкого с формированием «мертвого пространства» и артериальной гипоксемии.

При тромбозе сосудов крупного калибра развивается гипертензия в малом круге кровообращения (в результате уменьшения емкости легочного артериального русла) и острая правосторонняя недостаточность. Существенную роль при этом играет вазоконстрикция, обусловленная выбросом биологически активных веществ (тромбоксана, серотонина, гистамина) в результате рефлекторных реакций со стороны клеток крови (тромбоциты, тучные клетки и пр.).

Наиболее тяжело протекает ТЭЛА у беременных с заболеваниями сердца и легких, при застойной сердечной недостаточности. В таких случаях наиболее часто развивается инфаркт легкого. У подавляющего большинства выживших больных легочный тромбоз подвергается лизису благодаря эндогенной системе фибринолиза и, конечно, антитромботической терапии. Результатом этого процесса является отсутствие симптомов и значительных осложнений. У меньшинства пациентов лизис не происходит и эмбол подвергается фиброваскулярной организации, что вызывает нарушение тока крови в легких. Результатом этого может стать состояние, известное как хроническая легочная тромбоземболическая гипертензия (ХЛТГ). У таких больных развиваются симптомы прогрессирующей правожелудочковой недостаточности и гипоксия. Следует отметить, что в прошлом больные с ХЛТГ получали лишь терапию по поводу вторичной легочной гипертензии и имели плохой прогноз. В настоящее время ХЛТГ поддается хирургическому лечению — тромбэндартериектомии, давая больным хороший шанс на выживание.

Клинические проявления ТЭЛА

При тромбозе легочной артерии также можно выделить общие, функциональные, болевые и застойные симптомы.

Основными клиническими проявлениями ТЭЛА являются:

1. Одышка (чаще инспираторная), громкий звук на выдохе.
2. Сухой кашель.
3. Возбуждение вплоть до реактивного состояния может сменяться апатией.
4. Боли в грудной клетке.
5. Возможно кровохарканье.
6. Возможен глубокий обморок.
7. Чувство «страха смерти».
8. Цианоз губ.
9. Тахипноэ.
10. Тахикардия.
11. Аускультативно хрипы в легких.
12. Лихорадка.
13. Потливость

Возникновение ТЭЛА сопровождается такими общими симптомами как внезапное изменение общего состояния, беспокойство, страх смерти, чувство стеснения в груди, внезапное ускорение пульса, холодный пот, бледный, изможденный вид. Возможны головокружения, обморок, падение артериального давления вплоть до коллапса и остановки сердца. Больные могут быть апатичны. Артериальная гипотензия — характерный признак ТЭЛА, обусловлена эмболической блокадой легочного кровотока, приводящей к резкому уменьшению притока крови к левому сердцу.

Что касается функциональных симптомов, то одними из важнейших и наиболее характерных являются внезапно возникающая инспираторная одышка, позы-

вы к кашлю, возможно кровохарканье, обусловленное инфарктом легких; при аускультации возможны ослабление дыхательного шума, одностороннее отсутствие проведения дыхательного шума, а также шум трения плевры и хрипы в легких.

Болевые симптомы проявляются в виде острых болей в груди, обусловленных чаще инфарктом легкого и заинтересованностью плевры и поэтому усиливающихся при дыхании, кашле.

Боли могут быть обусловлены и раздражением эмболом нервных окончаний в стенке легочной артерии; локализуясь за грудиной, они носят нестерпимый характер.

Чувство сдавления в области сердца нередко схоже с таковым при стенокардии и вызвано обычно уменьшением коронарного кровотока в результате снижения ударного и минутного объема сердца. Нередки боли в плечах, лопатках, а также ощущение «пробираания мороза в теле в направлении сердца».

Застойные симптомы возникают в результате развития обструкции легочной артерии и/или ее ветвей и, как следствие, гипертензии в малом круге кровообращения и острой правожелудочковой недостаточности.

К ним относятся диспноэ и тахипноэ, набухание шейных вен, патологическая пульсация в эпигастральной области, а также такие проявления как гемоптоз, цианоз и субиктеричность (поздний синдром при распаде эритроцитов). Могут наблюдаться редкие боли в правом подреберье, сочетающиеся с парезом кишечника, икотой, симптомами раздражения брюшины в связи с острым увеличением печени при правожелудочковой недостаточности и систолический шум, ритм галопа над мечевидным отростком. Характерны акцент II тона во II межреберье, на ЭКГ — картина острого «cor pulmonale».

Конечно, степень проявления и тяжесть течения ТЭЛА, в первую очередь, зависят от калибра обтурированных легочных сосудов и, как следствие, уровня вызываемых расстройств гемодинамики.

Так, при тяжелых расстройствах гемодинамики возможны такие периферические проявления, как острая почечная недостаточность, церебральные нарушения в форме гипоксемии и характерной в таких случаях симптоматикой в виде судорог, обмороков, комы и др.

Не следует забывать, что подобные церебральные проявления характерны и для другого грозного осложнения беременности и послеродового периода — тромбоза мозговых сосудов, когда наблюдается весь спектр церебральной симптоматики: (табл. 110) от головной боли до менингизма, помрачения сознания, спастических парезов, вялых параличей, очаговых симптомов, вплоть до глубокой комы. Однако характернейшим начальным симптомом тромбоза церебральных сосудов является эпилептический припадок, хотя и головные боли, и кома, и параличи могут проявляться в виде первых симптомов.

Таблица 110.

Основные клинические проявления тромбоза сосудов мозга.

1. Внезапная головная боль.
2. Помрачение сознания.
3. Спастические парезы.
4. Вялые параличи.
5. Очаговая симптоматика (гемиплегии).
6. Мозговая кома.
7. Кратковременная потеря сознания.
8. Эпилептические припадки.

Послеродовой тромбоз мозговых сосудов обычно возникает (50—60%) на 2-ую неделю после родов. Однако, нередко первые признаки заметны уже через несколько часов post partum или лишь на 4-ю неделю. 2/3 таких тромбозов протекает очень тяжело. Как правило, если тромбоз церебральных сосудов имел место

во время предыдущей беременности и родов, то вероятность его при последующей беременности и родах весьма велика. Характерной особенностью тромбоза церебральных сосудов является большая склонность к рецидивам (20—60%) и инвалидизации (остаточная инвалидность — 60%).

Тромбозы мозговых вен во время беременности и в послеродовом периоде встречаются чаще, чем у небеременных женщин и у мужчин. Часто эту патологию путают с эпилепсией, апоплексией, опухолью мозга, абсцессом, энцефалитом, менингитом и т.д. При церебральных симптомах во время беременности, родов и послеродового периода, в первую очередь, всегда следует думать о мозговом тромбозе.

Диагностика ТГВ и ТЭЛА во время беременности

Клинический диагноз тромбоза вен и ТЭЛА не всегда возможен, так как клинические признаки часто имеют стертый характер, в то же время, если они достаточно выражены, необходима дифференциальная диагностика с другими возможными причинами подобных клинических проявлений.

Клинический диагноз тромбоза подвздошных или илеофemorальных вен редко бывает ошибочным, так как при этом имеет место внезапный отёк всей ноги, цианоз, ощущение распирания, болезненности по ходу бедренной вены. Тем не менее, и в таких случаях диагноз подтверждается лишь у 50% больных с болью, отеком и чувством распирания в ноге.

В то же время диагноз ТГВ голеней клинически поставить практически невозможно. Поэтому подтверждение диагноза — основа правильного и своевременного лечения.

При диагностике ТГВ следует проводить дифференциальный диагноз и исключить другие возможные причины обнаруженных клинических проявлений: кисту Беккера (дивертикул синовиальной мембраны коленного сустава, который выдаётся через подколенную ямку), опухоль (в том числе костную), первичную венозную недостаточность, поверхностный тромбоз флебит, целлюлит, гемартроз, сердечную недостаточность при заболеваниях сердца.

Если подозрение на тромбоз глубоких вен остается, необходимо проведение подтверждающих объективных тестов. Следует сразу оговорить возможность применения радиологических исследований во время беременности и эффектов радиации на плод. Относительный риск побочных эффектов на плод незначительно увеличивается при общем уровне радиации, которому подвергается беременная < 5рад. Поэтому при подозрении на ТГВ или ТЭЛА допускается применение таких радиологических методов, где плод получает радиацию меньше 0,5 рад. В таблице 111 указаны значения получаемой плодом радиации при различных диагностических процедурах.

Таблица 111.

Процедура	Уровень радиации, получаемой плодом
Билатеральная венография без защиты живота	0,628
Унилатеральная венография без защиты живота	0,314
Ограниченная (локальная) венография	<0,050
Пульмоангиография через бедренный доступ	0,221—0,374
Пульмоангиография через плечевой доступ	<0,050
Перфузионная сцинтиграфия легких с использованием ⁹⁹ Tc-МАО	0,018
Вентиляционная сцинтиграфия легких с использованием ¹³³ Xe	0,004—0,019
⁹⁹ Tc-ДТРА	0,007—0,035
⁹⁹ TcSC	0,001—0,005

Процедура	Уровень радиации, получаемой плодом
Радиоизотопная венография с использованием ^{99}Tc	0,001—0,005
Сканирование ног с использованием ^{125}I -фибриногена	2,000
Рентгенологическое исследование легких	<0,001

^{99}Tc -МАО — макроагрегаты альбумина, меченые технецием

^{99}Tc -ДТРА — диэтиленetriаминпептацетилловая кислота, меченая технецием

^{99}Tc SC — коллоидная сера, меченая технецием

^{133}Xe — Ксенон 133 (самостоятельный изотоп, газ)

Во время беременности наиболее приемлемыми для диагностики ТГВ считаются импедансная плетизмография (ИПГ), компрессионная ультрасонография и контрастная венография. Согласно исследованиям последних лет, ИПГ считается высокочувствительным тестом определения проксимальных ТГВ, хотя два недавних исследования в Мак-Мастерском университете показали гораздо меньшую чувствительность ИПГ для проксимальных ТГВ. Это понятно, если учесть, что ИПГ результативна, когда тромб препятствует оттоку крови. Мелкие тромбы, не облитерирующие отдельные икроножные вены, или тромбы вне крупных венозных сосудов могут не быть выявленными. Тем не менее, при наличии клинически выраженных и наиболее частых в перипартальный период тромбозов в илеофemorальной области этот метод высоко информативен.

Как и компрессионная ультрасонография (КУС), ИПГ является неинвазивным методом исследования. Метод основан на изменении отклонения электрического импеданса в результате изменения объема крови в конечности. Поскольку, как уже указывалось, ИПГ не чувствительна к некоторым неокклюзирующим проксимальным ТГВ и тромбозам в икроножных венах, необходимо проведение серийных тестов ИПГ в течение 7—14 дней, если результаты первого теста отрицательные. Это важно для исключения восходящего тромбоза или возможного обнаружения неокклюзирующего проксимального ТГВ. Если при повторных ИПГ результат окажется положительным, этого достаточно для диагноза ТГВ. Следует отметить, что аномальные результаты ИПГ могут быть однозначно расценены как признак ТГВ только в первые два триместра беременности, так как в последнем триместре беременности увеличенная матка вызывает компрессию сосудов таза, возможны ложноположительные результаты ИПГ. Поэтому при положительном результате ИПГ в III триместре, тест должен быть повторен в положении пациентки лежа на боку в течение 20—30 минут. Если тест остается аномальным, необходимо произвести ограниченную (локальную) венографию с целью дифференциации проксимального ТГВ и компрессии тазовых сосудов беременной маткой. Если результат ограниченной венографии отрицателен, проводят полную (расширенную) венографию с целью выявления илеофemorального тромбоза.

Компрессионная ультрасонография (КУС) позволяет непосредственно визуализировать глубокие вены и дифференцировать их от обструкции наружных (поверхностных) вен. Обнаружение не подвергнувшихся компрессии венозных сегментов свидетельствует с высокой степенью вероятностью о ТГВ. Следует отметить, что в отличие от ИПГ, КУС является чувствительным и специфичным тестом для диагностики проксимальных ТГВ, но малоинформативен при выявлении изолированных тромбов подвздошных вен, которые во время беременности развиваются гораздо чаще, а также при выявлении тромбов в венах икроножных мышц. Поэтому, если КУС выявляет не подвергшийся компрессии венозный сегмент, ставится диагноз ТГВ; однако если тромб не выявлен, а изолированный тромбоз подвздошной вены не исключен, имеет смысл мониторинг таких пациенток с се-

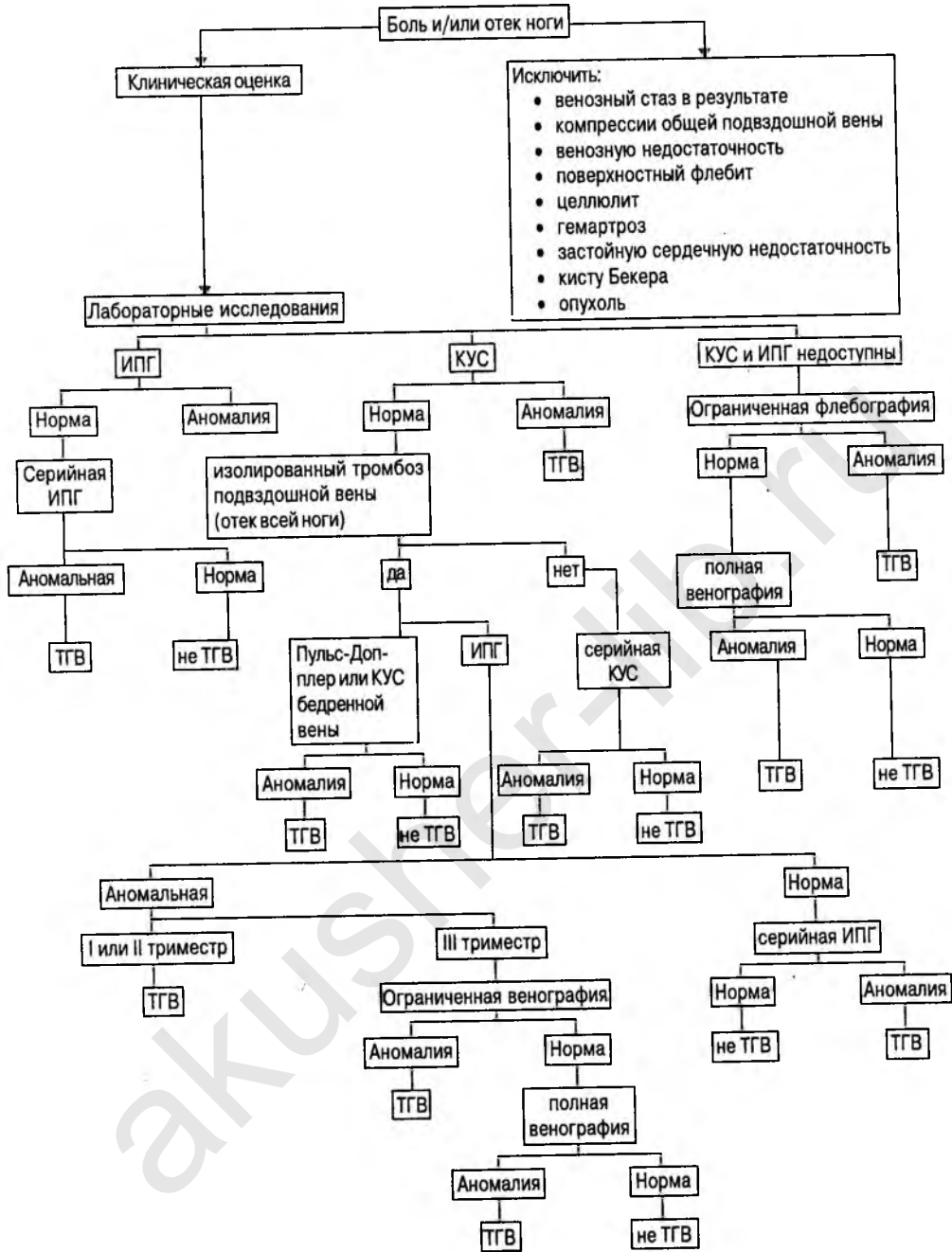


Рис. 105. Диагностика тромбоза глубоких вен во время беременности.

рийной КУС с целью исключения восходящего тромба из икроножной вены. Изолированный тромбоз подвздошной вены необходимо исключить, если у беременных появляются жалобы на боли и отек в одной ноге с вовлечением бедра, и/или низа живота, боли в области ягодиц. Для исключения этого диагноза необходимо проведение двойной ультрасонографии, позволяющей оценить состояние общей подвздошной вены, пульс-Допплер или ИПГ.

Таким образом, ИПГ и КУС являются скринирующими и часто взаимодополняющими тестами при выявлении ТГВ. Тем не менее, если данные неинвазивных тестов противоречивы, или нет возможности проведения серийных исследований, следует проводить восходящую контрастную венографию. Ограниченная венография с защитой таза и живота значительно редуцирует лучевую нагрузку плода, но не позволяет визуализировать подвздошные вены. Таким образом, для исключения тромбоза подвздошных вен необходима полная венография. На рис. 105 представлен алгоритм выявления ТГВ во время беременности.

Диагностика тромбоэмболии легочной артерии (ТЭЛА)

Поскольку клиническая картина и течение ТЭЛА в значительной степени зависит от числа и калибра обтурированных легочных сосудов, то и подозрение на ТЭЛА может возникнуть не только при яркой клинической картине, когда обтурируются сосуды крупного калибра, но и при минимальных симптомах (тахипноэ, тахикардия, инспираторная одышка, ощущение дискомфорта), возникающих при тромбоэмболии мелких ветвей легочной артерии.

Объективные методы исследования, используемые при подозрении на ТЭЛА, включают рутинные методы исследования — ЭКГ и рентгенологическое исследование, а также наиболее информативные методы — вентиляционно-перфузионную сцинтиграфию легких и легочную ангиографию. Помимо этого используются и неинвазивные методы диагностики ТГВ (КУС и ИПГ), поскольку ТГВ часто обнаруживается при ТЭЛА. Поэтому при подозрении на ТЭЛА выявление ТГВ позволяет ставить диагноз ТЭЛА и начинать антикоагулянтную терапию без проведения последующих тестов. Тем не менее, следует особо отметить, что нормальные результаты ИПГ и КУС не исключают наличие ТЭЛА, и при подозрении на ТЭЛА необходимо проведение дальнейших исследований и, в частности, легочной сцинтиграфии.

ЭКГ и рентгенологическому исследованию наряду с анамнезом и осмотром, принадлежит роль начальных исследований у больных с возможной ТЭЛА, не столько потому, что они специфичны для ТЭЛА, сколько потому, что могут подтвердить альтернативный диагноз и, тем самым, исключить ТЭЛА. Дифференциальный диагноз ТЭЛА следует проводить с пневмонией, плевритом, плевродинией, застойной сердечной недостаточностью, пневмотораксом, мышечно-скелетными болями и инфарктом миокарда.

Изменения ЭКГ при ТЭЛА демонстрируют перегрузку правых отделов сердца и ишемию миокарда, при этом обнаруживается глубокий зубец S1, патологический зубец QIII и инверсия зубца TIII, инверсия зубцов T в правых грудных отведениях, блокада правой ножки пучка Гиса, Р-пульмонале, тахикардия, возможны экстрасистолии, мерцание и трепетание предсердий. Эти признаки часто обнаруживаются при массивных тромбоэмболиях.

Рентгенологические признаки ТЭЛА также малоспецифичны. После эмболии без инфаркта рентгенограмма обычно нормальная, часто описываемые признаки — проксимальная дилатация основных легочных артерий, фокальная олигемия дистальнее эмболии нередко носят весьма субъективный характер. Чаще обнаруживаются нарушения после инфаркта легкого, но и они неспецифичны, особенно у послеоперационных больных или при наличии заболеваний сердца и/или легких. К наиболее ярким рентгенологическим проявлениям ТЭЛА с инфарктом легкого относятся: взбухание легочного конуса и расширение тени сердца вправо за счет правого предсердия, резкое расширение корня легкого, картина «ампутации ветвей легочной артерии», снижение прозрачности ишемизированного легкого, локальное просветление легочного поля на ограниченном участке (симптом Вестермарка), наличие треугольной тени инфаркта (основанием к периферии, а верхушкой к корню легкого); «приподнятая» диафрагма на пораженной стороне, часто наличие плеврального выпота.

Вентиляционно-перфузионная сцинтиграфия является методом выбора, поскольку относится к неинвазивным методам. В некоторых крупных исследовательских центрах перфузионная сцинтиграфия используется в качестве начального теста. Преимущество такого подхода состоит в том, что если результаты перфузионной сцинтиграфии нормальные, то диагноз ТЭЛА исключается без дополнительного проведения вентиляционной сцинтиграфии. При аномальных результатах перфузионной сцинтиграфии необходимо проведение вентиляционной сцинтиграфии. К аномальным результатам перфузионной сцинтиграфии относятся дефекты заполнения изотопа сегментарного или долевого характера.

При сопоставлении данных перфузионной и вентиляционной сцинтиграфии возможны следующие результаты:

- а) уменьшенная перфузия, нормальная вентиляция.
- б) уменьшены и перфузия, и вентиляция
- в) вентиляционно-перфузионное соответствие и несоответствие в разных областях.

Теоретически дефекты перфузии из-за эмболии должны сочетаться с нормальной или почти нормальной вентиляцией, а при заболеваниях паренхимы или воздухоносных путей должно быть снижение вентиляции и задержка вымывания изотопа. Опыт показывает, что это справедливо для дефектов перфузии при нормальной рентгенограмме, а вентиляционное сканирование бесполезно, когда дефекты перфузии сочетаются с нарушениями на рентгенограмме. В последнем случае уменьшается и перфузия и вентиляция независимо от причины — инфаркт легкого, пневмония и т.д.

Вероятность эмболии высокая (>80%) у пациенток с нормальной рентгенограммой при крупных (долевых) дефектах перфузии или множественных сегментарных дефектах перфузии при нормальной вентиляции (в/п несоответствие). Множественные субсегментарные дефекты перфузии при нормальной вентиляции также могут указывать на эмболию при поражении более 25% сегмента, так что определение субсегментарных дефектов имеет важное значение. Вентиляционное сканирование не помогает в ситуации, когда снижается перфузия и вентиляция при инфаркте легкого, но у небольшого числа пациенток, когда дефект перфузии значительно больше дефектов на рентгенограмме, в/п несоответствие подтверждает диагноз эмболии.

Наиболее информативна вентиляционная сцинтиграфия для подтверждения ТЭЛА у больных с дефектами сегментарной перфузии и менее информативна для подтверждения или исключения ТЭЛА у больной с дефектами субсегментарной перфузии. В сомнительных случаях необходимо дальнейшее исследование, и в частности, проведение легочной ангиографии, которая остается эталонным методом диагностики ТЭЛА, хотя метод инвазивен и лучевая нагрузка на плод при этом исследовании значительно выше, чем при перфузионно-вентиляционной сцинтиграфии легких (табл. 126). Поэтому пульмонография показана, лишь когда резервы всех неинвазивных методов исчерпаны и неинформативны.

С целью минимизации лучевой нагрузки на плод при проведении пульмонографии желателен брахиальный путь введения контрастного вещества и обязательная защита области живота свинцовым фартуком.

Алгоритм диагностики ТЭЛА у беременных приведен на рис. 106.

Ведение беременных с тромбофилией подразумевает первичную тромбопрофилактику у «асимптоматичных» пациенток, вторичную профилактику возвратных тромбозов у женщин с «тромбофилическим» анамнезом и лечение острых тромбоцистических эпизодов.

Хотя гепарин все еще считается препаратом выбора для профилактики и лечения ВТЭ у беременных, в последние годы он все больше уступает позиции фракционированным или низкомолекулярным гепаринам, о чем речь пойдет немного позже.

У «асимптоматичных» пациенток с известным генетическим дефектом, предрасполагающим к тромбозам (дефицит протеина С, FV Leiden или мутация PtG20210a) в мировой практике придерживаются мнения о необходимости приме-

нения гепарина или НМГ только в последнем триместре и в пуэрперии в течение 2—6 недель. В I и II триместре рекомендуется динамическое наблюдение.

Тем не менее, мы считаем, что поскольку такая скрытая форма тромбофилии является не только фактором риска ВТЭ, но и патологического течения беременности, «основа» которого закладывается уже с ранних сроков, оправдана терапия низкими дозами гепарина (5 тыс ЕД x 2 раза в сутки п/к) или, что предпочтительнее, НМГ уже с начала беременности.

Вторичная профилактика, как уже указывалось, осуществляется у всех пациентов с личным и/или семейным тромботическим анамнезом и подразумевает применение гепарина или НМГ как во время беременности, так и в пуэрперии с дальнейшим переходом на варфарин в дозе, поддерживающей МНО в пределах 2,0—3,0 в течение 6 недель.

Вышеназванные специфические методы могут сочетаться с неспецифической профилактикой — бинтованием ног, плантарным массажем и пр.

В группах наибольшего риска (генетические формы тромбофилии, АФС, тромбозы в анамнезе, рецидивирующие тромбозы) антикоагулянтная профилактика показана на протяжении всего гестационного процесса. Ввиду необходимости длительного применения антикоагулянтов, предпочтение следует отдавать низкомолекулярным гепаринам, так как при этом риск побочных эффектов (остеопороза, алопеции и пр.) значительно ниже, и, кроме того, его применение ограничивается 1 инъекцией в сутки.

Многочисленные мультицентровые исследования показали, что применение малых доз гепарина снижает частоту нефатальной ТЭЛА.

Исследования последних лет, в том числе и наш опыт, свидетельствуют о более высокой эффективности низкомолекулярных гепаринов (нами исследовался фраксипарин) в профилактике тромбозэмболических осложнений и их рецидивов у больных с комбинированными формами тромбофилии (АФС и генетические дефекты).

При применении антикоагулянтов во время беременности не желательно использовать лекарственные препараты, потенцирующие их эффект, ввиду опасности геморрагических осложнений, особенно накануне родов или операции кесарева сечения (спазмолитики, непрямые антикоагулянты, антиагреганты, седативные препараты, декстраны).

Лечение тромбоза глубоких вен (ТГВ) у беременных подразумевает применение лечебных доз гепарина в течение 5—7 дней внутривенно. Доза считается адекватной при удлинении АЧТВ и r+k тромбоэластограммы в 2 раза и снижении индекса тромбодинамического потенциала (ИТП) до 5—7 ед. Определение ПДФ при этом не имеет столь важного значения в связи с возможностью лизиса тромба.

В дальнейшем в зависимости от клинической ситуации терапию гепарином необходимо продолжить в течение 3-х месяцев в режиме подкожного введения гепарина и регулирования его дозы под контролем АЧТВ. В послеродовом и послеоперационном периодах антикоагулянтная терапия должна быть возобновлена, ввиду высокого риска развития тромбозэмболических осложнений. Спустя 7—10 дней применения гепарина или низкомолекулярного гепарина возможен переход на непрямые антикоагулянты в течение 4—6 недель. Учитывая отсроченный антикоагулянтный эффект непрямых антикоагулянтов следует в течение первых 2—3 дней начала терапии не прерывать введение гепарина. По достижении терапевтического значения INR (international normalized ratio) 2,0—3,0 введение гепарина прекращается. Терапия непрямыми антикоагулянтами продолжается, по меньшей мере, 4—6 недель.

Терапия ТЭЛА подразумевает:

1. Поддержание оксигенации и сердечного выброса;
2. Стимуляцию лизиса тромба;
3. Предотвращение нарастания тромба и рецидивы тромбоза.

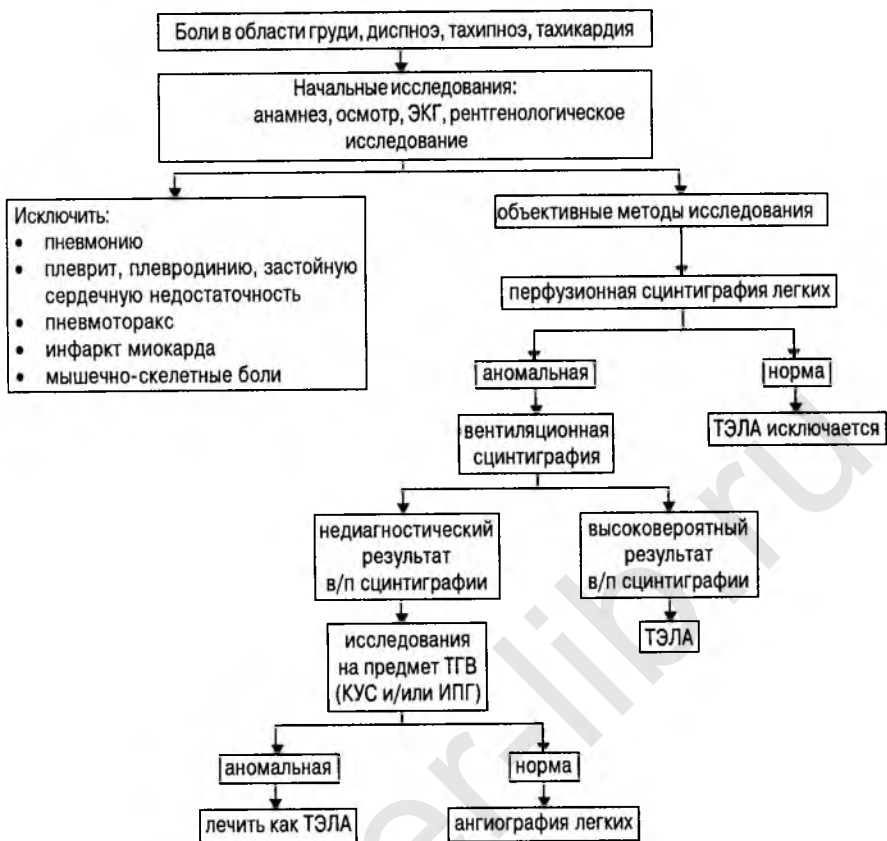


Рис. 106. Алгоритм диагностики ТЭЛА у беременных.

Лечебные мероприятия при этом включают:

1. незамедлительное начало терапии, не дожидаясь окончания всех диагностических процедур.
2. Оксигенотерапия с помощью маски (6 литров/мин).
3. Гепарин 5—10 тыс ЕД/час в/в, далее 1—2 тыс ЕД/час в/в.
4. Уточнение дозы гепарина под контролем АЧТВ (удлинение в 2—2,5 раза).
5. Поддержание такого режима антикоагуляции в течение 7—10 дней.
6. Далее подкожно введение гепарина 7,5—10 тыс ЕД 2—3 раза в сутки (в течение всей беременности и в послеродовом периоде в течение 6 недель). В послеродовом периоде возможна замена гепарина непрямыми антикоагулянтами в течение 6 месяцев.

При тяжелой эмболии легких с шоком, острой недостаточностью правого сердца и значительном понижении артериального кислородного насыщения успех может принести только активное удаление эмбола. При этом если позволяют условия, идеальной представляется эмболектомия. Если это невозможно организовать за короткий срок, можно попытаться растворить тромб при помощи инъекции непосредственно в область тромба высокой дозы стрептокиназы (в течение нескольких минут) или урокиназы. При тяжелой, но менее угрожающей легочной эмболии вне беременности фибринолитики, по сравнению с введением, антикоагулянтов вызывает значительно более быстрое растворение эмбола.

При анализе каждого случая тромбоэмболии легочной артерии не следует забывать о возможной бактериальной ее природе. Бактериальные легочные эм-

боли представляют состояния, при котором сгусток, фибриновый матрикс или другое специфическое вещество, соединяющееся с микроорганизмами, оседает в легочной артериальной сети, вызывая инфаркт, нагноение или другие осложнения.

Бактериальная легочная эмболия встречается достаточно редко, и часто остается нераспознанной. Ее источниками чаще всего являются гнойные процессы и тромбофлебиты в области малого таза, а также нагноительные процессы в области шеи, головы, длительная катетеризация сосудов; риск возникновения бактериальной тромбоэмболии также чрезвычайно высок у наркоманов, о чем не следует забывать при поиске возможного источника эмболии.

Бактериальная легочная эмболия сопровождается или может обуславливать вторичный эндокардит, поражающий трикуспидальный или легочный клапаны. Далее следует распространение в легочную циркуляцию.

Первичный эндокардит правой половины сердца встречается достаточно редко. Обычно имеет место поражение клапанов; врожденные дефекты или шунт из левой половины сердца в правую поддерживает бактериальный (септический) процесс.

Вторичный эндокардит правой половины сердца встречается чаще и может стать главной (после воздействующей причины) причиной, индуцирующей персистенцию очага пиемии.

Очевидно, что недренирующиеся и неадекватно леченные гнойные очаги при соприкосновении с крупными венами и венозными сплетениями, могут служить источниками бактериальной легочной эмболии. В последние годы увеличился удельный вес ятрогенных причин бактериальной эмболии. Широкое распространение внутривенной инфузионной терапии и особенно внутривенного парентерального питания служат важными факторами, индуцирующими бактериальную эмболию.

Послеродовой тромбофлебит овариальных вен также может быть причиной бактериальной тромбоэмболии легких.

Наряду с асептическим тромбозом вен яичников, наблюдаемым в некоторых случаях во время беременности, но редко — в послеродовой период, послеродовой тромбофлебит овариальных вен, сопровождающийся лихорадкой (септический тромбофлебит тазовых вен), представляет особую форму тромбоэмболических заболеваний. Его развитию способствуют осложненные роды, бактериальные инфекции и эндометрит (1 случай на 200 родов). Ведущие симптомы: боли внизу живота (распространяющиеся в пах), боли при надавливании на область яичников, лихорадка. В 90% случаев наблюдается с правой стороны. Смертность (эмболия легких и некорректируемый септический процесс) — около 6%. Клинический диагноз удается поставить лишь в 15% случаев; диагноз обычно ставится лишь во время или после операции. Пока не ясно, можно ли улучшить диагностику при помощи флебографии, сонографии или компьютеро-томографических методов. Наряду с антикоагуляцией необходима адекватная антибиотикотерапия, достаточная в 3/4 случаев. Если эти методы не дают результата, необходима хирургическая санация очага сепсиса.

Септические процессы после родов при отсутствии классических симптомов эндометрита, сальпингита или пельвиоперитонита подозрительны в отношении тромбофлебита овариальных вен. При любом септическом процессе в послеродовой период, который сразу не поддается лечению антибиотиками, необходимо предположить тромбоз овариальных сосудов и попытаться добиться при помощи таких неинвазивных методов, как ультразвук и компьютерная томография подтверждения диагноза в целях как можно более раннего начала лечения антикоагулянтами и предупреждения тромбоэмболии легочной артерии.

Клинические проявления бактериальной легочной эмболии схожи с таковыми при небактериальной тромбоэмболии легких.

Тем не менее, имеются значительные отличия. При бактериальной легочной эмболии обычно имеют место потрясающие ознобы и высокая лихорадка, которые не отмечаются при стертой легочной эмболии. Ознобы и лихорадка часто появляются при эмболии за несколько часов или дней. Культура крови на этом этапе

часто позитивна. У других пациентов токсический и септический шок могут иметь место при мало- или бессимптомном процессе в грудной клетке.

Случаи лекарственной наркомании должны вызывать настороженность в отношении бактериальных легочных эмболий. При госпитализации больных, находящихся на инфузионной внутривенной терапии или больных, требующих применения постоянных катетеров, соответствующие места должны быть исследованы, катетеризация не должна производиться при наличии меток на коже, в случае раздражающего действия катетера последний извлекается.

Полное физикальное исследование, включающее в себя влагалищное и ректальное, является крайне необходимым для исключения других причин или установления показаний к дальнейшим объективным методам исследования.

При правостороннем эндокардите аускультативные данные, специфичные для него, обычно отсутствуют. Может иметь место желтуха. Отмечается выраженный лейкоцитоз и сопровождающая его анемия. Бактериурия или пиурия должны настораживать в смысле возможного наличия инфицированных тромбов в венах, дренирующих участки нагноения в почках.

Легочный абсцесс и сепсис — две главные причины смерти при бактериальной легочной эмболии при отсутствии быстро начатой терапии. Легочный абсцесс может персистировать в плевру, вызывая эмпиему, бронхоплевральный свищ и пневмоторакс. Далее может следовать дыхательная недостаточность и смерть. Закономерным следствием прогрессирования заболевания является метастазирующий системный абсцесс при бактериальном эндокардите, септический шок и смерть.

Основой терапии является лечение начального бактериального процесса. Это может быть дренирование абсцессов, удаление венозных канюль или, в некоторых случаях, проксимальное лигирование и тотальное иссечение сегмента, пораженного флебитом. В случае тромбоза тазовых вен необходимо лигирование нижней полой вены и обеих яичниковых вен. При правостороннем эндокардите может стать необходимой вальвэктомия трикуспидального клапана. Многолетние исследования показали эффективность и безопасность комбинации гепарина и антибиотиков при бактериальной эмболии. Поддержание дыхательной функции (легочный кислород, а в ряде случаев ИВЛ), водного и электролитного баланса и соответствующее лечение осложнений в равной степени важно использовать в период кризиса заболевания.

Таким образом, независимо от механизма тромбофилии, будь то генетические дефекты гемостаза, циркуляция АФА или АФС и пр., противотромботическая терапия занимает основополагающее место в профилактике и лечении тромбоэмболических осложнений во время беременности.

Как ранее уже указывалось, степень риска развития тромботических осложнений во время беременности, родов, операции кесарева сечения и в послеродовом периоде может быть различной. Группу «высокого риска» классически составляют беременные с:

- генетической или приобретенной формы тромбофилии и 1 случаем предшествующего ТГВ/ТЭЛА;
- повторными выкидышами в связи с АФС;
- предшествующими рецидивирующими тромбозами / ТЭЛА;
- тромбозами/ТЭЛА в течение настоящей беременности;
- беременные с искусственными клапанами сердца;

В этой группе беременных показана противотромботическая терапия во время беременности, а также в родах и в послеродовом периоде.

Группу «низкого риска» составляют беременные с 1 случаем предшествующего тромбоза в отсутствие внешних факторов риска, а также беременные без тромбоземболических осложнений в анамнезе, но с дополнительными факторами риска, к которым относятся:

- родоразрешение путем кесарева сечения;

- ожирение;
- длительный постельный режим или ограниченная подвижность;
- возраст более 35 лет.

Эти женщины нуждаются в профилактике противотромботическими препаратами в родах и послеродовом периоде не менее 5 дней, а также в наблюдении и гемостазиологическом мониторинге во время беременности.

Противотромботические препараты, используемые при беременности, помимо эффективности, должны быть безопасны для матери и плода. В настоящее время препараты, доступные для профилактики тромбоэмболических осложнений, несмотря на огромный прогресс в фармакологии и появление новых противотромботических препаратов, представлены гепарином и гепариноподобными смесями (НГ, НМГ, гепариноиды), дериватами кумарина и аспирином. Учитывая вышеизложенное, целесообразно, в первую очередь, остановиться на возможных побочных эффектах применяемых препаратов.

Осложнения антикоагулянтной терапии во время беременности со стороны плода

При антикоагулянтной терапии у матери возможны два основных осложнения со стороны плода: тератогенные и геморрагические. Гепарин и НМГ не пересекают плаценту и потому не являются причиной тератогенных и геморрагических осложнений у плода. В противоположность гепарину, дериваты кумарина пересекают плаценту и могут вызывать вышеназванные осложнения. Дериваты кумарина являются причиной эмбриопатии, а именно назальной гипоплазии и/или зернистости эпифизов при применении оральных антикоагулянтов в I триместре беременности, а также аномалий ЦНС. Тем не менее, в настоящее время появились данные, согласно которым дериваты кумарина безопасны в первые 6 недель гестации, однако риск возникновения эмбриопатии присутствует в сроки 6—12 недель беременности. «Безопасным» периодом для применения оральных антикоагулянтов является лишь второй триместр беременности. Поскольку оральные антикоагулянты (ОА) обладают выраженным антикоагулянтным эффектом и на плод, их применение не показано после середины третьего триместра вследствие высокого риска неонатальных кровотечений при родоразрешении и родовой травме.

Осложнения антикоагулянтной терапии со стороны матери

Основными осложнениями являются геморрагии. Кроме того, при длительном изменении НГ возможны такие осложнения, как остеопороз, аллопеция, а также тяжелое ятрогенное осложнение — гепарин-индуцированные тромбоцитопения и тромбоз.

Одной из основных проблем в ряде случаев при антикоагулянтной терапии у беременных является необходимость urgentного родоразрешения пациентки, находящейся в состоянии полной антикоагуляции в результате следующих обстоятельств:

- гепаринотерапия недавнего ТГВ;
- передозировка профилактического гепарина;
- терапия оральными антикоагулянтами — производными кумарина в сроки от 16 до 36 недель.

Исходя из этого, следует еще раз отметить, что назначение антикоагулянтной терапии во время беременности требует оценки клинической ситуации в конкретном случае и исключения ряда мероприятий, которые могут оказаться смертельно опасными для пациентки (в частности, эпидуральная анестезия при полной антикоагуляции (см. ниже)).

Безопасность применения аспирина во время беременности

К потенциальными осложнениями аспирина при беременности долгое время относили дефекты плода, кровотечения у плода и у матери. Тем не менее, результаты последних метаанализов и большого (более 9000 больных) рандомизиро-

ванного исследования показали, что терапия аспирином во II—III триместрах беременности в низких дозах (60—150 мг в день) безопасны для матери и плода.

Антикоагулянтная терапия у кормящей матери

Гепарин и НМГ не проникают в материнское молоко и назначение их кормящей матери безопасно. Долгое время производные кумарина были противопоказаны кормящим матерям из-за риска геморрагических осложнений у детей. Однако в последнее время появились сообщения о безопасности назначения варфарина кормящим матерям, так как при этом не индуцируется антикоагулянтный эффект у детей. Следует все же учитывать, что эти данные получены только для варфарина, который, к сожалению, у нас в стране еще мало используется, в то время как для ряда других оральные антикоагулянты существуют ограничения, и в первую очередь, это касается фениндиона (другой дериват кумарина). Применение фениндиона (фенилина) кормящей матерью является причиной тяжелых кровотечений у новорожденных, находящихся на грудном вскармливании.

Гепарин

Гепарин все еще остается препаратом выбора для профилактики и терапии тромбозомболических осложнений во время беременности, родов и послеродового периода во всех группах риска.

Результаты больших рандомизированных исследований небеременных женщин показали, что внутривенное введение гепарина в полной дозе с последующим переходом на режим подкожного введения дважды в сутки в дозах, пролонгирующих АЧТВ в терапевтическом интервале, эффективно и безопасно. Это позволило использовать гепарин в таком режиме у беременных с ТГВ и ТЭЛА. У беременных с тромбозами в анамнезе риск возвратных (рекуррентных) тромбозов повышен. В настоящее время предложены 2 основных подхода к ведению беременных с предшествующим венозным тромбозомболизмом (ВТЭ).

1) активная профилактика гепарином или НМГ;

2) клиническое наблюдение с регулярным контролем с использованием неинвазивных тестов, как венозная компрессионная ультрасонография (КУС) или импедансная плетизмография (ИПГ).

Подкожное применение гепарина в дозе 5000ЕД 2 раза в день эффективно и безопасно для профилактики ВТЭ во время беременности. Однако при этом следует учитывать, что у беременных с высоким риском такая доза может быть недостаточной. Из этого следует, что необходим контроль эффективности проводимой терапии. Наиболее значимыми тестами являются ранние маркеры тромбофилии — комплексы ТАТ и F1+2 протромбина. Имеются также данные, что риск рецидивирующих тромбозов значительно снижается при более интенсивной терапии гепарином в дозах, создающих в плазме уровень 0,1—0,2 МЕ/мл (измеряется как антифактор Ха активность). Хотя преимущество этого подхода состоит в обеспечении достаточного антикоагулянтного эффекта при беременности, следует учитывать, что при таком режиме вероятно повышение риска кровотечения и остеопороза; кроме того, необходим постоянный лабораторный мониторинг терапии.

Для беременных с предшествующими тромбозами, которые по каким-либо причинам не могут применять (эпизод ГИТ II в анамнезе и пр.) или отвергают применение гепарина, альтернативой может быть клиническое наблюдение с регулярной ИПГ и КУС.

При кратковременном назначении исключительно на период родов и послеродовом/послеоперационном периоде риск остеопении не нуждается в обсуждении, однако при длительном, на протяжении всего гестационного процесса, применении гепарина риск развития остеопороза значительно выше. Поэтому НМГ предпочтительнее применять при длительной профилактике ВТЭ: он практически не вызывает остеопении и, кроме того, гораздо реже является причиной

ГИП, чем НГ. В некоторых случаях необходимо urgentное родоразрешение на фоне лечения недавнего ТГВ/ТЭЛА терапевтическими дозами гепарина. Биологический период полужизни нефракционированного гепарина (НГ) при внутривенном введении чрезвычайно короток и прекращение инфузии приводит к быстрому снижению антитромбиновой активности в циркуляции через 30—60 минут. Поэтому протамин-сульфат назначается в редчайших случаях, когда необходима более быстрая элиминация антикоагулянтного эффекта гепарина.

Терапевтическая доза гепарина должна снижаться, если назначено плановое родоразрешение. Если роды начались самопроизвольно, внутривенное введение гепарина прекращается, либо назначается протамин-сульфат.

Следует учитывать, что если профилактика ВТЭ проводится путем подкожного введения НГ, биологическая активность его продлевается, особенно это относится к НМГ. Беременным, получающим профилактически гепарин длительно подкожно 2 раза в сутки, накануне родов при переводе в родильный блок или перед проведением эпидуральной анестезии, необходимо провести скрининговые коагуляционные исследования, включая тромбиновое время, чтобы, по меньшей мере, исключить опасность антитромбиновой «геморрагической» активности больших молекул нефракционированного гепарина и определить, не приближается ли она к терапевтическому уровню. Маловероятно, что при приемлемом АЧТВ или нормальном тромбиновом времени анти-Ха-активность будет чрезмерной. Однако следует учитывать, что при назначении гепарина пиковая концентрация его в плазме определяется в первые 2 часа, после чего снижается до желаемого (профилактического или терапевтического) уровня. Исходя из этого, любых травматических вмешательств следует избегать в течение этих 2 часов после введения гепарина.

К сожалению, не существует простых скрининговых тестов, которые позволили бы быстро (особенно в нерабочие часы) определить активность НМГ. Известно, что выраженная биоактивность НМГ длится 22—24 часа после подкожного назначения при условии 1 инъекции в день. При этом довольно высокие концентрации НМГ и следовательно анти-Ха-активности не вызывают изменений стандартных коагуляционных тестов (АЧТВ, тромбиновое время). АЧТВ будет нормальным при концентрации НМГ, приводящей к высокому уровню анти-Ха-активности (1,0 Е/мл или более). Вероятно, с этим связаны первые случаи повышенной кровоточивости во время хирургических операций (в том числе и кесарева сечения) при предшествующем длительном применении НМГ в высоких профилактических дозах.

Для беременных с низким риском ВТЭ, получающих профилактику только в родах, а также для обеспечения оперативного родоразрешения, эти сложности значения не имеют. Единственно, возникает дилемма: не противопоказана ли эпидуральная анестезия. В случае приемлемости эпидуральной анестезии необходимо определить временной режим подкожного введения препарата относительно начала региональной анестезии.

Согласно нашему опыту применения НМГ у беременных с высоким риском ВТЭ, длительная тромбoproфилактика НМГ фраксипарином ни в одном случае не осложнялась повышенной кровоточивостью в родах. Фраксипарин применялся в профилактической дозе 150 ICU/кг (в основном по 0,3 мл) 1 раз в сутки подкожно.

Тем не менее, при оперативном родоразрешении в некоторых случаях возможна повышенная кровоточивость. Вероятно, это связано с тем, что:

— во-первых, не учитывается потенцирующий эффект других препаратов, назначаемых накануне и во время операции (седативные препараты, низкомолекулярные декстраны вводимые в/в капельно во время операции и пр.)

— во-вторых, не учитывается возможный эффект НМГ (особенно фраксипарина) на функцию тромбоцитов, которая на фоне длительной профилактики снижается, вероятно, как в результате снижения уровня образуемого тромбина, который является агонистом тромбоцитов, так и в результате усиления эффектов простаглицлина;

— в-третьих, не учитывается уровень анти-Ха-активности и его влияния на кровоточивость при хирургических вмешательствах.

Исходя из собственного опыта, мы считаем, что при длительной тромбопрофилактике при терапии НМГ необходимо учитывать вышеперечисленные возможные причины повышенной кровоточивости во время хирургического вмешательства. С этой целью желательно выполнять исследования анти-Ха-активности накануне оперативного родоразрешения, а также избегать применения препаратов, потенцирующих эффект НМГ. К сожалению, не во всех лабораториях есть возможность выполнять это исследование. Как правило, эти исследования проводят после набора группы проб, что отдаляет результаты исследования на неделю и более. В связи с этим, имеет смысл отменять НМГ за сутки до планируемой операции кесарева сечения, снижая дозу последней инъекции НМГ до операции.

Ведение беременных с протезированными клапанами сердца

Ведение беременных с механическими клапанами сердца весьма проблематично, так как они традиционно составляют группу высочайшего риска по развитию тромбоэмболических осложнений. Следует учитывать, что и вне беременности искусственные клапаны — прямое показание к пожизненной антикоагулянтной терапии. Однако если вне беременности антикоагуляция обеспечивается оральными антикоагулянтами — производными кумарина (в основном, это варфарин в большинстве стран), то во время беременности — гепарином. В мировой практике все еще недостаточно данных об адекватной, безопасной и эффективной антитромботической терапии у женщин с искусственными клапанами сердца (ИКС) во время беременности. Согласно последним данным, считается, что гепарин ассоциируется с большим количеством тромбоэмболий, чем варфарин. Также появились сообщения о безопасности применения варфарина во время беременности, в том числе и в I триместре, поскольку он не ассоциируется с эмбриопатиями. Тем не менее, риск геморрагических осложнений у плода и влияние на ЦНС не отвергается. Сообщение о высоком уровне тромбоэмболизма на фоне терапии гепарином у беременных с ИКС, по сравнению с варфарином, могут объясняться неадекватностью дозы гепарина. Следует учитывать, что беременные с ИКС не чувствительны к средним дозам гепарина. Поэтому ведение таких беременных требует особого внимания, поскольку недостаточная доза гепарина ассоциируется с неудачами в лечении. Чтобы избежать тромбоэмболических осложнений, необходимы адекватная первоначальная гепаринизация и тщательный мониторинг терапии. Хотя терапевтическая доза гепарина подразумевает удлинение АЧТВ в 1,5 раз от контрольного времени, она считается недостаточной для обеспечения антитромботического эффекта у беременных с ИКС, и потому необходимо добиться удлинения АЧТВ, по меньшей мере, в 2 раза от контрольного времени. Доказано, что длительно применяющийся 2 раза в день подкожно гепарин в дозах, достаточных для поддержания терапевтического уровня в крови, также эффективен, как и длительно применяющийся варфарин (INR 2,5—4,9) для лечения острого венозного тромбоза. Однако такие дозы гепарина могут быть менее эффективны, чем варфарин для предупреждения артериального тромбоза у беременных с ИКС. В связи с этим, разумно рекомендовать наряду с гепарином аспирин в низких дозах (80—100 мг в день) на протяжении беременности.

В связи с вышеизложенным возможны 2 подхода к ведению беременных с ИКС: первый подразумевает использование гепарина на протяжении всей беременности 2 раза в день п/к в дозе, достаточной для достижения терапевтического значения АЧТВ (в 2 раза больше, чем контрольное). Второй подход подразумевает использование гепарина до 13 недель, с последующей заменой его на варфарин до середины III триместра, после чего вновь назначается гепарин до родов. Хотя второй подход позволяет избежать варфариновой эмбриопатии

тии, другие фетопатии (например, аномалии ЦНС) все же возможны. Хотя в некоторых странах (в том числе и в Англии) еще остались приверженцы второго подхода, мы считаем, что все же предпочтение следует отдавать терапии гепарином на протяжении всей беременности. Помимо того, что при варфаринотерапии риск аномалий ЦНС остаётся, беременные в III триместре с адекватной антикоагуляцией варфарином могут дать катастрофические кровотечения при неотложной акушерской ситуации, такой как отслойка плаценты, или при ургентном кесаревом сечении, а также при наложении щипцов. Варфарин имеет пролонгированный эффект, который нельзя быстро реверсировать. При назначении витамина К реверс достигается в течение 24 часов. Единственным быстрым методом лечения при кровотечении является переливание свежезамороженной плазмы, которая восполняет недостаток витамин-К-зависимых факторов немедленно. Однако такое лечение не будет эффективно для большого дефицита витамин К-зависимых факторов у плода. Это объясняется тем, что уровень витамин К-зависимых факторов возвращается к нормальному только через 7—9 дней после того, как мать прекратила принимать варфарин. Учитывая это важное обстоятельство, необходимо произвести родоразрешение наименее травматичным способом во избежание внутренних кровотечений у плода. В экстремальных случаях витамин К вводят плоду трансамниотическим путем.

В послеродовом периоде родильницы вновь могут принимать варфарин, даже если кормят грудью. Значительная секреция варфарина в грудное молоко отсутствует, а обнаруживаемые метаболиты варфарина не вызывают антикоагуляцию у новорожденного. Как уже указывалось, то же нельзя отнести к фенидиону (фенилину): применение его кормящей матерью является причиной тяжелых кровотечений у новорожденного, находящегося на грудном вскармливании.

Для женщин с ИКС, принимающих гепарин длительно антенатально, желательно не применять гепарин в послеродовом периоде более чем 6 недель и переходить как можно раньше на варфарин, из-за высокого риска развития осложнений (остеопороз, аллопеция, снижение антитромбина III). Первые 2 недели — 1 месяц необходим тщательный мониторинг дозы варфарина с установлением терапевтического интервала INR в пределах 2,5—3,5.

Начальная доза гепарина в антенатальном периоде, как правило, составляет 17500—20000 Ед каждые 12 часов п/к с достижением через 6 часов после инъекции терапевтического уровня АЧТВ.

НМГ имеют ряд преимуществ по сравнению с НГ для длительной профилактики тромбоэмболических осложнений у беременных с ИКС в антенатальном периоде. Это объясняется, прежде всего, снижением риска кровотечения и остеопороза, а также отсутствием негативных эффектов на плод. Согласно нашему опыту, терапевтическая доза НМГ фраксипарина 250 ICU/кг 1 раз в сутки п/к эффективно предотвращает развитие тромбоэмболических осложнений у беременных с ИКС, а также не вызывают повышенной кровопотери при родоразрешении. На рис. 107 представлены основные принципы противотромботической терапии у беременных с искусственными клапанами сердца.

Лечение венозного тромбоэмболизма при беременности

При лечении венозных тромбозов, развившихся во время беременности необходима полная доза гепарина в виде внутривенных инфузий 5—10 дней с последующим переходом на подкожное введение гепарина 2 раза в день в полной дозе до родов. Конечно же, в такой ситуации желательно заменить НГ на НМГ ввиду высокого риска остеопении при длительном применении высоких доз гепарина. Гепарин должен отменяться немедленно перед родами. В послеродовом периоде назначаются гепарин и варфарин одновременно. Лишь при достижении терапевтического значения INR гепарин отменяется, а варфаринотерапия продлевается как минимум в течение 6 недель.

Профилактика тромбозных осложнений и репродуктивных потерь у беременных с циркуляцией АФА и АФС

Наличие АФА и множественные потери плода в анамнезе являются показанием для назначения гепарина в сочетании с аспирином. Как правило, это 10 тыс. ЕД гепарина в сутки, которые вводятся в виде 2 подкожных инъекций с интервалом в 12 часов, и низкие дозы аспирина (50—80 мг) 1 раз в сутки. Терапия продолжается на протяжении всей беременности, а также в послеродовом периоде. Вплоть до 6-й недели послеродового периода также необходима антикоагуляция, которая может осуществляться с применением варфарина. Учитывая же, что гепарин применяется длительное время во время беременности, с целью уменьшения риска остеопении предпочтительно в послеродовом периоде использовать варфарин.

С нашей точки зрения препаратом выбора при ведении беременных с АФС является низкомолекулярный гепарин. Мы применяли НМГ фраксипарин у беременных с АФС в течение всего гестационного процесса в профилактических дозах (150ICU/кг 1 раз в сутки п/к). При этом обращала на себя внимание нормализация функции тромбоцитов, которая, как правило, была повышена у всех беременных с АФС. В силу указанного обстоятельства аспирин, дополнительно к фраксипарину, не назначался. Подробнее принципы ведения беременных с АФС изложены в главе III.

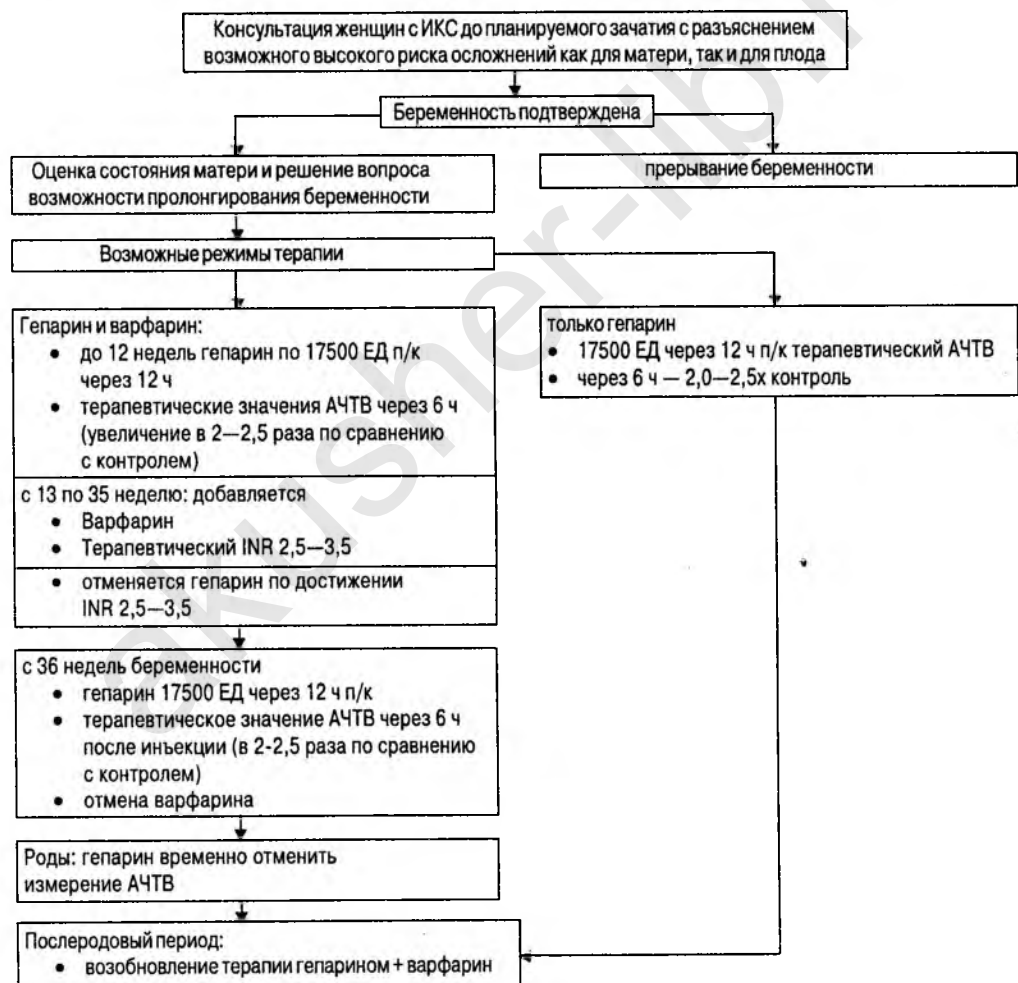


Рис. 107. Ведение беременных с искусственными клапанами сердца (ИКС).

Антитромботическая терапия и спинальная или эпидуральная анестезия во время беременности

В последние годы спинальная и эпидуральная анестезия стали революцией в контроле боли в родах, при кесаревом сечении и послеродовом периоде. Этот вид является часто методом выбора, когда общая анестезия противопоказана. Кроме того, результаты многочисленных исследований свидетельствуют о пользе именно этого вида анестезии для плода, да и для матери (при грамотном проведении процедуры), поскольку частота тромбоемболических осложнений в послеоперационном периоде также ниже по сравнению с общей анестезией. Тем не менее, беременные, которые получают или нуждаются в антитромботической терапии, ставят определенные проблемы при вступлении в роды. При проведении эпидуральной и/или спинальной анестезии появляются и технические проблемы при беременности, связанные с расширением кровеносных сосудов и повышенным экстрадуральным венозным давлением, которое классически сопровождает потуги во II периоде родов.

Другой большой проблемой является необходимость проведения эпидуральной анестезии на фоне антитромботической терапии. Главным вопросом в дилемме «применять или не применять» эпидуральную анестезию является повышенный риск эпидуральной или субарахноидальной гематомы у больных, получающих антикоагулянтную терапию. Если обсуждать «за и против» применения эпидуральной анестезии при нарушении системы гемостаза, следует признать, что объективных, статистически достоверных опубликованных доказательств недостаточно, как для общей хирургии, так и акушерства особенно.

Независимо от того, получала пациентка антикоагулянты или нет, при применении региональной анестезии необходим обязательный тщательный неврологический мониторинг (двигательная функция боли, недержание мочи и кала, мышечная слабость), поскольку немедленная диагностика и устранение возможной интраспинальной гематомы повысит шансы на выздоровление. В то же время важным фактором, связанным с эпидуральной анестезией, является травматичная пункция, вне зависимости от того, применялся антикоагулянт или нет.

Так, существуют данные наблюдений 27000 пациентов, у которых проводилась центральная блокада при больших хирургических операциях на фоне антикоагулянтов. При этом не описано ни одного случая осложнения в виде спинальной гематомы. В то же время в другом исследовании из 509 пациентов, которым проводились диагностические люмбальные пункции на фоне системной антикоагуляции, у 8 было отмечено наличие спинального гематом. Частота осложнений повышалась, если пункция была травматичной. Эти и другие данные в мировой практике свидетельствуют, что, определенно, имеется связь между развитием эпидуральной и спинальной гематомы, антикоагуляцией и эпидуральной пункцией, но нет ясности относительно низких доз гепарина. Не следует забывать, что последствия эпидуральной гематомы у молодых матерей разрушительны, и надо избегать их любой ценой.

Если речь идет о низких дозах гепарина в связи с эпидуральной анестезией, лабораторные данные должны подтверждать состоятельность системы гемостаза. В идеале, анестезиологу необходим простой тест, который можно было бы быстро провести, и который бы показал безопасность введения катетера при применении антитромботических препаратов или при других нарушениях системы гемостаза. Хотя *in vitro* скрининговые тесты довольно грубы, при неотложных состояниях они дают быстрый ответ, при условии, что НМГ не применялся. Если АЧТВ, ПИ, ТВ в пределах нормальных значений, уровень циркулирующего в крови гепарина значения для геморрагии не имеет и введение эпидурального катетера безопасно. Если есть возможность и запас времени, желательно сделать анализ на анти-Ха-активность, что даст ясный ответ и в отношении НМГ. Уровень гепарина для безопасной эпидуральной пункции должен быть меньше 0,2Е/мл.

Для многих акушерских больных, нуждающихся в urgentной эпидуральной анестезии и в определении компетентности гемостаза, следует проводить следующие доступные скрининговые тесты:

1) подсчет числа тромбоцитов. 100тыс/мкл считается нижним безопасным пределом.

2) Время кровотечения, которое не должно быть больше 10 минут. При этом возможно выявить клинически значимые нарушения функции тромбоцитов, особенно на фоне приема аспирина или других неспецифических противовоспалительных препаратов.

3) Коагуляционные скрининговые тесты — АЧТВ, ПИ, ТВ должны быть в пределах нормы. У больных, получающих НМГ следует использовать свежий анализ на анти-Ха-активность, если нет возможности сделать срочно.

Гепарин в терапевтической дозировке (концентрация в плазме 0,4—1,0 Ед/мл) является абсолютным противопоказанием для проведения хирургических процедур. Однако использование профилактических доз НГ 5000Ед или 1000Ед при беременности создает концентрацию его в плазме 0,1—0,2 Ед/мл и ниже и не удлиняет скрининговые тесты.

В большинстве публикаций, появившихся относительно недавно, о применении эпидуральной анестезии у беременных, получающих НМГ, указывается на успешное ее применение без развития компрессионной медуллярной гематомы и неврологических осложнений. Schwander и Bachmann (1991) опубликовали результаты клинических преимуществ НМГ у 9000 пациентов, подвергшихся спинальной или эпидуральной анестезии.

При проведении эпидуральной анестезии необходимо избегать временного промежутка, когда обнаруживаются пиковые концентрации НМГ, то есть последняя инъекция НМГ должна назначаться, по меньшей мере, за 4 часа до операции или эпидуральной анестезии. Также и удаление эпидурального или арахноидального катетера должно производиться не ранее чем через 4—6 часов после последней инъекции НМГ.

Учитывая все же, что нет единых рекомендаций по применению эпидуральной анестезии на фоне антитромботической терапии, наиболее разумным нам представляется все же предварительное проведение скрининговых тестов, определяющих компетентность гемостаза, а в ряде случаев определение анти-Ха-активности, и индивидуальный подход в каждом конкретном случае.

Основная стратегия ведения беременности, родов и послеродового/послеоперационного периодов у беременных с риском тромбозмембральных осложнений

Хотя относительно идеальной профилактики ВТЭ в антенатальном периоде в ряде случаев существуют противоречивые мнения, практически ни у кого не вызывает сомнений необходимость послеродовой антитромботической профилактики (минимум 6 недель) у рожениц и родильниц с высоким риском тромбозмембральных осложнений. Одним из основных условий для успешной тромбопрофилактики без нежелательных побочных эффектов является, конечно же, знание фармакокинетики используемых антитромботических препаратов, а также максимально бережное, малотравматичное родоразрешение.

Чтобы выбрать наиболее эффективный и безопасный метод антитромботической профилактики или терапии, следует учитывать разные группы риска:

Группа высокого риска

- Генетическая тромбофилия
 - дефицит антитромбина III
 - дефицит протеина С
 - дефицит протеина S
 - APC-R / фактор V-Leiden

Антифосфолипидный синдром:

- волчаночный антикоагулянт и/или
- высокие титры антифосфолипидных антител
- высокие титры антител к кофакторам (b2GPI, протромбин, аннексин и пр.).

Рецидивирующие тромбозы в анамнезе

— Тромбоэмболические осложнения в течение настоящей беременности.

Пациентки этой группы будут вступать в роды, получая антенатальную профилактику в том или ином виде: она должна продолжаться в родах и/или при оперативном родоразрешении в следующих дозах:

- нефракционированный гепарин (НГ) 10000тыс ЕД в сутки п/к (2 раза в день)
- НМГ
 - а) фраксипарин 150 ICU/кг (0,3мл) 1 раз в сутки подкожно
 - б) эноксапарин 40 мг ежедневно
 - в) фраксипарин 5000 ЕД ежедневно

Продолжать терапию гепарином или переходить на варфарин на первой неделе после родов, продолжать антикоагулянтную терапию все 6 недель послеродового периода.

Терапия в родах не является абсолютным противопоказанием для региональной анестезии. Введение эпидурального катетера или спинального анестетика должно проводиться не ранее чем 4—6 часов спустя после очередной подкожной инъекции.

Лабораторные тесты: АЧТВ, ПИ, ТВ — все показатели времени коагуляции должны быть в пределах нормы. Анализ на анти-Ха-активность гепарина должен быть менее 0,2 МЕ/мл в течение предшествующих родам/операции кесарева сечения 2 недель, если нет возможности провести этот тест urgently.

К группе высокого риска также относятся:

- а) беременные с ИКС.

Профилактика тромбоэмболических осложнений у них осуществляется назначением НГ подкожно каждые 12 часов в дозе, пролонгирующей АЧТВ через 6 часов после инъекции в 2 раза (терапевтический режим) в течение всего антенатального периода. Как альтернатива, возможно применение варфарина (INR 2,5—3,0) во II триместре до середины III триместра, с последующим переходом вновь на гепарин. Наряду с гепарином применяется аспирин в низких дозах (80—100 мг/сутки). Возможно проведение профилактики НМГ фраксипарином в дозе 250 ICU/кг 1 раз в сутки п/к в течение всего антенатального периода. В послеродовом периоде в течение 1 недели гепарин/НМГ замещается варфарином.

- б) беременные с острым тромбозом или ТЭЛА в течение настоящей беременности должны получать НГ в полной дозе в/в в течение 5—10 дней, с последующим переходом на п/к инъекции (с удлинением АЧТВ через 6 часов после инъекции в 1,5 раза) вплоть до родов. Предпочтительно применение НМГ. В послеродовом периоде назначается варфарин в течение 6 недель.

* беременные с АФС наряду с гепарином должны получать низкие дозы аспирина (50—80 мг в сутки).

Группа низкого риска

- один эпизод тромбоэмболизма в анамнезе при условии:
- дополнительные факторы риска отсутствуют,
- нет семейного анамнеза.

Эти пациентки могут получать 75 мг аспирина в день в антенатальном периоде во II триместре вплоть до середины III триместра. В родах или перед кесаревым сечением назначают:

- гепарин 75000 Ед или
- фраксипарин 150 ICU/кг 1 раз в сутки п/к или
- эноксапарин 40 мг в день или
- фраксипарин 5000 Ед в день.

Эпидуральную или спинальную анестезию начинают за 2 часа до начала введения гепарина или как можно позже после первой подкожной инъекции. При этом:

- нет необходимости анализа анти-Ха-активности
- коагуляционные скрининговые тесты желательны
- время кровотечения (<10 минут) должно определяться анестезиологом для того, чтобы убедиться в нормальном взаимодействии тромбоцит/сосуд, однако обычно не требуется и не проводится.

Антикоагулянтная терапия продолжается в течение 6 недель послеродового периода. Перевод на варфарин осуществляется в течение первой недели.

Группа дополнительного риска

Эту группу составляют женщины, у которых нет семейного или личного анамнеза ВТЭ, но у которых присутствуют следующие факторы риска:

- кесарево сечение
- возраст более 35 лет
- продолжительная иммобилизация по разным причинам (токолиз и пр.)
- тяжелый гестоз;

Этим женщинам назначается:

- НГ 7500 ЕД или
- Фраксипарин 0,3 мл или
- Эноксапарин 40 мг в день или
- Фрагмин 5000ЕД в день, когда они вступают в роды или перед экстренным родоразрешением.

Если используется эпидуральная или спинальная анестезия, то инъекцию антикоагулянта откладывают минимум на 2 часа после введения катетера, или откладывается введение эпидурального катетера на 4—6 часов после инъекции гепарина, чтобы избежать пика активности гепарина. Тромбопрофилактика должна продолжаться не менее 5 дней (оптимально 7—10 дней) или, по меньшей мере, пока родильница не сможет самостоятельно полноценно двигаться в послеоперационном периоде.

С целью оптимизации ведения послеродового/послеоперационного периода нами обследовано 101 женщина накануне родоразрешения и в послеродовом/послеоперационном периоде. I группу составили 54 женщины с различными генетическими факторами тромбофилии (из них 40 были родоразрешены через естественные родовые пути и 14 — путем операции кесарева сечения). II группу составили 47 женщин с АФС (роды через естественные родовые пути произошли у 36 и путем операции кесарева сечения — у 11).

Во II группе мы выделили 2 подгруппы пациентки первой подгруппы (n=20) получали на протяжении всей беременности кортикостероидную терапию (метипред); пациентки второй подгруппы (n=27) в течение всей беременности получали антикоагулянтную терапию НМГ фраксипарином.

Контрольную группу составили 30 соматически здоровых женщин с неосложненным течением беременности и пуэрперия.

При изучении анамнеза в обеих группах обращали на себя внимание высокая частота репродуктивных потерь: синдром потери плода имел место у 63% пациенток в I группе и у 78% — во II группе (рис. 108). При этом у 26% пациенток с генетическими формами тромбофилии отмечались тромбозы в анамнезе, и у 12,8% пациенток — с АФС (рис. 109).

Из 54 обследованных в I группе у 29 (53,7%) была выявлена мутация гена MTHFR C677T (у 13 — гомозиготная, у 16 — гетерозиготная формы), у 19 (35,2%) — мутация фактора V Leiden (у 8 — гомозиготная, у 11 — гетерозиготная формы), у 4 (7,4%) — гетерозиготная мутация гена протромбина G20210A, у 2 (3,7%) — дефицит протеина C (рис. 110). Комбинированные формы тромбофилии были выявлены у 5 пациенток: у 2 — сочетание гетерозиготной формы мутации MTHFR C677T и

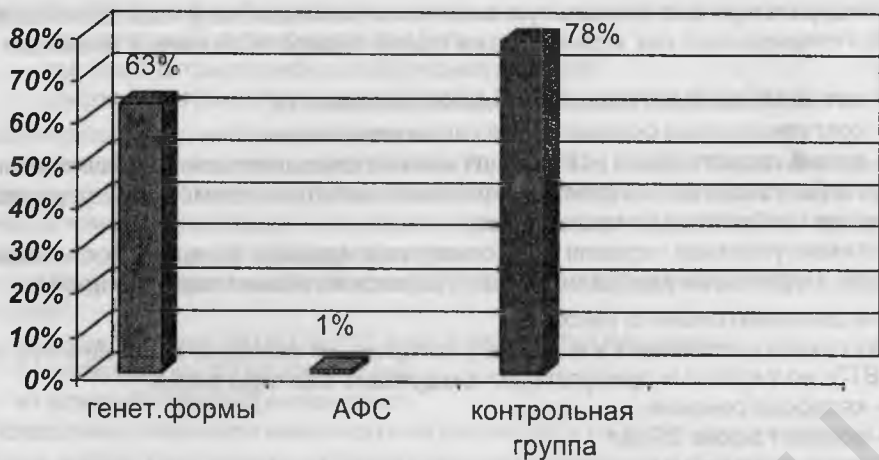


Рис. 108. Синдром потери плода у пациенток с генетическими формами тромбофилии и у пациенток с АФС.

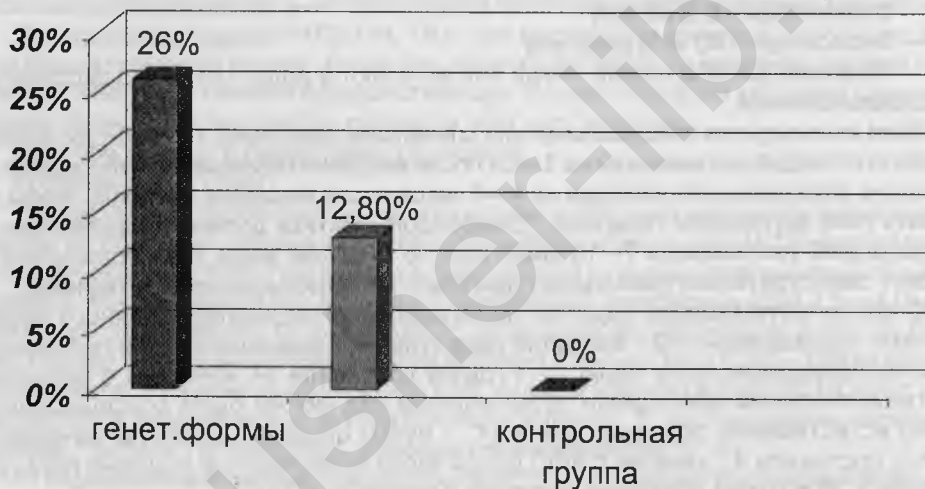


Рис. 109. Тромботический анамнез у обследованных пациенток.

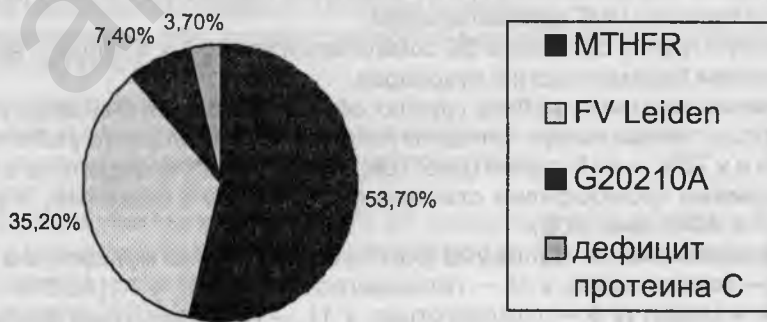


Рис. 110. Структура генетически обусловленной тромбофилии у обследованных пациенток.

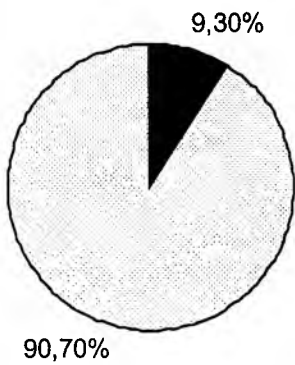


Рис. 111. Доля комбинированных форм тромбофилии у обследованных пациенток.

гетерозиготной формы мутации фактора V Leiden, у 1 — сочетание гомозиготной формы мутации MTHFR C677T, гетерозиготной формы мутации фактора V Leiden и АФС, у 1 — сочетание гомозиготной формы мутации MTHFR C677T и АФС (рис. 111).

У 14 пациенток (26%) в анамнезе имели место тромбозэмболические проявления: из них у 3 — рецидивирующие тромбозы, у 9 — один эпизод тромбоза, у 2 — тромбоз эмболия легочной артерии.

Течение настоящей беременности у 18 (33%) осложнилось гестозом (у 10 — легкая форма, у 6 — средней тяжести, у 2 — тяжелая форма). Нежелезодефицитная анемия обнаруживалась в разные сроки у 23 пациенток (43%). Экстрагенитальная патология как дополнительный фактор риска тромбозов была выявлена у 9 пациенток (табл. 112). Из них у 2 женщин с кардиальной патологией в анамнезе имела место тромбоз эмболия легочной артерии.

Таблица 112.

Экстрагенитальная патология у беременных с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу.

Заболевание	Количество обследованных (n=54)
Пролапс митрального клапана	3 (5,6%)
Первичная легочная гипертензия	2 (3,7%)
Стеноз митрального клапана	1 (1,9%)
Ожирение	2 (3,7%)
Хронический пиелонефрит	1 (1,9%)

В зависимости от формы генетического дефекта, выраженности тромбофилии, наличия кардиальной патологии и/или тромбозов в анамнезе профилактика тромбозэмболических и акушерских осложнений (самопроизвольных выкидышей, гестоза) носила дифференцированный характер и заключалась в назначении фолиевой кислоты, витаминов группы В, полиненасыщенных жирных кислот (антиоксидантов) у беременных с мутацией MTHFR C677T, антикоагулянтов (фраксипарин, фрагмин, нефракционированный гепарин), а в ряде случаев — антиагрегантов (малые дозы аспирина).

Пациентки с тромбозами в анамнезе, а также имевшие мутацию фактора V Leiden, мутацию протромбина, дефицит протеина С, получали антикоагулянтную терапию в течение всей беременности (как профилактические, так и лечебные дозы в зависимости от выраженности тромбофилии). Беременные с мутацией MTHFR C677T получали антикоагулянтную терапию курсами в зависимости от данных исследования системы гемостаза.

Из 54 беременных 2 пациентки с тяжелой формой гестоза были досрочно родоразрешены путем операции кесарева сечения в сроках 35 и 37 недель соответственно. В плановом порядке путем операции кесарева сечения были родоразрешены 12 пациенток по акушерским показаниям. Роды через естественные пути произошли у 40 пациенток (из них у 35 — в срок, у 5 — преждевременные роды).

В целях профилактики тромботических осложнений нами исследовалась система гемостаза до и после родоразрешения.

Исследование показателей общей свертываемости до операции кесарева сечения и родов не показали существенных различий с контрольной группой

(табл. 113), за исключением 3 беременных с гомозиготной формой мутации гена MTHFR C677T и гестозом, у которых отмечалось удлинение АЧТВ, снижение фибриногена и признаки гипокоагуляции на ТЭГ в рамках ДВС-синдрома. Дальнейшие исследования показали наличие коагулопатии потребления у этих больных. У одной из них обнаруживались и признаки тромбоцитопатии потребления.

Таблица 113.

**Показатели общей свертываемости крови
и функциональной активности тромбоцитов у беременных
с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу, накануне
родов и операции кесарева сечения.**

Показатели	Здоровые беременные (n=30)	Беременные с генетическими дефектами, предрасполагающими к тромбозу (n=54)
АЧТВ (сек)	32,4±1,5 p<0,05	35,2±2,4* p<0,05
Фибриноген (г/л)	3,5±1,4 p<0,05	3,3±1,2 p<0,001
ТЭГ: r+k (мм) ИТП (y.e.)	11,2±2,1 p<0,05 33,2±2,4	9,5±1,4* p<0,001 35,6±4,2* p<0,001
Агрегационная активность тромбоцитов:		
АДФ (%)	40,1±3,2	42,3±2,4** p<0,001
Адреналин (%)	38,4±4,5	40,4±1,3** p<0,001
Ристомин (%)	48,2±1,2 p<0,001	50,1±2,3** p<0,001
Проба переноса по Raby (потенциальная гиперактивность гемостаза)	—	2/54

* исключены 2 пациентки с признаками коагулопатии потребления

** исключена 1 пациентка с признаками тромбоцитопатии потребления

Несмотря на то, что результаты общеоценочных тестов достоверно не отличались от таковых в контрольной группе, уровни молекулярных маркеров тромбофилии (комплексов ТАТ и F1+2) были повышены у 12 беременных, уровень продуктов деградации фибрина/фибриногена (Д-димер) были повышены у 8 беременных, фибрин-мономеры — у 6 беременных (табл. 114). Уровень естественных антикоагулянтов АТ III и протеина С не отличался от значений в контрольной группе за исключением 2 пациенток, у которых дефицит протеина С носил наследственный характер и клинически проявлялся в форме рецидивирующих тромбозов.

Таблица 114.

**Содержание молекулярных маркеров тромбоинемии
и естественных антикоагулянтов АТ III и протеина С у беременных
с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу
до родоразрешения.**

Показатели	Соматически здоровые беременные (n=30)	Беременные с генетическими дефектами гемостаза (n=54)	
		С признаками тромбофилии (n=12)	Без признаков тромбофилии (n=42)
Уровень АТ III (г/л)	0,32±0,02 p<0,05	0,295±0,03 p<0,001	0,305±0,02 p<0,001

Показатели	Соматически здоровые беременные (n=30)	Беременные с генетическими дефектами гемостаза (n=54)	
		С признаками тромбофилии (n=12)	Без признаков тромбофилии (n=42)
Уровень протеина С (мкг/мл)	3,8±1,2 p<0,001	2,9±1,5 p<0,001	3,2±0,4* p<0,001
Активность протеина С (%)	130,8±2,2 p<0,001	125,5±3,4 p<0,05	128,2±4,6 p<0,05
APC-R	0/30	7/12	14/42
TAT (мг/л)	2,08±1,2 p<0,001	9,4±2,5 p<0,001	2,54±1,5 p<0,001
F1+2 (нмоль/л)	1,28±0,35 p<0,05	6,3±1,3 p<0,05	1,55±0,22 p<0,05
D-dimer	0/30	8/12	0/42
FM (+/-)	0/30	6/12	0/42

* за исключением 2 беременных со сниженным уровнем протеина С.

Состояние резистентности к активированному протеину С (APC-R) было выявлено у 21 беременной (38,9%): из них у 19 имела место мутация фактора V Leiden.

Беременным с признаками коагулопатии потребления с началом родовой деятельности была перелита свежезамороженная плазма в объеме 500,0мл.

У беременных, которые на протяжении всей беременности получали антикоагулянтную терапию, препарат отменялся за сутки до операции кесарева сечения или с момента начала родовой деятельности.

6 беременным, которым антикоагулянтные препараты применялись в прерывистом режиме до 37 недель и накануне родоразрешения были выявлены молекулярные маркеры тромбофилии, шестерым за сутки до планируемой операции кесарева сечения был назначен фраксипарин в дозе 0,3 мл.

В послеродовом и послеоперационном периодах состояние системы гемостаза оценивалось через 3 часа после операции кесарева сечения на 1, 3, 5, 7, 10 сутки. Основную диагностическую ценность при этом представляли молекулярные маркеры тромбофилии: TAT и ПДФ (X-Y-фрагменты). Данные общеоценочных тестов достоверно не отличались от таковых в контрольной группе, за исключением 4 родильниц после операции кесарева сечения, у которых отмечалось более высокое содержание фибриногена и 2 — с повышенной агрегационной активностью тромбоцитов (табл. 115). В то же время уровень молекулярных маркеров тромбофилии был повышен практически у всех родильниц в первые сутки после родов и операции кесарева сечения. В связи с наличием повышенных уровней молекулярных маркеров тромбофилии всем роженицам через 8 часов после родов (операции кесарева сечения) был назначен низкомолекулярный гепарин фраксипарин в дозе 0,3мл 1 раз в сутки подкожно. Последующий гемостазиологический мониторинг заключался в определении уровней молекулярных маркеров тромбофилии (TAT, F1+2, ПДФ) с целью контроля эффективности проводимой противотромботической профилактики, учитывая, что общеоценочные тесты, в частности АЧТВ, не отражают уровень антикоагуляции под действием низкомолекулярного гепарина, в отличие от нефракционированного гепарина.

Показатели общей свертываемости крови и функциональной активности тромбоцитов в первые сутки после родов / операции кесарева сечения.

Показатели	Здоровые родильницы (n=30)	Беременные с генетическими дефектами, предрасполагающими к тромбозу (n=54)	
		После кесарева сечения (n=14)	После родов через естественные родовые пути (n=40)
АЧТВ (сек)	26,3±1,4	20,4±2,3	23,5±3,5
Фибриноген (г/л)	3,8±1,1 p<0,05	4,7±0,2* p<0,001	3,9±1,2 p<0,001
ТЭГ: r+k (мм) ИТП (y.e.)	12,3±2,2 p<0,001 40,5±1,5 p<0,001	9,5±2,3** p<0,001 45,2±2,2** p<0,001	10,5±1,5 p<0,001 41,2±2,1 p<0,001
Агрегационная актив- ность тромбоцитов: АДФ (%) Адреналин (%) Ристомидин (%)	48,2±2,2 p<0,05 52,3±2,2 p<0,05 55,5±1,6 p<0,05	52,1±1,2*** p<0,001 54,2±1,5*** p<0,001 56,5±2,3*** p<0,001	50,5±2,3 p<0,001 51,1±1,4 p<0,001 53,2±0,8 p<0,001

* за исключением 4 рожениц с повышенным содержанием фибриногена

** за исключением 3 пациенток с укороченным r+k и повышенным ИТП

*** за исключением 2 рожениц с повышенной активностью тромбоцитов

Таким образом, после кесарева сечения в первые сутки тромбогенный потенциал был выше, чем после родов через естественные родовые пути. Уровень ТАТ, ПДФ, F1+2 был выше у родильниц, беременность которых осложнилась гестозом, а также у родильниц, которые не получали антикоагулянтную профилактику до родоразрешения.

Анализ динамики снижения уровня молекулярных маркеров тромбофилии показал, что после назначения фраксипарина, показатели быстрее нормализовались в группе родильниц после родов через естественные родовые пути, чем после операции кесарева сечения (рис.112, 113).

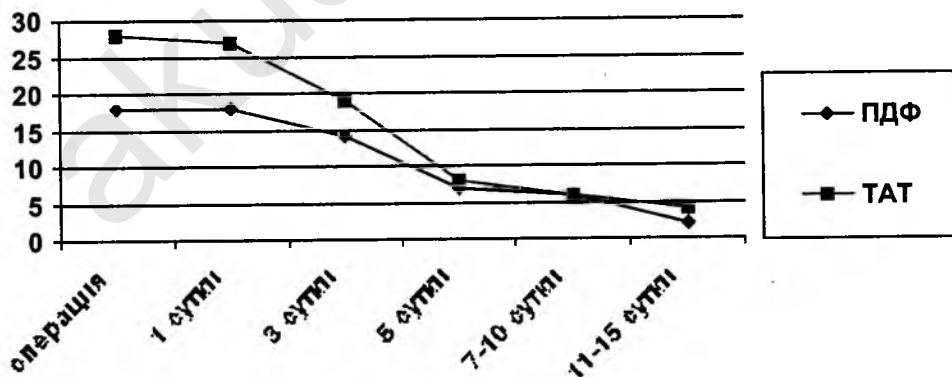


Рис. 112. Динамика снижения молекулярных маркеров тромбофилии и активации внутрисосудистого свертывания крови у родильниц с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозам в послеоперационном периоде.

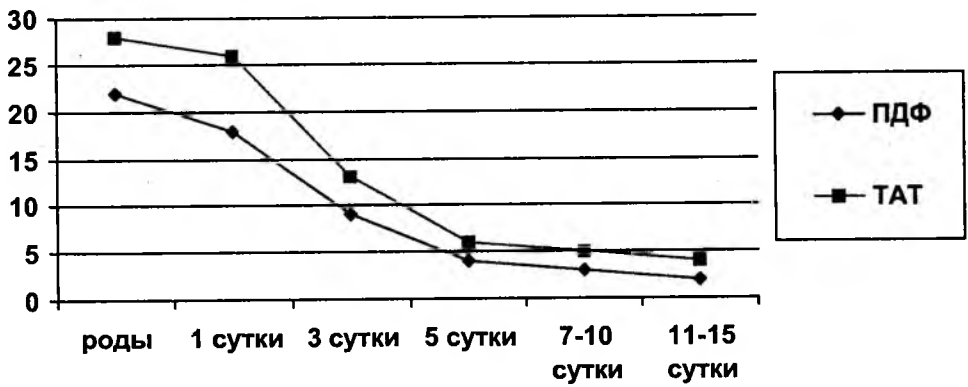


Рис. 113. Динамика снижения молекулярных маркеров тромбофилии и активации внутрисосудистого свертывания крови у родильниц с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозам после родов через естественные родовые пути.

К третьим суткам послеродового периода уровень молекулярных маркеров тромбофилии: TAT и ПДФ (рис.114) снизился до нормальных значений, за исключением 4 родильниц, что мы расценили как недостаточный антикоагулянтный эффект в результате неадекватной дозы фраксипарина. Доза фраксипарина была повышена у этих пациенток до 0,6мл: об адекватности ее свидетельствовало снижение уровня TAT и ПДФ на 5-е сутки. Уровень ПДФ (X-Y) и F1+2 нормализовался к 5 суткам, Д-димера — к 7 суткам послеродового (послеоперационного) периодов (рис.114).

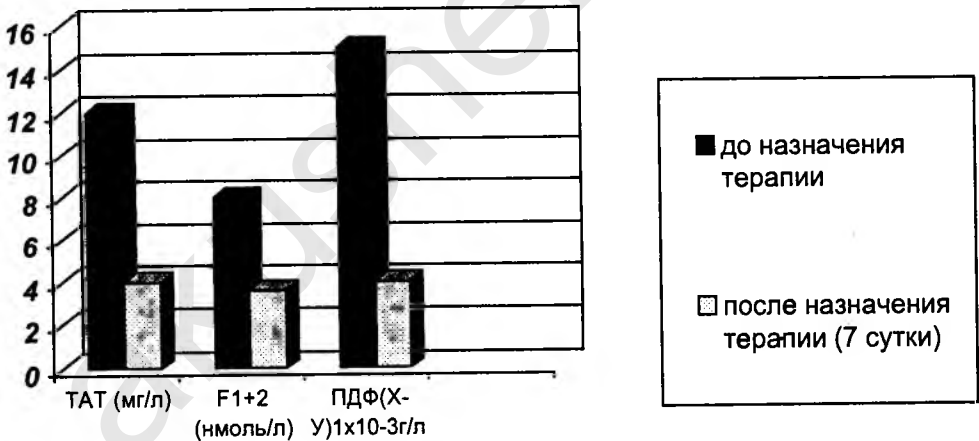


Рис. 114. Показатели содержания маркеров тромбинемии и внутрисосудистого свертывания крови родильниц с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу в послеоперационном периоде.

Уровни TAT и ПДФ определялись вплоть до 15 суток послеродового (послеоперационного) периодов в качестве маркеров эффективности проводимой антикоагулянтной профилактики (рис. 112). Следует отметить, что обнаруженная у части больных повышенная агрегационная активность тромбоцитов нормализовалась уже к 3-м суткам терапии фраксипарином.

Содержание молекулярных маркеров тромбинемии у беременных с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу после родоразрешения.

Показатели	Здоровые родильницы (n=30)	Родильницы с генетическими дефектами гемостаза (n=54)	
		После операции кеесарева сечения (n=14)	После родов (n=40)
TAT (мг/л)	3,55±1,3 p<0,001	8,7±3,2 p<0,001	5,2±2,2 p<0,001
F1+2 (нмоль/л)	2,58±0,34 p<0,001	7,4±1,2 p<0,001	5,03±1,3 p<0,001
ПДФ(X-Y)×10 ⁻³ г/л	2—10	10—40	10—40
D-dimer	6/30	10/14	10/40
FM (+/-)	8/30	10/14	17/40

В послеоперационном периоде уровень молекулярных маркеров TAT и ПДФ нормализовался на 5-е и 7-е сутки соответственно (рис. 113). На 11 сутки уровень всех молекулярных маркеров был в пределах нормальных значений (рис. 114). Однако у 2 родильниц уровень TAT и ПДФ оставался высоким на 3-й день послеоперационного периода. Кроме того, у одной родильницы с АФС, гетерозиготной мутацией FV Leiden с рецидивирующими тромбозами в анамнезе, на 5-й день произошел эпизод транзиторного нарушения мозгового кровообращения (см. клинический случай). У обеих пациенток доза фраксипарина 0,3мл и 0,6мл соответственно была расценена неэффективной и повышена до 0,6мл и 1,0мл соответственно.

Длительность послеоперационной/ послеродовой профилактики определялась в каждом случае индивидуально и зависела от целого ряда факторов.

Родильницы с изолированной мутацией MTHFR C677T получали фраксипарин в течение 2 недель, родильницы с изолированной гетерозиготной формой мутации FV Leiden и гетерозиготной мутацией гена протромбина на G20210A — в течение 3 недель.

Родильницы с комбинированными формами тромбофилии и дефицитом протеина С получали фраксипарин в течение 8 недель с дальнейшим переходом на непрямой антикоагулянт варфарин в дозе, поддерживающей интервал МНО в пределах 2,0—3,0.

В процессе наблюдения случаев тромбозов или тромбоэмболии, равно как и геморрагических осложнений не было (за исключением одного случая преходящего нарушения мозгового кровообращения у родильницы с комбинированной формой тромбофилии и рецидивирующими тромбозами в анамнезе). Послеродовый/послеоперационный периоды протекали гладко. Послеоперационный шов у всех родильниц зажил первичным натяжением.

54 беременности завершились рождением живых доношенных детей. Средняя масса новорожденных составила 3245±135,8г с индивидуальными колебаниями от 2850г до 4450г. Рост новорожденных колебался от 48 до 56 см и в среднем составил 52,3±0,95 см. Новорожденные были оценены по шкале Апгар 7—8 баллов (45%), 8—9 баллов (50%), 9—10 баллов (5%). У 3 новорожденных отмечались признаки незрелости. Ранний неонатальный период протекал без осложнений.

Во второй группе пациенток с АФС отмечалось более высокая частота акушерских осложнений в первой подгруппе, где пациентки получали кортикостероидную терапию с начала беременности (n=20).

Течение беременности в первой подгруппе у 6 беременных осложнилось развитием гестоза (у 1 — легкой степени, у 3 — средней тяжести и у 2 — тяжелая форма). Беременные с тяжелой формой гестоза были родоразрешены досрочно путем операции кесарева сечения при сроках 34—37 недель беременности.

У 18 беременных имели место нарушения маточно-плацентарного кровотока, у 14 — выраженная фетоплацентарная недостаточность и задержка внутриутробного развития плода (ЗВРП).

У 1 беременной произошла антенатальная гибель плода при сроке 28 недель беременности, в связи с чем была произведена операция малого кесарева сечения.

Преждевременные роды произошли у 7 женщин.

Преждевременная отслойка плаценты — у 2 женщин при сроках 38 и 36 недель соответственно.

Плановое кесарево сечение было произведено у 3 беременных (у 2 — миопия высокой степени, у 1 — анатомически узкий таз).

Таким образом, в первой подгруппе отмечался высокий процент акушерских осложнений (табл. 117).

Таблица 117.

Спектр осложнений у беременных с АФС на фоне кортикостероидной и антикоагулянтной терапии.

Осложнения беременности	На фоне кортикостероидной терапии (n=20)	На фоне антикоагулянтной терапии (n=27)
ОПГ-гестоз	6 (30%)	4 (15%)
Нарушение маточно-плацентарного кровотока:		
IA	2 (10%)	3 (11%)
IB	3 (15%)	5 (19%)
II степень	13 (65%)	1 (3,7%)
Фетоплацентарная недостаточность и ЗВРП	14 (70%)	2 (7,4%)
Преждевременные роды	7 (35%)	2 (7,4%)
Угроза прерывания беременности	18 (90%)	5 (19%)
ПОНРП	2 (10%)	—
Антенатальная гибель плода	1 (5%)	—

При этом роды через естественные родовые пути в I подгруппе произошли у 12 беременных и путем операции кесарева сечения были родоразрешены 8 беременных.

Во II подгруппе количество осложнений было меньшим, и в основном, эти осложнения имели место у беременных, которые антикоагулянтную терапию получали с поздних сроков (с 16—20 недель) (табл. 132). Гестоз развился у 4 беременных, при этом не было ни одного случая тяжелого гестоза (у 3 — легкой степени и у 1 — средней тяжести). ЗВРП развилась у 2 беременных, преждевременные роды — у 2 беременных. Не было ни одного случая антенатальной гибели плода и ПОНРП. Угроза прерывания беременности отмечалась у 5 беременных.

Операция кесарева сечения была произведена у 3 пациенток (у 2 в плановом порядке, у 1 — в связи с первичной слабостью родовой деятельности). Роды через естественные родовые пути произошли у 24 женщин.

Исследование показателей общей свертываемости до родоразрешения в I подгруппе выявило признаки коагулопатии потребления у 5 беременных с гестозом, что проявилось удлинением АЧТВ, r+k на ТЭГ, снижением ИТП. А то же время проба переноса на ТЭГ свидетельствовала о потенциальной гиперактивности гемостаза и коагулопатии потребления в рамках ДВС, что исключало гипокоагуляцию вследствие врожденного дефицита факторов свертывания крови или циркуляцию специфических ингибиторов свертывания крови. Уровень молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ) у этих пациенток был также высоким (табл. 118). У 10 беременных отмечалась изокоагуляция (по данным ТЭГ), несвойственная концу беременности, что также сочеталось с повышением уровней ТАТ и ПДФ. Таким образом, имело место наличие начальных проявлений активации внутрисосудистого свертывания крови, протекающих по типу хронической формы ДВС-синдрома. У 12 беременных отмечалась хронометрическая и структурная гиперкоагуляция, наряду с повышением уровня молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ) у всех 12 пациенток и ПДФ у 9 беременных.

Таблица 118.

Показатели системы гемостаза накануне родоразрешения у беременных с АФС.

Показатели	Здоровые беременные (n=30)	Беременные I подгруппы (n=20)	Беременные подгруппы (n=27)
АЧТВ (сек)	32,5±2,3	26,9±0,7* p<0,001	28,8±3,5 p>0,05
АВР (сек)	54,3±1,8	60,6±1,7* p<0,001	59,8±1,2 p>0,05
Фибриноген (г/л)	3,75±1,1	4,2±0,9 p<0,001	3,64±1,3 p>0,05
Тромбоэластограмма:			
r+k (мм)	15,8±2,3	11,3±0,7* p<0,001	16,4±2,5 p>0,05
ma (мм)	57,1±2,8	58,5±2,1 p<0,001	54,1±1,1 p>0,05
ИТП (y.e.)	28,1±3,4	35,7±7,3* p>0,05	29,4±3,5 p<0,05
АТ III (%)	87,0±7,0	80,4±2,2 p<0,001	86,4±3,3 p<0,05
АТ III (г/л)	0,354±0,024	0,326±0,037 p>0,05	0,345±0,015 p<0,05
PrC (%)	110,4±4,7	105,7±3,3 p<0,001	107,7±2,3 p<0,05
РАI-1 (1x10 ⁻³ ед/л)	12,4±0,46	13,2±2,1 p<0,001	12,9±1,2 p<0,05
ТАТ (1x10 ⁻⁶ г/л)	2,84±0,25	6,9±2,2 p<0,001	2,75±0,37 p<0,05
ПДФ(Х-У)х10 ⁻³ г/л)	3,48±0,82	19,5±5,5 p<0,001	4,5±0,53 p<0,05
Д-димер (мкг/мл)	0,5±0,07	1,8±0,2 p<0,001	0,5±0,003 p<0,05
Агрегатограмма (Т _{ma})			
АДФ 1x10 ⁻³ М (%)	45,5±2,7	65,3±7,3** p>0,05	47,3±2,3 p<0,05
АДФ 1x10 ⁻⁵ М (%)	36,2±3,3	45,5±2,5** p<0,001	38,3±2,5 p<0,05
АДФ 1x10 ⁻⁷ М (%)	15,4±3,1	23,4±2,1** p<0,001	17,5±1,6 p<0,001
Коллаген (%)	44,2±2,3	53,2±3,7** p<0,001	39,3±4,6 p>0,05
Адреналин 1x10 ⁻⁴ М (%)	48,3±3,7	59,4±2,5** p<0,001	45,6±2,1 p>0,05
Ристомицин (%)	48,6±2,3	70,4±3,5** p<0,001	49,5±1,3 p<0,001
Арахидоновая кислота 1x10 ⁻⁴ М (%)	33,1±4,2	45,3±2,1** p>0,05	30,4±1,2 p>0,05
Количество тромбоцитов 1x10 ⁹ /л	235±8,5	203,4±7,9** p>0,05	243,4±9,5 p>0,05
APC-R	1/30	4/20	6/27

* за исключением 5 беременных с коагулопатией потребления

** за исключением 3 беременных с тромбоцитопатией потребления

Агрегационная активность тромбоцитов была высокой в большинстве наблюдений, за исключением 3 беременных с тяжелым гестозом, у которых наряду с коагулопатией потребления имели место признаки тромбоцитопатии потребления, и функция тромбоцитов была соответственно снижена в среднем до $20,5 \pm 2,3\%$ с различными индукторами агрегации (АДФ, адреналин, коллаген, ристомин). В целом же по подгруппе отмечено увеличение максимальной интенсивности агрегации тромбоцитов, а также увеличение вторичной агрегации за счет совпадения вторичной и первичной волн агрегации и укорочения латентных периодов коллаген-агрегации и агрегации при индукции арахидоновой кислотой до 12—20 сек (N 30—45 сек). О высокой реактивности тромбоцитов также свидетельствовали необратимая гиперагрегация при оценке типов кривых агрегатограммы и отсутствие обратимых и двухфазных кривых при использовании слабых индукторов агрегации (АДФ $1 \times 10^{-7} \text{M}$).

В целом же по подгруппе у всех 27 беременных были отмечены признаки активации системы гемостаза по типу хронической формы ДВС-синдрома (I фаза ДВС-синдрома).

Общими закономерностями этого процесса явились признаки нарушения циркуляторной адаптации в плазменном звене в виде нестабильного развития гиперкоагуляции и несоответствие гестационному сроку, чередование гипер- и изокоагуляции на фоне ранних проявлений тромбинемии. Последнее свидетельствовало о вовлечении в процесс защитно-приспособительных механизмов системы гемостаза, а именно процесса инактивации тромбинообразования. В результате в крови в избыточном количестве обнаружился неактивный комплекс тромбин-антитромбина III (ТАТ), что можно рассматривать как наиболее ранний признак активации системы гемостаза на фоне естественной циркуляторной адаптации, присущей гестационному процессу. С другой стороны, персистирующая тромбинемия существенно истощает защитные свойства АТ III и тем самым создает условия возможного срыва компенсации защитно-приспособительных механизмов системы гемостаза по типу приобретенного дефицита активности АТ III.

Характерно, что состояние APC-R было выявлено у 4 пациенток в отсутствие мутации FV Leiden, что свидетельствовало о нарушении функционирования естественной антикоагуляционной системы в условиях циркуляции АФА.

Таким образом, стойкая активация тромбоцитарного звена гемостаза наряду с редуцированными антиагрегантными и антикоагулянтными свойствами сосудистой стенки и активацией процессов тромбино- и фибринообразования с развитием хронического ДВС-синдрома в совокупности свидетельствовали о высоком риске тромботических осложнений в послеродовом/послеоперационном периодах.

Беременным с признаками коагулопатии потребления с началом родовой деятельности или соответственно во время операции кесарева сечения была перелита свежезамороженная плазма в объеме 500,0мл.

Беременные без признаков коагулопатии потребления за сутки до операции/родов получали 1 инъекцию НМГ фраксипарина в дозе 0,3 мл подкожно.

Во II подгруппе беременных с АФС, получавших терапия НМГ фраксипарином на протяжении всей беременности, результаты общеоценочных тестов не отличались от таковых в контрольной группе. В то же время у 8 беременных отмечались повышенные уровни ТАТ и агрегационной активности тромбоцитов, что, вероятно, свидетельствовало о недостаточной эффективности проводимой антикоагулянтной профилактики. APC-R выявилась у 6 беременных в отсутствие мутации FV Leiden (табл.118).

За сутки до родов или операции кесарева сечения фраксипарин отменялся.

В послеродовом и послеоперационном периоде состояние системы гемостаза оценивалось через 3 часа после родов / операции кесарева сечения, на 1, 3, 5, 7, 10, 15 сутки. Основную диагностическую ценность при этом представляли молекулярные маркеры тромбофилии: ТАТ и ПДФ (X- Y фрагменты).

Притом, что результаты общеоценочных тестов не отличались от таковых в контрольной группе у рожениц I и II подгруппы, уровень ТАТ, ПДФ и X-Y были повышены (табл. 119) в обеих подгруппах. Более значительные отклонения значений этих тестов были обнаружены после операции кесарева сечения в обеих подгруппах.

Таблица 119.

Показатели системы гемостаза у рожениц с АФС до назначения фраксипарина.

Показатели	Роженицы с неосложненным течением послеродового периода (n=30)	Роженицы с АФС
АЧТВ (сек)	31,8±2,2	28,4±1,2 p>0,05
АВР (сек)	55,4±1,2	58,8±1,8 p>0,05
Фибриноген (г/л)	3,75±0,1	3,08±0,2 p>0,05
Тромбоэластограмма: г+k (мм)	17,8±2,2	14,2±0,7 p>0,05
та (мм)	55,6±3,8	54,6±1,2 p>0,05
ИТП (у.е.)	33,4±3,1	48,1±2,4 p<0,05
АТ III (%)	97,0±7,2	97,8±4,5 p>0,05
АТ III (г/л)	0,290±0,052	0,350±0,048 p<0,05
PrC (%)	104,8±2,8	114,4±4,2 p>0,05
РАI-1 (1x10 ⁻³ ед/л)	4,81±0,43	3,46±0,55 p>0,05
ТАТ (1x10 ⁻⁶ г/л)	6,2±0,22	22,4±1,2 p<0,001
ПДФ(X-Y)x10 ⁻³ г/л)	4,86±0,28	6,22±0,18 p>0,05
ПДФ(Д-Е)x10 ⁻³ г/л)	12,0±4,8	29,7±4,5 p<0,001
Агрегатограмма (T _{ma}) АДФ 1x10 ⁻³ М (%)	40,4±2,6	63,2±3,4 p<0,001
АДФ 1x10 ⁻⁵ М (%)	33,2±4,1	40,4±3,8 p>0,05
АДФ 1x10 ⁻⁷ М (%)	30,1±2,8	30,4±1,2 p>0,05
Коллаген (%)	36,6±1,8	52,4±2,6 p<0,05
Адреналин 1x10 ⁻⁴ М(%)	4,4±3,6	58,6±4,1 p<0,05
Ристомицин (%)	40,2±3,8	62,1±3,1 p>0,05
Арахидоновая кислота 1x10 ⁻⁴ М (%)	40,2±3,3	44,8±2,6 p>0,05

Агрегационная активность тромбоцитов была повышена также в обеих подгруппах в большей степени после операции кесарева сечения.

Таким образом, выявленная тромбофилия, как в послеродовом, так и в послеоперационном периодах была, безусловно, показанием к проведению противотромботической профилактики.

Противотромботическая профилактика у 47 рожениц проводилась через 8 часов после родов/операции кесарева сечения НМГ фраксипарином в дозе 150 ICU/кг 1 раз в сутки подкожно в течение 10 дней. Затем, после выписки из стационара, женщины, у которых в течение последней беременности были эпизоды тромбоза, получали оральный антикоагулянт варфарин в дозах, поддерживающих интервал МНО в пределах 2,0—3,0.

Анализ динамики снижения уровня молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ, ПДФ) показал, что после назначения фраксипарина показатели быстрее нормализовались после родов через естественные родовые пути (рис. 115, 116).

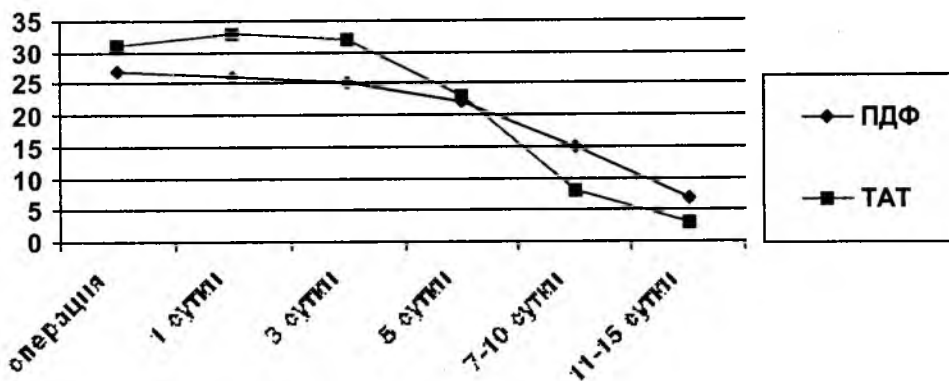


Рис. 115. Динамика снижения молекулярных маркеров тромбинемии и внутрисосудистого свертывания крови у родильниц с АФС после кесарева сечения.

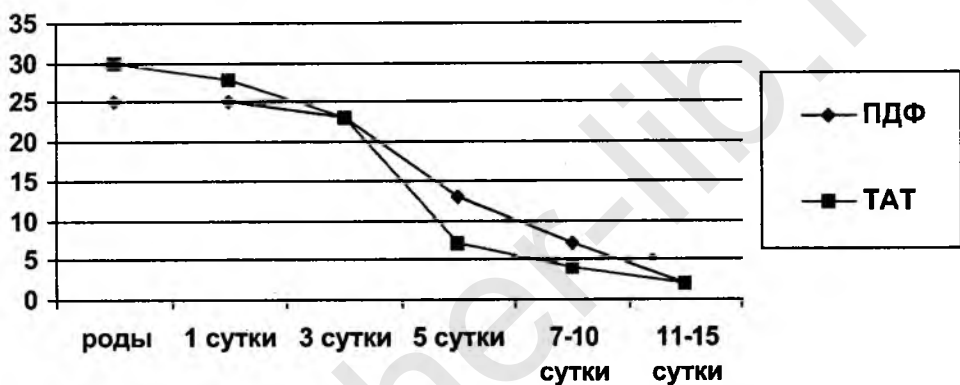


Рис. 116. Динамика снижения молекулярных маркеров тромбинемии и внутрисосудистого свертывания крови у родильниц с АФС после родов через естественные родовые пути.

Во II подгруппе к 5-м суткам послеродового периода у 3 родильниц с рецидивирующими тромбозами в анамнезе уровень как ТАТ, так и ПДФ оставался повышенным, что было расценено нами как недостаточный эффект профилактической дозы 0,3мл; после чего доза фраксипарина была повышена до 0,6мл. Снижение агрегационной активности тромбоцитов наблюдалось в среднем к 5-м суткам терапии фраксипарином.

В процессе наблюдения не было ни одного случая тромбоза или кровотечения. 47 беременностей в I подгруппе завершились рождением 46 живых детей. Средняя масса новорожденных в I подгруппе составила $3050 \pm 245,5$ г, во II подгруппе — $3345 \pm 210,5$ г. Рост в I подгруппе — $49,5 \pm 2,3$ см, во II подгруппе — $53,4 \pm 1,55$ см. В I подгруппе у 11 новорожденных отмечались признаки незрелости, во II подгруппе — у 3 новорожденных.

Послеоперационный период протекал без особенностей.

Таким образом, анализ состояния системы гемостаза в перипартальный период показал, что накануне родоразрешения небольшие изменения обнаруживались в I подгруппе беременных, которые в связи с АФС получали глюкокортикоидную терапию. В результате, помимо нарушений, свойственных АФС (повышенная агрегационная активность тромбоцитов, нарушение функции естествен-

ных антикоагулянтов и антиагрегантов), имело место наложение признаков ДВС-синдрома, который развился в результате осложненного течения беременности. Прогрессирование ДВС-синдрома потребовало назначения свежезамороженной плазмы накануне родоразрешения.

Во II подгруппе, где применялась, с нашей точки зрения, патогенетически обоснованная терапия НМГ фраксипарином на протяжении всей беременности, изменения в системе гемостаза практически не отличались от значений в контрольной группе, за исключением тех случаев, где терапия фраксипарином была начата с опозданием (с 16 недель беременности).

В то же время назначение фраксипарина в послеродовом/послеоперационном периоде позволило успешно предотвратить тромботические осложнения как в I, так и во II подгруппах.

Подводя итог, хотелось бы отметить, что в зависимости от времени выявления причин тромбофилии и наличия или отсутствия противотромботической профилактики во время беременности, мы обнаружили различное состояние системы гемостаза у беременных накануне родоразрешения.

Следует особо отметить, что в группе беременных с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу, общеоценочные тесты в подавляющем большинстве случаев не отличались от таковых в контрольной группе, что еще раз подтверждает неэффективность и малоинформативность общеоценочных (глобальных) тестов для оценки степени тромбофилии. В то же время игнорировать их накануне родоразрешения также нецелесообразно. Прежде всего, это объясняется необходимостью своевременной диагностики гемокоагуляционного состояния накануне кесарева сечения с целью профилактики повышенной кровопотери. Так, в группе беременных с генетически обусловленными дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбозу и гестозом у 3 беременных (5,6%) с гомозиготной формой мутации МТНFR С677Т накануне родоразрешения была выявлена гипокоагуляция по данным АЧТВ, ТЭГ, обусловленная коагулопатией потребления. Это позволило предотвратить кровотечение в родах и послеродовом периоде благодаря своевременной заместительной терапии свежезамороженной плазмой (СЗП).

Использование же молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ, F1+2, ПДФ выявило у 12 беременных (22%) состояние тромбофилии. Кроме того, нарушения в системе протеина С (APC-R) были выявлены у 21 беременной (38,9%): у 19 (35,2%) это состояние было связано с мутацией FV Leiden. Таким образом, у 42 беременных (77,8%) накануне родоразрешения тромбофилия клинически не проявлялась, несмотря на наличие генетических мутаций, предрасполагающих к тромбозу. Мы это связываем с проводимой на протяжении всей беременности антикоагулянтной профилактикой НМГ фраксипарином.

В группе беременных с АФС нами были выделены две подгруппы: в зависимости от получаемой во время беременности терапии к моменту родоразрешения имели место отчетливые различия в показателях системы гемостаза. В I подгруппе, где беременные на протяжении беременности в связи с АФС получали кортикостероидную терапию, практически у всех обследуемых обнаруживались признаки тромбофилии. Во II подгруппе, где во время беременности применялся фраксипарин, количество акушерских осложнений было достоверно меньше, чем в I подгруппе: в основном эти осложнения имели место у беременных, которые антикоагулянтную терапию получали с поздних сроков (16—20 недель). Признаки тромбофилии накануне родоразрешения наблюдались лишь у 8 беременных, что мы связали с неадекватностью подобранной дозы фраксипарина.

Относительно применения кортикостероидной терапии у беременных с АФС, следует отметить, что уровень молекулярных маркеров тромбофилии на фоне приема кортикостероидов не снижается. Хотя до выяснения основных механизмов патогенеза АФС кортикостероидная терапия довольно широко применялась во время беременности с целью пролонгирования ее, в последние годы

благодаря прогрессу в области клинической гемостазиологии и лучшему пониманию интимных механизмов тромбозов и привычного невынашивания через призму тромбофилии, противотромботическая профилактика во время беременности стала патогенетически обоснованной.

Для беременных с низким риском ВТЭ, получающих профилактику только в родах, а также для обеспечения оперативного родоразрешения, эти сложности значения не имеют. Возникает единственная дилемма: не противопоказана ли эпидуральная анестезия. В случае приемлемости эпидуральной анестезии необходимо определить временной режим подкожного введения препарата относительно начала региональной анестезии.

Согласно нашему опыту применения НМГ у беременных с высоким риском ВТЭ, длительная тромбопрофилактика НМГ фраксипарином ни в одном случае не осложнялась повышенной кровоточивостью в родах. Фраксипарин применялся в профилактической дозе 150 мкг (в основном по 0,3 мл) 1 раз в сутки подкожно.

Тем не менее, при оперативном родоразрешении в некоторых случаях возможна повышенная кровоточивость. Вероятно, это связано с тем, что:

— во-первых, не учитывается потенцирующий эффект других препаратов, назначаемых накануне и во время операции (седативные препараты, низкомолекулярные декстраны, вводимые в/в капельно во время операции и пр.);

— во-вторых, не учитывается возможный эффект НМГ (особенно фраксипарина) на функцию тромбоцитов, которая на фоне длительной профилактики может снижаться, вероятно, как в результате снижения уровня образуемого тромбина, который является агонистом тромбоцитов, так и в результате усиления эффектов простациклина;

— в-третьих, не выявляются подострые формы ДВС-синдрома накануне и в процессе родов/кесарева сечения.

Исходя из собственного опыта, мы считаем, что при длительной тромбопрофилактике НМГ необходимо учитывать вышеперечисленные возможные причины повышенной кровоточивости во время хирургического вмешательства. С этой целью желательно выполнять исследования анти-Ха-активности накануне оперативного родоразрешения при условии длительного применения терапевтических доз, а также избегать применения препаратов, потенцирующих эффект НМГ. К сожалению, не во всех лабораториях есть возможность выполнять это исследование. Как правило, эти исследования проводят после набора группы проб, что отодвигает результаты исследования на неделю и более. В связи с этим, имеет смысл отменять НМГ за сутки до планируемой операции кесарева сечения, снижая дозу последней инъекции НМГ до операции.

Мы отменяли НМГ фраксипарин за сутки до операции кесарева сечения или с момента начала родовой деятельности. Не было ни одного случая кровотечения в родах или повышенной кровопотери во время операции кесарева сечения.

Исследование системы гемостаза после родоразрешения продемонстрировало более значительное повышение уровня маркеров тромбофилии после операции кесарева сечения, чем после родов через естественные родовые пути. Нормализация уровня молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ и ПДФ, которые рассматривались нами и как маркеры эффективности проводимой антикоагулянтной терапии, отмечалась уже к 3—5 суткам послеродового/послеоперационного периода.

Таким образом, именно выявление состояния тромбофилии в перипартальный период у пациенток с генетическими дефектами гемостаза, предрасполагающими к тромбофилии, и АФС является показанием к антикоагулянтной профилактике.

Проведенное нами исследование позволяет сделать ряд выводов.

1. Послеродовый и послеоперационный период после операции кесарева сечения у рожениц с АФС и/или наличием одного или нескольких скрытых дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу, представляет повышенный

риск развития тромбозмембральных осложнений ввиду интенсификации внутрисосудистого свертывания крови.

2. У родильниц с АФС и/или генетическими формами тромбофилии патогенетически обоснованное применение низкомолекулярных гепаринов (фраксипарина) позволяет предотвратить развитие тромбозмембральных осложнений.

3. Дородовое и дооперационное определение маркеров тромбофилии (ТАТ, F1+2, D-dimer) позволяет как в случаях приобретенной тромбофилии (АФС), так и генетических форм тромбофилии, оценить истинный тромбогенный потенциал при отсутствии клинических его ориентиров, что способствует дифференцированному подходу к послеродовому/послеоперационному назначению НМГ (фраксипарина).

4. У пациенток, получавших терапию НМГ (фраксипарином) в течение всей беременности отмена препарата за сутки до предполагаемой операции кесарева сечения, а также оценка состояния системы гемостаза с целью выявления либо коагулопатии потребления, либо гипокоагуляции, обусловленной передозировкой фраксипарина, позволяют избежать интраоперационных геморрагических осложнений.

5. У беременных с АФС, получавших длительную терапию кортикостероидами во время беременности с целью ее пролонгирования накануне родоразрешения наблюдаются достоверно более выраженные нарушения в системе гемостаза: у 100% — повышение концентрации ТАТ, F1+2, D-dimer, а у 20% — декомпенсация гемостаза и возникновение коагулопатии потребления.

6. Дородовое дооперационное выявление признаков коагулопатии или тромбоцитопатии потребления у больных с гестозами, привычным невынашиванием в сочетании с АФС или генетической формой тромбофилии является противопоказанием для дородового или дооперационного назначения фраксипарина и показанием к профилактике интраоперационных геморрагических осложнений путем инфузии свежзамороженной плазмы.

7. Важнейшим условием профилактики послеродовых/послеоперационных тромбозмембральных осложнений у родильниц с АФС и/или генетическими формами тромбофилии является дородовое/дооперационное исследование системы гемостаза с определением маркеров тромбофилии: ТАТ, D-димер, растворимого фибрина, позволяющих оценить тромбогенный потенциал.

8. Назначение препаратов, потенцирующих эффект НМГ фраксипарина (антиагреганты, декстраны, седативные препараты, но-шпа и др.) накануне родов или кесарева сечения может стать причиной геморрагических осложнений.

9. В случаях, когда НМГ фраксипарин применялся в течение всей беременности, необходима его отмена за сутки до планового кесарева сечения или с началом родовой деятельности с возобновлением профилактики тромбозмембральных осложнений в послеродовом/послеоперационном периоде спустя 6—8 часов в дозе 150 ICU/кг (0,3—0,6мл) в течение 10—14 дней.

10. Одновременно показано исследование системы гемостаза с целью выявления признаков коагулопатии потребления накануне родоразрешения, особенно у пациенток с АФС, получавших во время беременности длительную кортикостероидную терапию с целью пролонгирования беременности. При выявлении коагулопатии потребления показана заместительная терапия свежзамороженной плазмой, а антикоагулянтная профилактика НМГ фраксипарином — только в послеродовом /послеоперационном периоде.

11. У родильниц с сочетанными формами тромбофилии (АФС и генетические формы, предрасполагающие к тромбозу, или мультигенные формы) показана длительная противотромботическая профилактика НМГ (фраксипарином) в течение 3 недель с последующим переходом на длительное применение антивитамина К варфарина в дозе, поддерживающей МНО в пределах 2,0—3,0.

Дефицит антитромбина (АТ III)

Наследственный дефицит АТ III — одно из состояний, при которых имеется семейная тенденция к тромбозам, и при котором необходима рутинная замес-

тительная терапия дефицита естественных антикоагулянтов в родах и послеродовом периоде.

При неосложненной беременности в антенатальный период не происходит значительного снижения уровня АТ III, однако имеет место некоторое снижение концентрации АТ III при родоразрешении, а затем повышение в первую неделю послеродового периода.

Для профилактики тромбозов антенатально НМГ являются антикоагулянтами выбора. Его использование предпочтительнее, чем НГ, поскольку антитромботический потенциал НМГ в меньшей степени зависит от АТ III и лучше обеспечивается маленькими молекулами фракционированного гепарина с преимущественно анти-Ха-активностью и влиянием на эндотелий (индукция экспрессии TFPI, простациклина) в условиях дефицита АТ III. Хотя в литературе появились единичные сообщения об успешной антикоагуляции НМГ при наследственном дефиците АТ III, с поддержанием анти-Ха-активности в пределах 0,05—0,2 Е/мл, в настоящее время рекомендуется использование концентрата АТ III («Кибернин», Behringwerke, Germany) с заместительной целью.

1. В день планируемого родоразрешения вводят концентрат АТ III, достигая пикового уровня 1,4Е/мл.

2. Необходимо дважды в день определять уровень активности и вводить концентрат АТ с целью поддержания постоянного уровня АТ.

3. Терапия концентратом АТ должна продолжаться в течение 3 дней послеродового периода. Одновременно назначается варфарин, который применяется в течение двух последующих месяцев с интервалом INR 2,0—3,0.

4. В случае отсутствия концентрата АТ III следует использовать свежезамороженную плазму.

Некоторые осложнения противотромботической терапии у беременных

Декстран

В последнее время декстран (в/в) стал довольно часто использоваться для «прикрытия» родов и кесарева сечения из соображений меньшего риска, чем профилактика гепарином, а также вследствие возможности применения анестезии.

Тем не менее, доказано, что декстран снижает адгезию и агрегацию тромбоцитов и, вполне вероятно, тем самым повышает риск кровотечений при эпидуральной анестезии в большей степени, чем гепаринопрофилактика. Риск кровотечения во много раз выше при одновременном применении декстрана вместе с варфарином или НГ/НМГ.

Помимо указанных гемостазиологических проблем, имеются и другие отрицательные стороны применения декстрана в акушерстве. Так, он создает помехи при тестировании группы крови на совместимость, кроме того, он может быть причиной анафилаксии. Поэтому назначения декстрана избегают у беременных с кардиальными, ренальными проблемами или аллергическими реакциями в анамнезе. Анафилактическая реакция может ассоциироваться с острым дистрессом плода в результате маточного гипертонуса в течение нескольких минут после начала инфузии и приводит к тяжелой брадикардии плода с возможной последующей смертью или тяжелыми неврологическими осложнениями.

Согласно отчету Royal College о профилактике тромбозов, риск побочных эффектов при лечении декстраном у беременных превышает риск тромбозов и его применение возможно, по меньшей мере, лишь после рождения ребенка.

Варфарин

В очень редких случаях женщины вступают в роды на фоне терапии высокими дозами оральных антикоагулянтов — производными кумарина (фенилин, варфарин и пр.). В таких случаях немедленно переливается (струйно) свежезамороженная плазма (СЗП) для возмещения источников факторов коагуляции так, чтобы протромбиновое время, значение МНО вернулись к нормальному. Однако следу-

ет учитывать, что возмещение с помощью СЗП факторов свертывания у матери, не корректирует их уровень у плода. Поэтому необходимо проводить родоразрешение наименее травматичным способом и контролировать внутреннее кровотечение у плода. В/в витамин К и СЗП назначаются новорожденному немедленно.

Пуэрперий и 6 недель послеродового периода у матери прикрываются гепарином и варфарином, как было описано выше.

Гепарин

Если женщина вступает в роды или нуждается в urgentном родоразрешении на фоне в/в гепарина, то инфузия прекращается немедленно. Гепариновая активность падает до нормального уровня в течение часа. Если требуется более быстрое снижение активности гепаринов крови, то вводится протамина сульфат. Следует помнить, что СЗП бесполезна в такой ситуации, так как циркулирующий в крови гепарин предотвращает образование тромбина, независимо от уровня коагулянтов. В то же время при назначении протамина сульфата надо учитывать, что его передозировка может привести к внутрисосудистому свертыванию крови, имитируя ДВС-синдром или эффект протамина-сульфатного теста, но не уже *in vitro*, а *in vivo*. Простая формула для расчета нейтрализующей дозы протамина сульфата следующая:

Протамина сульфат, необходимый для нейтрализации гепарина в мг =
= концентрация гепарина плазмы x объем плазмы x 0,01МЕ/мл.

Объем плазмы при беременности может составить в среднем 50 мл на кг веса тела. Например, женщине весом 65кг с концентрацией гепарина плазмы 0,8МЕ/мл требуется:

$0,8 \times (65 \times 50) \times 0,01 = 26$ мг протамина сульфата.

Учитывая потенциальную опасность передозировки протамина сульфатом, в настоящее время разрабатываются альтернативные антидоты и сорбенты гепарина.

Хотя наиболее частым осложнением гепаринотерапии является кровотечение, к наиболее тяжелым, опасным для жизни, хотя к счастью не таким частым, осложнениям относятся иммунные гепарин-индуцированные тромбоцитопения и тромбоз (ГИТ).

Список литературы

1. Балуда В.П., Деянов И.И., Балуда М.В. и др. Под редакцией Балуды В.П. Профилактика тромбозов. // Саратов, изд-во Саратовского ун-та, 1992. — 175 с.
2. Баркаган З.С. и др. Руководство по гематологии. В 2-х томах. // М., 1985.
3. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. // М., Изд-во «Ньюдиамед», 2000г. — 148с.
4. Баркаган З.С., Баркаган Л.З., Бишевский К.М. и др. Контроль за противотромботической терапией и коррекция ее побочных эффектов. II Всесоюзная конференция «Поражения сосудистой системы и гемостаз». // Тез. докл., М., 1983. — 394—396 с.
5. Баркаган З.С., Бувеч Е.И., Тимошенко Е.А. Тромбофилия, характеризующаяся резистентностью к антикоагулянтам прямого действия. // Тер. архив, 1995. — №7. — с. 50—52.
6. Белоусов Ю.Б. Тромболитическая терапия. // Кардиология, 1986. — Т.26. — №9. — с. 116—118.
7. Бокарев И.Н. Современные достижения и проблемы противотромботической терапии. // Тер. архив, 1993. — т 65. — №10. — с. 101—105.
8. Бокарев И.Н., Люсов В.А. и др. Лечение тромбозов и геморрагий в клинике внутренних болезней. // М., 1976.

9. Гусейнов Ч.С. Тромбозы и фибринолиз в хирургии: проблемы этиопатогенеза и нарушений гемостаза: избранные главы. // М., 1998. — 296 с.
10. Кондрашевская М.В., Ляпина Л.А. Тромботический и антитромботический эффекты комплексного соединения низкомолекулярного гепарина с серотонином. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины, 1996. — т.122. — №11. — с. 530—532.
11. Лакин К.М. и др. Оценка антиагрегационной активности лекарственных средств. // М., 1981.
12. Макаров В.А. Разработка новых методов диагностики и лечения нарушений гемостаза. // «Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза под редакцией А.И. Воробьева, З.С. Баркагана, Барнаул, 2000. — с. 35—38.
13. Макаров О.В., Озолия Л.А. Венозные тромбозы в акушерстве и гинекологии. // М., 1998. — 262 с.
14. Малиновский Н.Н., Козлов В.А. Антитромботическая и тромболитическая терапия в хирургии. // М., «Медицина», 1976. — 424 с.
15. Панченко В.М. Вопросы патогенеза, клиники и лечения тромбозов и эмболий. // Панченко В.И., Колесникова Н.И., Владимирова А.В. — М: ЦОЛИУВ, 1978. — 56 с.
16. Прелатов В.А., Глушач И.А. Профилактика артериальных тромбозов. // Грудная хирургия, 1997. — №2. — с. 140.
17. Ферстрате М., Фермилен Ж. Тромбозы. // Первод с английского Е.В. Кабаевой. Под редакцией И.А. Бокарева. // М., Медицина, 1986. — 332 с.
18. Чазов Е.И. Болезни сердца и сосудов. // Руководство для врачей. В 4-х томах. — Т2. — М., 1992.
19. Чазов Е.И. Фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. Руководство для врачей. // М., 2000. — 416 с.
20. Чазов Е.И., Лакин К.М. Антикоагулянты и фибринолитические средства. // М., Медицина, 1977. — 312 с.
21. Шиффман Ф.Д. Патофизиология крови. // Перевод с английского. Москва, Санкт-Петербург, Невский диалект. // Biom Publisher, 2000. — 446 с.
22. Acar J., Jung B., Boissel J.P., et al. AREVA: multicenter randomised comparison of low-dose versus standard-dose anticoagulation in patients with mechanical prosthetic heart valves. // Circulation, 1996; 94(9): 2107—2112.
23. Altman R., Scazziota A., Rouvier J. Efficacy of unfractionated heparin, low molecular weight heparin and both combined for releasing total and free tissue factor pathway inhibitor. // Haemostasis, 1998; 28: 229—235.
24. Amiral J., Marfaing-Koka A., Ponez M., Meyer D. The biological basis of immune heparin-induced thrombocytopenia. Platelets, 1998; 9: 77—91.
25. Anonymous. Lepirudin for heparin-induced thrombocytopenia. // Med. Lett., 1998; 40: 92—93.
26. Atrial Fibrillation Investigators. Risk factors for stroke and efficacy of antithrombotic therapy in atrial fibrillation. // Analysis of pooled data from five randomized controlled trials. // Arch. Intern. Med., 1994; 154: 1449—1457.
27. Bachelot-Loza C., Saffroy R., Lasne D., Chatellier G., Aiach M., Rendu F. Importance of the FcgRIIIa-Arg His₁₃₁ polymorphism in heparin-induced thrombocytopenia diagnosis. // Thromb. Haemost., 1998; 91: 761—766.
28. Badarocco MA., Vessey M. Recurrence of venous thromboembolic disease and use of oral contraceptives. // BMJ, 1974; 1: 215.

29. Baudo F., Caimi T.M., Redaelli R., et al. Emergency treatment with recombinant tissue plasminogen activator of pulmonary embolism in a pregnant woman with antithrombin III deficiency. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990; 163: 1274.
30. Bergqvist D., Benoni G., Bjorgell O., et al. Low-molecular weight heparin (enoxaparin) as prophylaxis against venous thromboembolism after total hip replacement. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 696—700.
31. Bertrand M.E., Legrand V., Boland J., et al. Randomized multicenter comparison of conventional anticoagulation versus antiplatelet therapy in unplanned and elective coronary stenting. The Full Anticoagulation versus Aspirin and Ticlopidine (FANTASTIC) Study. // *Circulation*, 1998; 98: 1597—1603.
32. Borris L.C., Lassen M.R. Thromboprophylaxis with low-molecular weight heparin after major orthopaedic surgery is cost effective. // *Drugs*, 1996; 52 [Suppl] 7: 42—46.
33. Brill-Edwards P., Ginsberg J.S. Safety of withholding antepartum heparin despite previous venous thromboembolism (VTE). // *Thromb. Haemost.*, 1999; 2097 A [Suppl]: 664(abst).
34. Cannegeiter S.G., Rosendaal F.R., Wintzen A.R., van der Meer FIM, Vandenbroucke JP., Briet E. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 11—17.
35. CAPRIE Steering Committee. A randomized, blinded. Trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events (CAPRIE). // *Lancet*, 1996; 348: 1329—1339.
36. Carlsson L.E., Santoso S., Baurichter G., et al. Heparin-induced thrombocytopenia: new insights into the impact of the FcγRIIIa-R/His₁₃₁ polymorphism. // *Blood*, 1998; 92: 1526—1531.
37. Chan W.S., Anand S., Ginsberg J.S. Anticoagulation of pregnant women with mechanical heart valves: a systemetic review of the literature. // *Arch. Intern. Med.*, 2000; 160: 191—196.
38. Clagett G.P., Anderson F.A.Jr., Geerts W.H., et al. Prevention of venous thromboembolism. // *Chest*, 1998; 114: 5315—5605.
39. Collier B.S. Platelet GPIIb/IIIa antagonists: the first anti-integrin receptor therapeutics. // *Clin. Invest.*, 1997; 99: 1467—1471.
40. Collins J.L., Aster R.H., Moghaddam M., Piotrowski MA., Strauss TR., McFarland JG. Diagnostic testing for heparin-induced thrombocytopenia (HIT): an enhanced platelet factor 4 complex enzyme linked immunosorbent assay (PF4 ELISA). // *Blood*, 1997; 90 [Suppl 1]: 461a(abst).
41. Collins R., MacMahon S., Flather M., et al. Clinical effects of anticoagulant therapy in suspected acute myocardial infarction: systematic overview of randomised trials. // *Br. Med. J.*, 1996; 313: 652—659.
42. Conard J., Horellou MH., Van Dreden P., Lecompte T., Samama M. Thrombosis and pregnancy in congenital deficiencies in antithrombin III, protein C or protein S: study of 78 women. // *Thromb. Haemost.*, 1990; 63: 319.
43. Dahl OE., Andersson G., Aspelin T. et al. Prolonged thromboprophylaxis following hip replacement surgery: results of a double-blind, prospective, randomized, placebo-controlled study with dalteparin (Fragmin). // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 26—31.
44. Das S.K., Cohen A.T., Edmondson R.A., Meilssari E., Kakkar V.V. Low-molecular weight heparin versus warfarin for prevention of recurrent venous thromboembolism: a randomiswd trial. // *World J. Surg.*, 1996; 20: 521—527.

45. Davie E.W., Fujikawa K., Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. // *Biochemistry*, 1991; 30: 10363—10370.
46. Declos G.L., Davila F. Thrombolytic therapy for pulmonary embolism in pregnancy: a case report. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1986; 155: 375.
47. Denomme G.A., Warkentin T.E., Horsewood P., Sheppard J.I., Warner M.N., Kelton J.G. Activation of platelets by sera containing IgG1 heparin-dependent antibodies: an explanation for the predominance of the FcγRIIIa «low responder» (His₁₃₁) gene in patients with heparin-induced thrombocytopenia. // *J. Lab. Clin. Med.*, 1997; 130: 278—284.
48. Douketis J.D., Ginsberg J.S., Borrows R.F., et al. The effects of long-term heparin therapy during pregnancy in bone density. // *Thromb. Haemost.*, 1996; 75: 254.
49. Elg M., Gustafsson D., Carlsson S. Antithrombotic effects and bleeding time of thrombin inhibitors and warfarin in the rat. // *Thromb. Res.*, 1999; 94: 187—197.
50. Eriksson B.I., Ekman S., Kalebo P., Zachrisson B., Bach D., Close P. Prevention of deep-vein thrombosis after total hip replacement: direct thrombin inhibition with recombinant hirudin, CGP 39393. // *Lancet*, 1996; 347: 635—639.
51. Eriksson B.I., Wille-Jorgensen P., Kalebo P., et al. A comparison of recombinant hirudin with a low-molecular weight heparin to prevent thromboembolic complications after total hip replacement. // *N. Engl. J. Med.*, 1996; 337: 1329—1335.
52. Eriksson B.I., Wille-Jorgensen P., Kalebo P., et al. A comparison of recombinant hirudin with a low-molecular weight to prevent thromboembolic complications after total hip replacement. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 1329—1335.
53. Fagher B., Ahlgren M., Astedt B. Acute massive pulmonary embolism treated with streptokinase during labor and the early puerperium. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, 1990; 69: 659.
54. Flessa H.C., Kapstrom A.B., Glueck M.J., et al. Placental transport of heparin. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1965; 93: 570.
55. Flossdorf T., Breulmann M., Hopf H.B. Successful treatment of massive pulmonary embolism with recombinant tissue-type plasminogen activator (rt-PA) in a pregnant woman with intact gravidity and preterm labor. // *Intensive Care Med.*, 1990; 16: 454.
56. Fox I., Dawson A., Loynds P., et al. Anticoagulant activity of hirulog, a direct thrombin inhibitor, in humans. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 69: 157—163.
57. Friederich P., Levi M., Biemond B., et al. Low-molecular-weight inhibitor of PAI-1 (XR5118) promotes endogenous fibrinolysis and reduces postthrombolysis thrombus growth in rabbits. // *Circulation*, 1997; 96: 916—921.
58. Furie B., Furie B.C. Molecular and cellular biology of blood coagulation. // *N. Engl. J. Med.*, 1992; 326: 800—806.
59. Gershlick A.H. Antiplatelet therapy following stent deployment. // *Heart*, 1997; 78:24—26.
60. Gibbs C.S., Coutre S.E., Tsiang M., et al. Conversion of thrombin into an anticoagulant by protein engineering. // *Nature*, 1995; 378: 413—416.
61. Ginsberg J., Hirsh J., Turner D.C., Levine M., Burrows R. Risks to the fetus of anticoagulant therapy during pregnancy. // *Thromb. Haemost.*, 1989; 61: 197.
62. Ginsberg J., Kowalchuk G., Hirsh J., Brill-Edwards P., Burrows R. Heparin therapy during pregnancy: risks to the fetus and mother. // *Arch. Intern. Med.*, 1989; 149: 2233.
63. Ginsberg J.S., Wells P.S., Brill-Edwards P., et al. Antiphospholipid antibodies and venous thromboembolism. // *Blood*, 1995; 86: 3685—3691.

64. Gould M.K., Dembitzer A.D., Sanders G.D., Garber A.M. Low molecular weight heparins compared with unfractionated heparin for treatment of acute deep vein thrombosis. A cost-effectiveness analysis. // *Ann. Intern. Med.*, 1999; 130: 789—799.
65. Greinacher A., Volpel H., Janssens U., et al., for the HIT Investigators Group. Recombinant hirudin (lepirudin) provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study. // *Circulation*, 1999; 99: 73—80.
66. Greinacher A. Recombinant hirudin for the treatment of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin T.E., Greinacher A., eds. *Heparin-induced thrombocytopenia*. // New York: Marcel Dekker Inc, 2000; 313—338.
67. Hail J.A.G., Paul R.M., Wilson K.M. Maternal and fetal sequelae of anticoagulation during pregnancy. // *Am. J. Med.*, 1980; 68: 122.
68. Harrison L., Johnson M., Massicotte M.P., Crowther M., Moffat K., Hirsh J. Comparison of 5-mg and 10-mg loading doses in initiation of warfarin therapy. // *Ann. Intern. Med.*, 1997; 126: 133—136.
69. Hayashi J.I., Nakazawa S., Oguma F., Miyamura H., Eguchi S. Combined warfarin and antiplatelet therapy after St. Jude mechanical valve replacement for mitral valve disease. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1994; 23: 672—677.
70. Hefley W.F., Nelson C.L., Puskarich-May C.L. Effect of delayed admission to the hospital on the preoperative prevalence of deep-vein thrombosis associated with fractures about the hip. // *J. Bone. J. Surg.*, 1996; 78-A: 581—583.
71. Heit J.A., Elliott C.G., Torowbridge A.A., Morrey B.F., Gent M., Hirsh J. Ardeparin sodium for extended out-of-hospital prophylaxis against venous thromboembolism after total hip or knee replacement. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial [see comments]. // *Ann. Intern. Med.*, 2000; 132: 853—861.
72. Hursting M.J., Alford K.L., Becker J.C.P., et al. Novastan (brand of argatroban): a small-molecule, direct thrombin inhibitor. // *Semin. Thromb. Haemost.*, 1997; 23: 503—516.
73. Hynes R.O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. // *Cell*, 1992; 69: 11—25.
74. Ito M., Smith A.R., Lee M.L. Ticlopidine: a new platelet aggregation inhibitor. *Clin Pharm* 1992; 11: 603—617.
75. Iturbe-Alessio I., del Carmen Fonseca M., Mutcinick O., et al. Risks of anticoagulant therapy in pregnant women with artificial heart valves. // *N. Engl. J. Med.*, 1986; 315: 1390.
76. Kearon C., Gent M., Hirsh J., et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 901—907.
77. Kearon C., Gent M., Hirsh J., et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for the first episode of idiopathic venous thromboembolism. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 901—907.
78. Klement P., Liao P., Bajjar L. A novel approach to arterial thrombolysis. // *Blood*, 1999; 94: 2735—2743.
79. Kock H.J., Schmit-Neuerburg K.P., Hanke J., Rudofsky G., Hirche H. Thromboprophylaxis with low-molecular weight heparin in outpatients with plaster-cast immobilisation of the leg. // *Lancet*, 1995; 346: 459—461.
80. Kutteh W.H. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin in superior to low-dose aspirin alone. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1996; 174: 1584.

81. Landefeld C.S., Beyth R.J. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction and prevention. // *Am. J. Med.*, 1993; 95(3): 315—328.
82. Laskin C.A., Bombardier C., Hannah M., et al. Prednisone and aspirin therapy in women with recurrent fetal loss and autoantibodies: a randomized controlled trial. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 148.
83. Laupacis A., Albers G.W., Dalen J.E., Dunn M.I., Jacobson A.K., Singer D.E. Anti-thrombotic therapy in atrial fibrillation. *Chest*, 1998; 114(5): 5795—5895.
84. Lederle F.A. Heparin prophylaxis for medical patients? // *Ann. Intern. Med.*, 1998; 128(9): 768—770.
85. Leung L.L.K., Gibbs C.S. Modulation of thrombin's procoagulant and anticoagulant properties. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 577—580.
86. Limet R., Lepage G., Grondin C.M. Thromboembolic complications with the cloth-covered Starr-Edwards aortic prosthesis in patients not receiving anticoagulants. // *Ann. Thorac. Surg.*, 1977; 23: 529.
87. Magnani H.N. Organ (danaparoid sodium) use in the syndrome of heparin-induced thrombocytopenia. / *Platelets*, 1997; 8: 74—81.
88. Marder V.J., Sherry S. Thrombolytic therapy: current status. // *N. Engl. J. Med.*, 1988; 318:1585.
89. McTaggart D.R., Ingram T.G. Massive pulmonary embolism during pregnancy treated. // *Med. J., Aust.*, 1977; 1:18.
90. Meschengieser S.S., Fondevila C.G., Frontroth J., Santarelli M.T., Lazzari M.A. Low-intensity oral anticoagulation plus low-dose aspirin versus high-intensity oral anticoagulation alone: a randomized trial in patients with mechanical prosthetic heart valves. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1997; 113(5): 910—916.
91. Monreal M., Lafoz E., Olive A., del Rio L., Vedia C. Comparison of subcutaneous unfractionated heparin with a low molecular weight heparin (Fragmin) in patients with venous thromboembolism and contraindications to coumarin. // *Thromb. Haemost.*, 1994; 71: 7.
92. Newman P.M., Chong BH. Further characterization of antibody and antigen in heparin-induced thrombocytopenia. // *Br. J. Haematol.*, 1999; 107: 307—309.
93. Newman P.M., Swanson R.L., Chong B.H. Heparin-induced thrombocytopenia: IgG binding to PF4-heparin complexes in the fluid phase and cross-reactivity with low molecular weight heparin and heparinoid. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 80: 292—297.
94. Paborsky L.R., Law V.S., Mao C.T., et al. A peptide derived from a tissue factor loop region functions as a tissue factor-factor VIIa antagonist. // *Biochemistry*, 1995; 34: 15328—15333.
95. Palmer A.J., Koppenhagen K., Kirchhof B., Weber U., Bergemann P. Efficacy and safety of low molecular weight heparin, unfractionated heparin and warfarin for thrombo-embolism prophylaxis in orthopaedic surgery: a meta-analysis of randomised clinical trials. // *Haemostasis*, 1997; 27: 75—84.
96. Patrono C., Collier B.S., Dalen J.E., et al. Platelet active drugs: the relationships among dose, effectiveness and side effects. // *Chest*, 1998; 114(5): 4705—4885.
97. Pedersen-Bjergaard U., Andersen M., Hansen P.B. Drug-induced thrombocytopenia: clinical data on 309 cases and the effect of corticosteroid therapy. // *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 1997; 52: 183—189.
98. Planes A., Samama M.M., Lensing A.W.A., et al. Prevention of deep vein thrombosis after hip replacement: comparison between two low-molecular weight heparins, tinzaparin and enoxaparin. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 81: 22—25.

99. Planes A., Vochelle N., Darmon J.Y., Fagola M., Bellaud M., Huet Y. Risk of deep-venous thrombosis after hospital discharge in patients having undergone total hip replacement: double-blind randomised comparison of enoxaparin versus placebo. // *Lancet*, 1996; 348: 224—228.
100. Pouleur H., Buyse M. Effects of dipyridamole in combination with anticoagulant therapy on survival and thromboembolic events in patients with prosthetic heart valves. A meta-analysis of the randomised trials. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1995; 110: 463—466.
101. Prandoni P., Lensing A.W.A., Cogo A., et al. The long-term clinical course of acute deep venous thrombosis. // *Ann. Intern. Med.*, 1996; 125: 1—7.
102. Rai R., Cohen H., Dave M., et al. Randomised controlled trial of aspirin and aspirin plus heparin in pregnant women with recurrent miscarriages associated with phospholipid antibodies (or antiphospholipid antibodies). // *BMJ*, 1997; 514: 225.
103. Riess F.C., Lower C., Seeling C. Recombinant hirudin as a new anticoagulant during cardiac operations instead of heparin: successful for aortic valve replacement in man. // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 1995; 110: 265—267.
104. Sadler J.E. Thrombomodulin structure and function. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 392—395.
105. Sallah S., Thomas D.P., Roberts H.R. Warfarin and heparin-induced skin necrosis and the purple toe syndrome: infrequent complications of anticoagulant treatment. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 78: 785—790.
106. Samama M.M., Cohen A.T., Darmon J.Y., Desjardins L., Eldor A., Janbon C., et al. A comparison of enoxaparin with placebo for the prevention of venous thromboembolism in acutely ill medical patients. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 793—800.
107. Sanson B.J., Lensing A.W.A., Prins M.H., et al. Safety of low-molecular-weight heparin in pregnancy: a systemic review. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 81: 668.
108. Schor K. Antiplatelet drugs. A comparative review. // *Drugs*, 1995; 50: 7—28.
109. Seiler S.M. Thrombin receptor antagonists. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1996; 22: 223—232.
110. Sibai B.M., Lindheimer M., Hauth J., et al. Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 339: 667.
111. Sibai B.M. Thrombophilias and adverse outcomes of pregnancy: What should a clinician do? // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 50.
112. Stringer K.A., Lindenfeld J. Hirudins: antithrombin anticoagulants. // *Ann. Pharmacother.*, 1992; 26: 1535—1540.
113. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Adjusted-dose warfarin versus low-intensity, fixed-dose warfarin plus aspirin for high-risk patients with atrial fibrillation: stroke prevention in atrial fibrillation III randomized clinical trial. // *Lancet*, 1996; 348: 633—638.
114. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Warfarin versus aspirin for prevention of thromboembolism in atrial fibrillation: stroke prevention in atrial fibrillation II study. // *Lancet*, 1994; 343: 687—691.
115. The OASIS-2 Investigation. Effects of recombinant hirudin (lepirudin) compared with heparin on death, myocardial infarction, refractory angina, and revascularization procedures in patients with acute myocardial ischemia without ST elevation: a randomized trial. // *Lancet*, 1998; 353: 429—438.
116. Tomer A. A sensitive and specific functional flow cytometric assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. // *Br. J. Hematol.*, 1997; 98: 648—656.
117. Topol E.J., Byzova T.V., Plow E.F. Platelet GPIIb/IIIa blockers. // *Lancet*, 1999; 353: 223—227.

118. Wallis D.E., Workman D.L., Lewis B.E., Steen L., Pifarre R., Moran J.E. Failure of early heparin cessation as treatment for heparin-induced thrombocytopenia. // *Am. J. Med.*, 1999; 196: 629—635.
119. Warkentin T.E., Chong B.H., Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. // *Thromb. Haemost.*, 1998; 79: 1—7.
120. Warkentin T.E., Elavathil L.J., Hayward C.P.M., Johnston M.A., Russett J.I., Kelton J.G. The pathogenesis of venous limb gangrene associated with heparin-induced thrombocytopenia. // *Ann. Intern. Med.*, 1997; 127: 804—812.
121. Warkentin T.E., Greinacher A. Laboratory testing for heparin-induced thrombocytopenia. Heparin-induced thrombocytopenia. // New York: Marcel Dekker Inc, 2000; 211—244.
122. Warkentin T.E., Hong A.P. Frequency of upper limb deep venous thrombosis (UL-DVT) in relation to central venous catheter (CVC) use in patients with heparin-induced thrombocytopenia (HIT): evidence for interaction of systemic (HIT) and local (CVC) prothrombotic risk factors. // *Blood*, 1998; 92 [Suppl 1]: 500a—501a (abst).
123. Warkentin T.E., Kelton J.C. Thrombocytopenia due to platelet destruction and hypersplenism. In: Hoffman R., Benz EJ Jr., Shattil S.J., et al., eds. *Hematology. // Basic principles and practice*, 3rd ed. New York: Churchill Livingstone Inc, 1999; 2138—2154.
124. Warkentin T.E., Kelton J.G. Timing of heparin-induced thrombocytopenia (HIT) in relation to previous heparin use: absence of an anamnestic immune response, and implications for repeat heparin use in patients with a history of HIT. // *Blood*, 1998; 92 [Suppl 1]: 182a(abst).
125. Warkentin T.E., Sikov W.M., Lillicrap D.P. Multicentric warfarin-induced skin necrosis complicating heparin-induced thrombocytopenia. // *Am. J. Hematol.*, 1999; 62: 44—48.
126. Warkentin T.E. Clinical picture of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin T.E., Greinacher A., eds. *Heparin-induced thrombocytopenia*. // New York: Marcel Dekker Inc, 2000; 43—80.
127. Warkentin T.E. Heparin-induced thrombocytopenia, heparin-induced skin lesions, and arterial thrombosis. // *Thromb. Haemost.*, 1997; 77 [Suppl]: 562(abst).
128. Warkentin T.E. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis, frequency, avoidance and management. // *Drug Saf.*, 1997; 17: 325—341.
129. Warkentin T.E. Limitations of conventional treatment options for heparin-induced thrombocytopenia. // *Semin. Hematol.*, 1998; 35 [Suppl 5]: 17—25.
130. Warkentin T.E. Pseudo-heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin T.E., Greinacher A. *Heparin-induced thrombocytopenia*. // New York: Marcel Dekker Inc, 2000: 245—260.
131. Warkentin T.E. Venous limb gangrene (VLG) complicating warfarin treatment of deep-vein thrombosis (DVT) in metastatic carcinoma. // *Blood*, 1999; 94 [Suppl 1]: 114b(abst).
132. Weitz J.I. Low molecular weight heparins. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 688—698.
133. Wilde M.I., Markham A. Danaparoid: a review of its pharmacology and clinical use in the management of heparin-induced thrombocytopenia. // *Drugs*, 1997; 54: 903—924.
134. Wutschert R., Piletta P., Bounameaux H. Adverse skin reactions to low molecular weight heparins: frequency, management and prevention. // *Drug Saf.*, 1999; 20: 515—525.

Глава XX.

Принципы профилактики тромбоэмболических осложнений у беременных с заболеваниями клапанов сердца

Тромбозы, тромбоэмболии и тромботические осложнения занимают важнейшее место в структуре материнской заболеваемости и смертности. По обобщенным данным мировой литературы, на 1000 родов приходится 2—5 тромбоэмболических осложнений. 50% всех венозных тромбоэмболических осложнений возникают у женщин в возрасте до 40 лет и, как правило, связаны с беременностью. Этому есть множество патофизиологических объяснений.

Даже при физиологически протекающей беременности, особенно в III триместре, наступает гиперкоагуляция, что в первую очередь связано с увеличением почти на 200% I, II, VIII, IX, X факторов свертывания крови в сочетании со снижением фибринолитической активности и естественной антикоагулянтной (антитромбин III, протеин S) активности. Помимо этого, в III триместре скорость кровотока в венах нижних конечностей уменьшается наполовину, что обусловлено частично механической обструкцией беременной маткой венозного оттока, частично — снижением тонуса венозной стенки из-за гормональной перестройки организма во время беременности.

Таким образом, тенденция к стазу крови в сочетании с гиперкоагуляцией создает условия, благоприятствующие тромбообразованию.

Особое место в структуре осложнений у беременных с заболеваниями сердца занимают тромбозы, тромбоэмболии и тромботические осложнения.

В то же время среди всех причин материнской смертности от экстрагенитальных заболеваний пороки сердца различной этиологии составляют 15—20%, и удельный вес этой причины материнской смертности продолжает оставаться высоким. Во многом это связано и с успехами в области кардиохирургии: все больше женщин с оперированным сердцем достигают детородного возраста, но вместе с тем все больше частота тромбозов и тромботических осложнений, являющихся основной причиной летальности у этих больных.

Так, кардиогенный церебральный эмболизм является механизмом, ответственным за почти 20% всех ишемических инсультов — около 100 000 инсультов в Северной Америке и более чем 1 000 000 — в мире. Эти ишемические эпизоды происходят при различных кардиальных расстройствах (рис. 117).

Как и при других кардиоваскулярных проблемах, антитромботическая терапия у больных с заболеваниями клапанов сердца и искусственными клапанами сердца зависит от патогенеза и степени риска тромбоза и тромбоэмболии. В качестве субстрата тромбоза могут выступать кальцифицированные или дезнотелизированные клапаны сами по себе (при этом обнажается субэндотелиальный коллаген), гетеротопные или ксенотопные клапанные ткани, а также искусственные материалы (искусственные клапаны сердца), являющиеся наиболее тромбогенными.

Однако наиболее тромбогенным субстратом является сам тромб, особенно «свежая» поверхность тромба, содержащая тромбин, адсорбированный на фибрине. Поэтому свежий (недавний) тромбоэмболизм всегда представляет высокий риск рецидивирующего тромбоэмболизма.

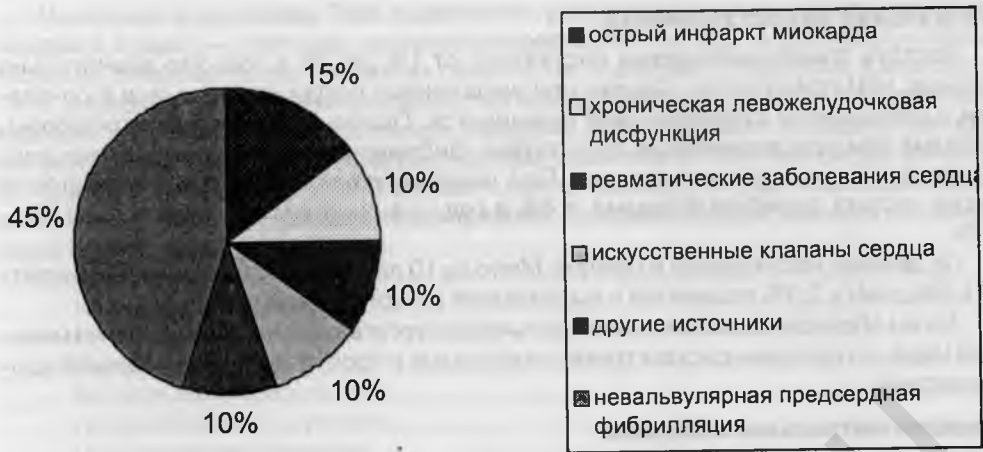


Рис. 117. Кардиальные расстройства, связанные с церебральным эмболизмом.

Таким образом, показаниями для антикоагулянтной терапии являются следующие:
СРЕДНИЙ РИСК

- IA. Предсердная фибрилляция (хроническая или пароксизмальная) наряду с митральной регургитацией или после антикоагуляции в течение 1 года при митральном стенозе.
- IB. Предсердная фибрилляция (хроническая или пароксизмальная) вне зависимости от типа или тяжести заболевания клапанов сердца у больных старше 60 лет в сочетании с одним или более из следующих условий:
 - а) систолическое артериальное давление > 160 мм рт ст;
 - в) предшествующий тромбоз эмболизм;
 - с) снижение функции левого желудочка (умеренное) выраженное, глобальное (региональное);
 - d) женщины в возрасте старше 75 лет.
2. Синусовый ритм при значительно расширенном левом предсердии (>55 мм М-эхо при эхокардиографии).
3. Наличие сердечной недостаточности или выраженной дисфункции левого желудочка.

ВЫСОКИЙ РИСК.

4. Предсердная фибрилляция (хроническая или пароксизмальная) при митральном стенозе в течение первого года антикоагуляции.
5. Тромбоз эмболизм в анамнезе.
6. Искусственные клапаны сердца.

Следовательно, риск развития тромбоз эмболических осложнений у пациентов с заболеваниями клапанов сердца зависит от того, какой клапан или клапаны поражены, степени дисфункции левого желудочка, размера левого предсердия, наличия фибрилляции предсердий или тромбоз эмболизма в анамнезе.

Митральный стеноз

Митральный стеноз является одной из наиболее частых причин тромбоз эмболизма среди заболеваний клапанов сердца. Одновременно со стенозом может персистировать и митральная регургитация. Тромбы с одинаковой частотой могут локализоваться как на стенке левого предсердия, так и в ушке. Тромбоз эмболизм развивается более чем у 10% больных митральным стенозом. Фибрилляция предсердий повышает риск тромбоз эмболизма в 5—18 раз. Частота тромбоз эмболизма составляет около 12% в год.

Митральная недостаточность

Частота тромбоэмболизма составляет от 1% до 3% в год, что значительно меньше, чем при стенозе. Однако при выраженной регургитации и/или в сочетании с митральным стенозом риск повышается. Особенно высок риск тромбоэмболизма при одновременном присутствии фибрилляции предсердий и/или снижении функции левого желудочка. При наличии указанных выше 3-х факторов риска частота тромбоэмболизма > 4% в год, и в среднем развивается у 14%—18%.

По данным наблюдений в клинике Мэйо за 10 лет тромбоэмболизм развивается в среднем у 2,9% пациентов с выраженной регургитацией в год.

Таким образом, выраженная митральная регургитация ассоциируется, по меньшей мере, со средним риском тромбоэмболизма и требует антикоагулянтной профилактики.

Пролапс митрального клапана

Пролапс митрального клапана (ПМК) является наиболее частой патологией клапанов сердца и встречается у 2%—6% в общей популяции. Почти 17% молодых женщин имеют пролапс митрального клапана.

Несмотря на то, что связь между ПМК и церебральной ишемией была обнаружена уже 20 лет назад, исследования последующих лет не подтверждают каузальную роль ПМК как такового. С нашей точки зрения противоречия относительно связи между ПМК и тромбоэмболизмом имеют научное объяснение.

Несмотря на существующее мнение, что ПМК без регургитации не представляет угрозы здоровью человека, в свете новых открытий в области гемостазиологии, общей биологии и генетики, взгляд на проблему ПМК и течение гестационного процесса у женщин с ПМК без регургитации претерпел изменения.

Относительно возросла частота ПМК, что, вероятно, связано с улучшением диагностических возможностей и появлением возможности ЭХО-диагностики. Благодаря этому даже появилась новая классификация С. Oakley, 1997, пролапсов митрального клапана, которая включает так называемый ЭХО-ПМК, когда ПМК выявляется только при УЗИ:

Первичный ПМК

1. ЭХО-ПМК
2. «Хлопающий» МК
3. Синдром ПМК
4. Пролапс в результате «истощения» или, иначе «изнашивания»:
 - Клапаны не изменены
 - Иногда наследственный
 - Имеет место у меньшей части пациентов с ПМК
 - Развивается реже, в пожилом возрасте

Вторичный ПМК

1. Связанный с врожденным заболеванием соединительной ткани.
 - синдром Марфана
 - синдром Эллерса-Данло типа IV
 - несовершенный остеогенез
 - Pseudoxantoma elasticum
2. Связанный со структурными заболеваниями сердца:
 - вторичные дефекты предсердной перегородки
 - гипертрофическая кардиомиопатия
 - ревматический кардит
 - постинфекционные заболевания сердца

Поскольку в основном ПМК выявляется у молодых женщин репродуктивного возраста и реже — у женщин среднего возраста (около 1%), то этот факт, с одной стороны, способствовал изучению течения гестационного процесса у женщин с ПМК, а с другой, укоренению мнения, что некоторые формы ПМК — явление преходящее и не угрожающее здоровью женщины, и вообще один из вариантов нормы (в частности ЭХО-ПМК и другие формы первичного ПМК без регургитации).

Тем не менее, первичный ПМК часто носит наследственный характер и передается как аутосомно-доминантный признак. Как правило, для членов этих семей характерно:

- Астеническое сложение
- Синдром «прямой кишки»
- Впалая грудь
- Высокое аркообразное нёбо
- Гипермобильность суставов
- Односторонняя гипомастия

Однако отсутствуют другие критерии, достаточные для диагностики синдрома Марфана.

Учитывая вышеизложенное, можно оспорить мнение о том, что ПМК первичны. В таких случаях: ПМК здесь — в рамках недифференцированных или малодифференцированных заболеваний соединительной ткани. Это подтверждается еще и тем, что в некоторых семьях определяется и мутация гена фибриллина. В свою очередь, это еще раз дает основание для пересмотра вопросов классификации ПМК, а также «безобидности» ПМК.

Хотя большинство неспецифических симптомов, таких как боли в груди, головокружение, одышка, усталость у большинства пациентов могут отсутствовать, наличие их не всегда объясняется нарушением гемодинамики, в особенности когда они слабо выражены. Термин «синдром митрального клапана» может быть отнесен лишь к небольшой части пациентов с пролапсом митрального клапана и наличием симптомов, которые в то же время могут быть результатом аутосомных расстройств с дисбалансом симпатической и парасимпатической систем:

Возможные механизмы синкопальных состояний у пациентов с синдромом ПМК включают:

- Тахикардии
- Ортостатический феномен, ведущий к снижению внутригрудного объема крови и соответственно усилению пролапса клапана.
- Тахикардия
- Гипотензия
- Аритмии (часто эктопический вентрикулярный ритм в ответ на нагрузку)
- Низкий ударный объем
- Симпатические нарушения
- Парасимпатические нарушения
- Лабильность АД

Специфические симптомы являются в большей степени результатом аритмий, чем прогрессирование митральной регургитации. Учащенное сердцебиение имеет различный генез даже при невыраженной регургитации и может быть вызвано как наджелудочковым, так и желудочковым эктопическим ритмом. Смерть от остановки сердца в связи с аритмией и ПМК — довольно редкое явление. Однако здесь следует отметить, что если имеют место нарушение ритма у беременных или женщин с ПМК наряду с тромбофилией, риск тромбоэмболических осложнений чрезвычайно высок.

Благодаря открытию феномена АФС и выделения целого ряда заболеваний и патологических состояний, которые чаще характеризуются циркуляцией антифосфолипидных антител, среди которых заболевания соединительной ткани в том числе, появилась возможность исследовать репродуктивную функцию и течение гестационного процесса у женщин с ПМК. Исследование тем более интересно, что с одной стороны, большое количество ПМК рассматриваются как проявление аномалий соединительной ткани, а с другой, появились данные, свидетельствующие о достоверной связи между поражением клапанов и циркуляцией АФА. Кроме того, в настоящее время пересматриваются клинические критерии АФС, и большинство ведущих исследователей склоняются к мысли, что наряду с другими признаками патологии клапанов сердца может быть одним из клинических проявлений АФС.

Поскольку АФС является ведущей причиной тромботических осложнений и невынашивания беременности, гестоза, внутриутробной гибели плода и прочих осложнений беременности, нами была предпринята попытка исследовать течение беременности, родов и послеродового периода у женщин с ПМК без регургитации, без циркуляции АФА и с циркуляцией АФА. Среди 87 беременных с ПМК у 37 (42,4%) обнаруживались АФА.

Группа пациенток с ПМК и циркуляцией АФА была подразделена нами на 2 подгруппы: первую составили 22 женщины, клинико-лабораторные признаки которых удовлетворяли диагнозу АФС; вторую (15) беременные с ПМК и циркуляцией АФА (без классических и клинических признаков АФС).

Самым частым типом потерь в нашем исследовании в подгруппе с ПМК и АФС были самопроизвольные выкидыши, которые составили 35% в подгруппе. Потери плода в сроке более 10 недель гестации отмечались у 23% обследованных в I подгруппе. Здесь следует отметить, что потери плода в сроке более 10 недель оценивались нами как диагностически наиболее значимый критерий диагностики АФС, поскольку после 10 недель гестации практически нивелируется влияние других возможных причин прерывания беременности (хромосомные aberrации, гормональные нарушения), и патологическая роль АФА выходит на передний план.

Тромбозов в анамнезе в нашем исследовании не было ни у одной пациентки. Что касается лабораторных признаков АФС, то мы обнаружили циркуляцию ВА у 100% пациенток и в I, и во II подгруппах, АКА — у 31,8% в I подгруппе и 53,3% — во II подгруппе. Сочетание ВА и АКА также имело место у 31,8% в I подгруппе и 53,3% — во II подгруппе.

В первой подгруппе у всех пациенток обнаруживалась повышенная активность тромбоцитов. При этом максимальная агрегационная активность отмечалась при стимуляции индуктором ристомицином. Это косвенно свидетельствует о повреждении эндотелия, что является одним из патогенетических звеньев АФС. Отмечалось повышение уровня циркуляции молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ.

Во второй подгруппе — у беременных с ПМК и циркуляцией АФА без признаков АФС, повышенная агрегационная активность тромбоцитов наблюдалась у 60%.

Исходя из вышесказанного, как в первой, так и во второй подгруппе имела место активация гемостаза с гипертромбинемией, повышение агрегационной активности тромбоцитов, а также в ряде случаев активацией внутрисосудистого свертывания крови. Однако характерно, что в первой подгруппе признаки хронического ДВС обнаруживались несколько чаще (22,7%), чем во второй (19%), хотя разница недостоверна. Поскольку пациентки с анатомическими дефектами строения половых органов, хромосомными нарушениями и выраженными гормональными нарушениями в исследование не включались, тромбофилия в результате циркуляции АФА являлась, безусловно, независимой причиной потерь плода в анамнезе и осложнений настоящей беременности.

Исходя из множественных эффектов тромбофилии, индуцированной циркуляцией АФА, мы применяли патогенетическую терапию противотромботическими препаратами у пациенток с ПМК и АФС. А, учитывая, что патологические из-

менения имеют место уже с самых ранних сроков беременности, мы считаем, наиболее оправданным как можно более раннее начало этой терапии.

С момента постановки диагноза АФС, часть беременных (10 женщин) из первой подгруппы получали профилактические дозы нефракционированного гепарина в сочетании с низкими дозами аспирина (10 тыс. ЕД + 75 мг в сутки), часть (12 женщин) — низкомолекулярный гепарин фраксипарин также в профилактической дозе 150 ICU/кг.

Касаясь вопроса терапии у беременных с ПМК и АФС, следует заметить, что гемодинамических нарушений в течение беременности у них не наблюдалось.

В нашем исследовании выявление АФА, а точнее диагностика АФС у беременных с ПМК явились показанием для профилактики его разнообразных проявлений в течение беременности по мере ее прогрессирования, в родах, послеродовом и послеоперационном периодах. С учетом современных знаний о патогенезе АФС мы предприняли попытку купировать тромбофилическое состояние, вызванное АФС, низкомолекулярным гепарином фраксипарином, учитывая его преимущества в сравнении с нефракционированным гепарином.

В целях профилактики как тромботических осложнений, так и невынашивания беременности и синдрома задержки развития плода 10 беременным с пролапсом митрального клапана и АФС с момента диагностики АФС была начата антитромботическая терапия низкомолекулярным гепарином фраксипарином в дозе 150 ICU/кг 1 раз в сутки п/к в течение всей беременности, а также в послеродовом и послеоперационном периодах в течение 10 дней с контролем количества тромбоцитов. Уже на 10-й день применения низкомолекулярного гепарина в первой подгруппе беременных с ПМК и АФС ни в одном случае не отмечалось гиперфункции тромбоцитов при использовании в качестве индукторов стимуляции адреналина, АДФ и ристомидина. Произошла нормализация функции тромбоцитов у всех пациенток с исходной гиперактивацией в тромбоцитарном звене. По-видимому, данный эффект связан с влиянием фраксипарина на эндотелий и с усилением простаглицлиновых эффектов.

Контрольное определение маркеров внутрисосудистого тромбообразования (ТАТ и ПДФ) во время беременности нами проводилось одновременно с оценкой тромбоцитарного и плазменного звеньев. В подавляющем большинстве случаев (91%) на фоне длительного применения НМГ (фраксипарина) не было выявлено признаков внутрисосудистого тромбообразования. У двух беременных (9%) в сроке 32—34 недели на фоне применения фраксипарина, а также токолитической терапии был получен положительный результат на наличие маркеров ДВС. При этом имела место клиника угрозы прерывания беременности и нарушение маточно-плацентарного кровотока 1а-б степени. В анамнезе у одной из них в сроке 30—31 недель имела место преэклампсия, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты с последовавшей антенатальной гибелью плода. Наличие маркеров внутрисосудистого свертывания на фоне антитромботической терапии мы связали с неадекватной антикоагуляцией, в связи с чем доза НМГ у них была повышена.

В результате проведенной терапии с применением НМГ (фраксипарина) в постоянном режиме 22 беременности в первой подгруппе закончились рождением 22 живых детей.

Ведение беременности во второй подгруппе у пациенток с ПМК и циркуляцией АФА отмечалось от такового в первой подгруппе. Обусловлено это было тем, что согласно классическим клиническим признакам АФС они не отвечали необходимым критериям АФС, тем не менее, согласно последним данным, круг клинических проявлений АФС все более расширяется, и некоторые исследователи склонны причислять ПМК к одному из клинических признаков АФС. Тем не менее, согласно обобщенным данным мировой литературы, беременные с циркуляцией антител к фосфолипидам и без отягощенного акушерского анамнеза представляют более низкую группу риска потерь плода и осложнений беременности по отношению к беременным с АФС, однако риск в этой группе достоверно выше, чем в общей популяции.

Оптимальная тактика ведения беременности у таких пациенток на сегодняшний день не определена. Мы считаем, что в случае выявления серологических маркеров АФС, оценка степени риска и подход к профилактике потерь плода и других осложнений беременности должен быть дифференцированным с учетом соматического, семейного, гинекологического анамнеза и клинико-гемостазиологических особенностей течения настоящей беременности. Возможные варианты ведения таких пациенток включают применение малых антиагрегантов и спазмолитиков в различных комбинациях, классической антиагрегантной терапии и антикоагулянтной терапии с использованием как низкомолекулярных гепаринов, так и нефракционированного гепарина курсами различной продолжительности. В случаях выраженной тромбофилии и наличия дополнительных факторов риска тромбоза пациентам с циркуляцией АФА показана антикоагулянтная терапия в постоянном режиме.

Основной предпосылкой применения антикоагулянтной терапии у беременных во второй подгруппе с циркулирующей АФА и ПМК без клинических признаков АФС в нашем исследовании являлись лабораторные признаки активации тромбоцитарного и/или плазменного звеньев гемостаза, а также признаки активации внутрисосудистого свертывания крови. Гиперфункция тромбоцитов была выявлена у 9 пациенток (60% в подгруппе), повышение уровня ТАТ у 12 пациенток (80% в подгруппе), повышенный уровень Д-димера у 2 пациенток (13% в подгруппе). Следует сразу отметить, что в процессе ведения беременности, клиника угрожающего или начавшегося самопроизвольного выкидыша и/или клинические и доклинические признаки плацентарной недостаточности по данным доплерометрического исследования присутствовали у всех 15 беременных на различных сроках беременности.

С целью купирования исходных гемостазиологических нарушений пациенткам назначалась антикоагулянтная профилактика с применением низкомолекулярного гепарина курсами длительностью от 10 до 30 дней с учетом преморбидного фона и эффективности терапии. 1-ый курс проводился, как правило, в 7—9 недель гестации, затем 2 раза в триместр.

Вопрос о необходимости дополнительных курсов антикоагулянтной профилактики решался нами на основе клинико-гемостазиологических показателей. При этом в первую очередь оценивались клиническая характеристика течения беременности с дальнейшим лабораторным подтверждением. Особое значение в этом случае мы придавали ранней доплерометрии в сроке 20—21 неделя, позволяющей выявить доклинические признаки плацентарной недостаточности. Адекватная коррекция именно на стадиях начальных нарушений давала наилучший результат.

Между курсами антикоагулянтной терапии с применением НМГ все беременные второй подгруппы получали антиагрегантные препараты в постоянном режиме. При выборе оптимальных сроков антикоагулянтной терапии мы руководствовались, прежде всего, попыткой обеспечить оптимальные условия для трофобластической трансформации, адекватную глубину инвазии трофобласта и дальнейшую полноценную плацентацию.

Выбор срока 27—31 неделя для антикоагулянтной терапии преследовал цель предупредить не только потерю плода и задержку его развития, но также тромбозы и тромбозэмболии, поскольку в эти сроки беременности происходит физиологически предусмотренное повышение свертывающего потенциала крови. В условиях же циркуляции АФА эффекты предшествующей тромбофилии могут проявляться клинически.

При назначении фраксипарина выявленные ранее признаки тромбофилии купировались, как правило, на 7—10 день терапии. Кроме того, отмечалась положительная динамика клинической картины и доплерометрии.

Несмотря на курсовую терапию фраксипарином и применение, в отсутствие фраксипарина, антиагрегантов, проявления плацентарной недостаточности имели место у 6 пациенток (40% в подгруппе), из них у 2 отмечалась задержка внутри-

угробного развития плода. У одной пациентки, находящейся на терапии антиагрегантами (курантил) произошла антенатальная гибель плода при сроке 35 недель.

Таким образом, у больных ПМК и циркуляцией АФА одним из наиболее неблагоприятных аспектов течения беременности является высокий риск невынашивания беременности, ЗВРП с явлениями тромбофилии, которые являются постоянными признаками течения беременности.

Наш опыт применения НМГ фраксипарина, как в первой, так и во второй подгруппах показал высокую его эффективность. Противотромботическая терапия с применением низкомолекулярного гепарина в профилактических дозах позволила предотвратить тромбофилию в первой подгруппе и купировать развившийся хронический ДВС-синдром в первой и второй подгруппах за первые 7—10 дней терапии.

Снижение как уровня молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ, Д-димер), так и нормализация агрегационной активности тромбоцитов при этом являются лучшими маркерами эффективности проводимой терапии наряду с оценкой клинических признаков. Наилучшие результаты в первой подгруппе были получены у пациенток с ПМК и АФС, которые с ранних сроков беременности получали НМГ в непрерывном режиме.

Таким образом, чем раньше начата профилактика НМГ у беременных с ПМК и циркуляцией АФА как в рамках классического АФС, так и при циркуляции АФА без классических признаков АФС, тем лучше исходы беременности.

Результаты нашего исследования показали, что течение беременности у женщин с ПМК без признаков регургитации и при отсутствии циркуляции АФА, не имеет каких-либо особенностей, отличных от контрольной группы. В то же время, сочетание ПМК и циркуляции АФА значительно осложняет течение беременности, что характерно для АФС. Своевременно начатая патогенетическая терапия с использованием противотромботической профилактики на протяжении всей беременности позволяет не только предупредить развитие тромботических осложнений, но и пролонгировать беременность вплоть до срочных родов.

Таким образом, дородовое консультирование женщин с ПМК должно включать не только исследование гемодинамики и выраженность кардиальной патологии, но и обязательное исследование системы гемостаза с целью выявления АФА, в особенности учитывая, что на сегодняшний день ПМК относят к одному из клинических состояний, часто сопровождающих АФС.

Заключение

— Течение беременности и родов у пациенток с ПМК без циркуляции АФА, регургитации, нарушений ритма сердца достоверно не отличается от такового у соматически здоровых беременных.

— Определение циркуляции антифосфолипидных антител у беременных с ПМК и тромботическими осложнениями в анамнезе и/или синдромом потери плода является важным диагностическим мероприятием, позволяющим установить наличие АФС с целью своевременного предотвращения рецидива этих осложнений.

— У беременных с ПМК без регургитации и нарушений ритма сердца АФС является самостоятельным фактором тромбофилии, отягощающим течение беременности, как развитием тромботических осложнений, так и синдромом потери плода.

— Применение НМГ в профилактической дозе в течение всей беременности у 100% больных ПМК с АФС и синдромом потери плода позволило пролонгировать беременность вплоть до своевременных родов и предупредить развитие тромботических осложнений.

— Течение беременности у 100% беременных с ПМК, циркуляцией АФА и без признаков регургитации и нарушений ритма сердца сопровождалось угрозой прерывания беременности на различных сроках.

— Применение НМГ фраксипарина (с ранних сроков беременности) у беременных с ПМК и циркуляцией АФА наиболее эффективно для профилактики синдрома потери плода и неосложненного течения гестационного процесса.

— Наличие АФС или циркуляции АФА без клинических признаков АФС у родильниц с ПМК является патогенетическим обоснованием для проведения профилактики послеродовых и послеоперационных тромбозомболических осложнений НМГ фраксипарином в профилактической дозе.

— Наличие ПМК у беременных без признаков регургитации, нарушений ритма сердца и в отсутствие циркуляции АФА не является показанием для родоразрешения в специализированном кардиологическом родильном доме.

— Выявление АФА, а также установление диагноза АФС у беременных с ПМК является фактором риска осложненного процесса и показанием для раннего назначения противотромботической профилактики (10 000 ЕД нефракционированного гепарина + 75 мг аспирина, либо 150 ICU/кг фраксипарина) в течение всей беременности у беременных с АФС и курсами у первобеременных с циркуляцией АФА.

— Выявление волчаночного антикоагулянта должно осуществляться с использованием не только скринирующих методов, но и с обязательным проведением коррекционных и подтверждающих проб с фосфолипидами.

— Контроль эффективности противотромботической профилактики, проводимой как с помощью НМГ фраксипарина, так и нефракционированного гепарина в сочетании с аспирином, подразумевает определение уровней молекулярных маркеров тромбофилии ТАТ, F1+2, D-димера, а также агрегационной активности тромбоцитов.

— Снижение уровня молекулярных маркеров тромбофилии и изначально повышенной агрегационной активности тромбоцитов свидетельствует об эффективности проводимой терапии.

Наиболее часто источником церебральных эмболов при ПМК являются вальвулярные тромбы. Другими источниками могут быть тромбы в левом предсердии или ушке левого предсердия в сочетании с пароксизмальной или хронической предсердной фибрилляцией. К счастью, массивные церебральные инфаркты менее характерны для ПМК в отсутствие фибрилляции предсердий. В большинстве случаев при ПМК отмечаются транзиторные ишемические атаки (ТИА) или микроинсульты.

Стеноз аортального клапана

Тромбозомболизм при патологии аортального клапана встречается значительно реже, чем при заболеваниях митрального клапана и чаще ассоциируется с другими факторами риска — фибрилляцией предсердий или эндокардитом. Точная статистика относительно частоты тромбозомболий при патологии аортального клапана отсутствует. По данным наблюдений 68 пациентов с выраженной аортальной регургитацией в клинике Мэйо, частота тромбозомболизма составила 0,8% в год и 4,4% за 10 лет.

При аортальном стенозе большинство эмболов обызвествлены, они обнаруживаются при исследовании глазного дна в ретинальных артериях и могут быть клинически бессимптомны. Риск эмболизма не коррелирует с выраженностью стеноза. Эмболы могут смещаться и стать причиной тромбозомболии чаще при катетеризации сердца или операции на сердце. При заболеваниях аортального клапана чаще встречаются преходящая молекулярная потеря зрения и окклюзия ретинальной артерии, чем инфаркт мозга. Клинические наблюдения свидетельствуют, что относительно малый размер эмболов связан с кальцификацией в области аортального стеноза.

Факторы риска системного эмболизма

Фибрилляция предсердий

Один эпизод фибрилляции предсердий в отсутствие других заболеваний сердца, легких или гипертензии только у 2—3% пациентов в возрасте до 60 лет осложняется тромбозомболизмом. В то же время фибрилляция предсердий является наиболее значимым фактором риска и маркером тромбозомболизма при хронической или пароксизмальной фибрилляции предсердий. Частота фибрилляции предсердий прогрессивно повышается с возрастом вне зависимости от пола. Не связанная

с заболеваниями клапанов фибрилляция предсердий манифестирует в среднем в возрасте 60—64 лет и старше и развивается у 2%—5% лиц старше 60 лет в общей популяции; тромбоэмболические осложнения при этом составляют 5%—7% в год. У молодых женщин детородного возраста с заболеваниями клапанов сердца фибрилляция предсердий почти всегда ассоциируется с заболеваниями митрального клапана. Тромбоэмболизм часто развивается вскоре после приступа фибрилляции. В исследовании Szekely 33% тромбоэмболий развивается в течение первого месяца и 66% в течение 12 месяцев после приступа фибрилляции предсердий.

Как уже указывалось, у пациенток с пароксизмальной фибрилляцией или хронической фибрилляцией предсердий даже в отсутствие заболеваний клапанов риск тромбоэмболизма повышен.

Размеры левого предсердия

Расширение левого предсердия, как правило, характерно для заболеваний митрального клапана, однако размер левого предсердия не является самостоятельным фактором риска тромбоэмболизма. Тем не менее, ряд исследований свидетельствует о том, что при невальвулярной фибрилляции предсердий увеличенные размеры левого предсердия могут повышать риск инсульта. Исходя из этого, можно сделать вывод, что увеличение левого предсердия у пациенток с синусовым ритмом является непрямой причиной тромбоэмболизма, поскольку предрасполагает к развитию фибрилляции предсердий. Поэтому у пациенток с резко увеличенным левым предсердием необходима антикоагулянтная профилактика, особенно во время беременности и в послеродовом периоде.

Предшествующий эмболизм

Предшествующий тромбоэмболизм, в особенности недавний, является наиболее серьезным фактором риска последующего рецидива, поскольку, как ранее уже указывалось, остаточный тромб представляет собой высоко тромбогенный субстрат. Частота возвратного тромбоэмболизма при заболевании клапанов сердца достигает 10% в год и, в целом, развивается у 30%—75% пациентов. Наиболее часто рецидив происходит в течение первых 6 месяцев после первой манифестации. Смертность от рецидива тромбоэмболизма у пациенток с митральным стенозом высокая и достигает 42%. Таким образом, беременные с заболеваниями клапанов сердца и тромбоэмболизмом относятся к категории высокого риска и нуждаются в адекватной антикоагуляции.

Другие факторы

При невальвулярной фибрилляции предсердий гипертензия (даже в условиях ее терапии), недавняя (в течение 3 последних месяцев) сердечная недостаточность и тромбоэмболизм в анамнезе являются клиническими факторами высокого риска (7% в год при наличии одного фактора и 18% в год при наличии двух и более факторов риска). Симптомы, определяющие заболевание клапанов или функциональный класс не выступают в качестве прогностических для развития тромбоэмболизма. Так, например, митральная комиссуротомия облегчает симптомы основного заболевания, но не уменьшает риск возвратного тромбоэмболизма. Низкий минутный сердечный выброс является важным фактором риска тромбоэмболизма и отчасти может быть связан с дисфункцией левого желудочка или с выраженным увеличением размеров левого предсердия, способствующим развитию фибрилляции предсердий и снижению скорости кровотока в ушке левого предсердия. Хотя возраст рассматривается как независимый фактор риска, последний может быть связан с более высокой частотой атеросклероза грудной аорты и аортальной фибрилляции в пожилом возрасте.

При заболеваниях митрального клапана первый эпизод тромбоэмболизма чаще происходит в четвертую декаду жизни и 38% — в седьмой декаде, если не получают профилактическую терапию.

Следует отметить, что впервые тромбоэмболизм у пациенток с заболеваниями митрального клапана может проявляться во время беременности в силу ряда причин: собственной беременности гиперкоагуляции, наличия гестоза и/или инфекции, гнойно-септических заболеваний в послеродовом/послеоперационном периодах. Безусловно, отдельным фактором риска является операция кесарева сечения, а также изменения гемостаза, характерные для послеродового/послеоперационного периодов.

Отдельно следует подчеркнуть, что если выше рассматривались клинические, хорошо известные факторы риска тромбоэмболизма у беременных с заболеваниями клапанов сердца, то скрытые факторы риска, такие как генетически обусловленная тромбофилия, АФС далеко не всегда распознаются у беременных с кардиальной патологией. В то же время наш опыт свидетельствует, что именно эти факторы чаще всего и являются причиной тяжелых и нередко фатальных тромбоэмболий у беременных с заболеваниями клапанов сердца. Именно потому, с нашей точки зрения, на этапе планирования беременности у женщин с заболеваниями клапанов сердца обособлен скрининг на предмет АФА и генетической формы тромбофилии. Раннее выявление скрытых форм тромбофилии у таких женщин позволяет своевременно начать антикоагулянтную терапию и избежать тромбоэмболизма во время беременности и в послеродовом периоде.

Конечно, такой скрининг не всегда возможен и достаточно дорог. Тем не менее, если нет возможности выявления АФА или генетических дефектов гемостаза, следует тщательно выяснять семейный тромбоэмболический анамнез, а также акцентировать внимание и на акушерском анамнезе; поскольку в свете современных представлений о роли тромбофилии в патогенезе синдрома потери плода, гестоза, ПОНРП отягощенный акушерский анамнез также может косвенно указывать на возможность наличия АФС или генетической тромбофилии. В таких группах беременных необходим тщательный контроль маркеров тромбофилии: Д-димера, РКМФ, ТАТ, и при наличии признаков тромбофилии — начало антикоагулянтной профилактики.

Показания к антитромботической терапии у беременных с заболеваниями клапанов сердца

Заболевания митрального клапана

Пациентки с риском тромбоэмболизма должны получать антикоагулянтную профилактику (см. выше). Все пациентки с пароксизмальной или хронической фибрилляцией предсердий в отсутствие заболеваний клапанов или при наличии этих заболеваний нуждаются в антикоагулянтной терапии. Присоединение гестоза у беременных с заболеваниями митрального клапана также требует назначения антикоагулянтов. Поскольку риск тромбоэмболизма в послеродовом/послеоперационном периодах значительно повышается, все беременные с митральным стенозом нуждаются в антикоагулянтной терапии в послеродовом/послеоперационном периодах. При наличии АФС или генетической тромбофилии необходима антикоагулянтная профилактика в течение всей беременности и в послеродовом/послеоперационном периодах с дальнейшим переходом на оральную антикоагуляцию варфарином в дозе, поддерживающей МНО 2,0—3,0 в течение не менее 6 недель.

В группах низкого риска (митральная недостаточность — легкая или средней тяжести) антикоагулянтная терапия показана в послеродовом/послеоперационном периодах и в зависимости от ситуации (повышение уровня маркеров тромбофилии) курсами во время беременности.

Пролапс митрального клапана

Долгое время считалось, что беременные с пролапсом митрального клапана практически не представляют группу риска по развитию тромбоэмболизма.

И действительно, частота тромбоэмболизма у них невысока, а потому антикоагулянтная терапия в качестве рутинной профилактики тромбоэмболизма не показана. Тем не менее, именно эта группа беременных должна в первую очередь уже на этапе планирования беременности или в ранние сроки беременности скринироваться на наличие АФА, поскольку ПМК является одним из клинических проявлений АФС. При этом если в анамнезе пациентки имеет место синдром потери плода или тяжелый гестоз, это должно в большей степени насторожить в отношении возможного АФС. Своевременное назначение таким пациенткам профилактических доз гепарина в сочетании с низкими дозами аспирина (5 тыс. Ед гепарина x 2 раза в сутки подкожно + 81—100 мг аспирина в сутки) позволяет предотвратить не только возможный тромбоэмболизм, но и пролонгировать беременность и избежать развития тяжелых форм гестоза.

Если АФА или другие факторы риска тромбоэмболизма (генетическая форма тромбофилии или другие факторы риска) отсутствуют, необходимости в антикоагулянтной профилактике нет. Если же во время беременности были эпизоды венозных или артериальных тромбозов, необходима антикоагулянтная терапия на протяжении всей беременности и в послеродовом/послеоперационном периодах и, соответственно, поиск возможной причины ТИА.

Заболевания аортального клапана

Среди пациенток с заболеваниями аортального клапана риск тромбоэмболизма, как ранее указывалось, невысок. Поэтому рутинная тромбопрофилактика им не показана. Тем не менее, при наличии других факторов риска, к которым, в том числе относится скрытая тромбофилия (АФС, генетическая форма тромбофилии), показана антикоагуляция в течение всей беременности и в послеродовом/послеоперационном периодах с последующим переходом на варфарин (МНО 2,0—3,0) в течение не менее 6 недель. В большинстве случаев эмболы у пациенток с заболеваниями аортального клапана кальцинированы. Такие эмболы обычно не подвергаются профилактике и ассоциируются с операцией по замене клапана, при этом возможен рецидив тромбоэмболизма. Объяснением этому факту может быть повреждение клапанного эндотелия турбулентным кровотоком, что стимулирует отложение тромбоцитарных агрегатов. Таким образом, неврологические симптомы у пациенток с аортальным стенозом обусловлены тромбоцитарными эмболами и требуют антиагрегантной терапии. Тем не менее, следует заметить, что во время беременности в патологическом процессе тромбообразования участвуют и факторы свертывания, а потому считается необходимым наряду с обязательной антиагрегантной терапией назначать и профилактические дозы антикоагулянтов (гепарин, НМГ).

Гестационный процесс и легочная гипертензия

Легочная гипертензия (ЛГ) — состояние, характеризующееся стойким повышением давления в сосудах малого круга кровообращения. В развитии легочной гипертензии участвует ряд факторов: изменение давления наполнения левого сердца, сердечный выброс, ЧСС, гематокрит и объем крови в лёгких. Наиболее важным патофизиологическим фактором является повышение легочного сосудистого сопротивления, локализованное, главным образом, в прекапиллярных артериях и артериолах. Гипертензия может быть вызвана как сужением или окклюзией микроциркуляторного ложа (анатомическая основа), так и вазоконстрикцией, но чаще действует оба механизма.

Когда, независимо от этиологии резервы сосудистого русла сокращаются в результате снижения его протяженности или растяжимости, увеличение сердечного выброса приводит к легочной гипертензии. С течением времени все меньший прирост сердечного выброса сопровождается повышением легочного артериального давления.

Наиболее сильным стимулятором легочной вазоконстрикции является альвеолярная гипоксия, которая действует на прилегающие к альвеолам мелкие легочные артерии и артериолы. При хронической гипоксемии воздействия стимулов легочной вазоконстрикции часто усиливаются повышенной вязкостью крови вследствие вторичной полицитемии. Гиперкапния способствует легочной гипертензии, вызывая ацидемию, а не прямую вазоконстрикцию. Незначительная ацидемия (pH крови $< 7,2$) вызывает легочную вазоконстрикцию.

Гистологические изменения сосудов легких, наблюдающиеся в средней, внутренней оболочках или в просвете сосуда, способствует формированию патологии легких. Они могут быть первичными, вследствие усиленного кровотока, повышенного давления или хирургического стресса. Начальные изменения обратимы, но со временем они закрепляются.

Помимо пролиферативных гистологических изменений, тромбоз *in situ* увеличивает легочное сосудистое сопротивление. Тромбоз может быть следствием повышенной местной фибринолитической активности эндотелия; высвобождения ингибиторов активации тромбоцитов; повреждения эндотелия, запускающего процесс тромбообразования.

Легочная гипертензия может быть следствием ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы или являться самостоятельным заболеванием. От соотношения величин легочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и легочного кровотока зависит давление в малом круге кровообращения.

Первичная (идиопатическая) легочная гипертензия (ПЛГ) по определению ВОЗ (1973) относится к одному из наиболее редких заболеваний сердечно-сосудистой системы. Диагноз ПЛГ устанавливается при наличии легочной гипертензии, когда среднее давление в стволе легочной артерии превышает 25 мм рт. ст. в покое и 30 мм рт. ст. при нагрузке, нормальном давлении заклинивания легочной артерии (до 10—12 мм рт. ст.) и отсутствии заболеваний, приводящих вторично к развитию легочной гипертензии.

Болезнь, как правило, поражает лиц молодого возраста, преимущественно женщин, обычно приводит к смертельному исходу. По данным С. Oakley (1988) в Великобритании частота заболеваемости ПЛГ 1 случай на 500 тыс. населения в год, регистрируется около 100 смертей в год, вызванных данной причиной. В специальных кардиологических центрах, занимающихся этой проблемой, появляются 1—2 новые пациентки в год, поэтому клинический опыт ведения беременностей у женщин с первичной легочной гипертензией мал.

К вторичным причинам легочной гипертензии относятся (по L. Rubin, 1993):

1. Заболевание легких:

- заболевания паренхимы легких
- нарушение вентиляции
- врожденные аномалии
- высокогорная легочная гипертензия

2. Заболевания сердца

- нарушение наполнения левого желудочка (митральные пороки сердца, застойная сердечная недостаточность)
- врожденные пороки сердца (дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородок)

3. Тромбоэмболии или обструкция легочных сосудов:

- тромбоэмболия
- медиастиальный фиброз
- врожденные стенозы легочных сосудов
- эмболии инородными телами
- гемоглобинопатии
- эмболия яйцами шистосом

4. Коллагенозы и васкулиты

5. Употребление

— токсического рисового масла, L-триптофана, аминорекса.

Острая легочная тромбоэмболия — частая причина заболеваемости и смертности у пациентов с венозными тромбозами. У подавляющего большинства выживших легочный эмбол и, в большей степени, венозный тромб в месте возникновения эмбола, быстро разрешается благодаря эндогенной системе фибринолиза. У меньшинства пациентов разрешения не происходит, эмбол подвергается фиброваскулярной организации, что вызывает обструкцию тока крови в легких. Результатом этого может быть состояние, известное как хроническая тромбоэмболическая легочная гипертензия, или хронический легочный тромбоэмболизм. Проявляется симптомами прогрессирующей правожелудочковой недостаточности и гипоксии. У большинства пациенток с хронической тромбоэмболической легочной гипертензией выявляется коагулопатия. Это может быть врожденный дефицит различных компонентов системы гемостаза, таких как антитромбин III, протеинов S или C, с семейным анамнезом тромбозов и эмболий.

Легочный эмболизм является ведущей причиной легочной гипертензии у пациентов с антифосфолипидным синдромом (АФС). Следует отметить, что в настоящее время легочная гипертензия — один из клинических симптомов, которые в первую очередь должны настораживать в отношении возможного АФС. Легочный эмболизм с тромбозом глубоких вен составляет 17%—33% у пациентов с АФС по данным различных исследований, в том числе и у акушерских пациентов. С другой стороны, известно, что легочный эмболизм развивается у трети пациентов с тромбозом глубоких вен и АФС, однако источником тромбоэмболии могут быть также нижняя полая вена и почечная артерия, вегетации трикуспидального клапана, а также правосторонние внутрисердечные тромбы. Последнее обстоятельство требует систематического проведения эхокардиографии у больных с АФС и легочным эмболизмом. Наличие высоких титров антикардиолипидных антител (АКА) или волчаночного антикоагулянта (ВА) у пациентов с «идиопатическим» венозным тромбоэмболизмом значительно повышают риск рецидивирующих тромбозов и тромбоэмболий. Легочная гипертензия может обнаруживаться у пациентов с СКВ-обусловленным или первичным АФС.

Согласно данным исследований Anger et al., из 216 больных с хроническим легочным тромбоэмболизмом и легочной гипертензией у 10,6% была выявлена циркуляция ВА, в то время как АКА не выявлялись.

В настоящее время еще нет единого мнения о патофизиологии первичной легочной гипертензии, хотя роль АФА в генезе хронического легочного эмболизма не вызывает сомнений.

Возможно, в тех случаях хронического легочного эмболизма и легочной гипертензии, когда частота циркуляции АФА была не достоверно высока, не проводились исследования на наличие генетических причин тромбофилии. Вероятно, что в случаях «идиопатического» венозного тромбоэмболизма и ЛГ вне циркуляции АФА, присутствовала генетическая форма тромбофилии.

Прогноз у пациенток с легочной гипертензией обычно неблагоприятный и зависит от степени гипертензии. По данным Riedel et al. при артериальном давлении в легких 30 мм рт. ст. пятилетнюю выживаемость имеют 30% пациенток, при давлении больше 50 мм рт. ст. — 10%.

Исключительное значение имеет легочная гипертензия на фоне беременности и родов.

В соответствии с классификацией риска беременности и родов при сочетании с пороками сердца (Л.В.Ванина, 1991) беременность на фоне легочной гипертензии (II, III стадия по И.Х.Рыбкину) относится к III и IV (максимальной) степеням риска и является противопоказанной.

Первичная легочная гипертензия является абсолютным противопоказанием к беременности. Первичный тип ЛГ является осложнением многих аутоиммунных

заболеваний: СКВ, системной склеродермии, синдрома Шегрена и ревматоидного артрита. По данным Simonson et al при проведении доплер-эхокардиографии у пациенток с СКВ более чем в 14% случаев была обнаружена ЛГ. Вследствие довольно высокой частоты встречаемости ЛГ должна быть исключена у каждой пациентки с коллагенозом, особенно при СКВ, перед тем как разрешить ей беременность. По клиническому течению подобную ЛГ нельзя отличить от первичной ЛГ, не связанной с другими заболеваниями.

Первые клинические проявления легочной гипертензии определяются, когда в большинстве легочных сосудов имеются уже необратимые морфологические изменения.

Основными симптомами являются прогрессирующая одышка и утомляемость, хотя у некоторых пациенток первым признаком могут стать обмороки при физическом напряжении. У ряда больных наблюдается кровохарканье. Этот симптом может быть связан как с тромбозом ветви легочной артерии, которые возникают у пациенток с декомпенсацией на фоне выраженных прокоагуляционных нарушений в системе гемостаза, так и вследствие разрыва мелких легочных сосудов в связи с высокой легочной гипертензией.

Наиболее постоянным аускультативным признаком ЛГ является акцент II-го тона над легочной артерией. Другие аускультативные признаки — систолический шум, связанный с недостаточностью трикуспидального клапана, систолический шум изгнания, связанный с турбулентным током в клапане легочного ствола.

Беременность способствует появлению за грудинных ишемических болей, гипотензии, обмороков и правожелудочковой недостаточности. Насыщение артериальной крови кислородом может быть нормальным или сниженным как в результате сброса крови через овальное окно, так и внутрилегочного шунтирования, а на поздних стадиях заболевания вследствие снижения оксигенации крови в легких. Кроме того, во время беременности легочная гипертензия может прогрессировать сама по себе, по некоторым данным, за счет гормонального влияния.

Одно из основных мест в диагностике легочной гипертензии занимает рентгенография органов грудной клетки. Электрокардиографическое исследование также входит в число необходимых исследований для диагностики ЛГ. Фонокардиографическое исследование позволяет не только диагностировать гипертензию либо гиперволемию в малом круге кровообращения, а также относительную недостаточность трехстворчатого клапана и клапана легочной артерии, но и обнаруживать врожденные и приобретенные пороки сердца, сопровождающиеся вторичной легочной гипертензией.

Эхокардиография является обязательным методом в диагностике легочной гипертензии. Применение этого метода позволяет выявлять гипертензию малого круга кровообращения и оценивать ее выраженность. Возможности метода значительно возрастают при использовании доплер-эхокардиографии. Данная методика значительно повышает достоверность диагностики врожденных и приобретенных пороков сердца, устанавливает наличие и выраженность недостаточности трехстворчатого клапана и клапана легочной артерии, позволяет количественно оценить давление в легочной артерии.

Один из важнейших методов диагностики ЛГ — катетеризация правых отделов сердца, является основным в диагностике первичной легочной гипертензии. Без проведения этого исследования установление диагноза ПЛГ считается неправомерным. Метод до сих пор является «золотым стандартом» в диагностике врожденных пороков сердца, с которыми чаще всего приходится дифференцировать ЛГ, а также в определении уровня давления в легочной артерии и других показателей центральной гемодинамики.

Гематологические исследования у пациенток выявляют полицитемию, гиперкоагуляционное состояние, нарушение функции тромбоцитов и фибринолиза. У пациенток с недостаточностью правого желудочка часто может быть нарушена функция печени.

Современная теоретическая модель патогенеза легочной гипертензии предполагает значительную роль тромбоза *in situ* в развитии данного заболевания. Пусковым моментом считается повреждение и нарушение функции эндотелия, которое возникает вследствие вазоконстрикции легочных артерий и способствует ее усилению. Подобное состояние является результатом дисбаланса в действии тромбоксана и простаглицина, а также других эндотелиальных факторов. Повышение уровня тромбоксана приводит не только к вазоконстрикции легочных сосудов, но также к активации агрегации тромбоцитов. Взаимодействие между гуморальными и клеточными элементами крови и поврежденным эндотелием приводит к ремоделированию легочных сосудов. Следовательно, изменения в эндотелиальных клетках могут вызвать тромбоз *in situ* вследствие нарушения состояния свертывающей системы, фибринолитической и противосвертывающей систем. Повышенный уровень фибринопептида А, который отмечается у пациенток с первичной легочной гипертензией, также указывает на возможность тромбоза *in situ* у данной категории больных.

По данным Ю.Н. Беленкова, И.Е. Чазовой (1999) были выявлены значительные нарушения как в плазменном, так и в тромбоцитарном звеньях гемостаза у больных с первичной легочной гипертензией. Было обнаружено повышение уровня маркеров активации свертывающей системы, которые являются наиболее чувствительными и специфичными. К ним относятся фрагмент 1+2, образующийся при превращении протромбина в тромбин, комплекс тромбин-антитромбин и Д-димера, характеризующий интенсивность внутрисосудистого отложения нитей фибрина. Кроме того, при ПЛГ отмечалось повышение уровня таких показателей свертывающей системы, как фибриноген и протромбиновое отношение. Об активации тромбоцитарного звена гемостаза свидетельствовали повышение спонтанной агрегации тромбоцитов и повышение уровня β -тромбоглобулина, наиболее надежного маркера активации тромбоцитов.

Исходя из имеющихся данных, во время беременности должна быть продолжена антикоагулянтная терапия, несмотря на существующий риск для плода. Антикоагулянты необходимы вследствие тромботической артериопатии, которая приводит к тромбозу *in situ* на пораженном или обнаженном эндотелии. Кроме того, высок риск венозной тромбоэмболии, обусловленной низким сердечным выбросом и гиперкоагуляционным состоянием во время беременности.

Несмотря на проведение комплексного лечения, обычно следует ожидать ухудшения симптомов заболевания, особенно во II и III триместрах. Легочная гипертензия имеет самостоятельное неблагоприятное значение для беременной и плода, так как во многих случаях определяет тяжесть гипоксического синдрома и увеличивает вероятность таких тяжелых осложнений, как тромбозы легочных сосудов и инфаркты легких, острый отек легких, тромбоэмболия легочной артерии. Перечисленные осложнения при пороке, сопровождающемся легочной гипертензией, провоцируют физическая нагрузка, боль, эмоциональное напряжение в родах, особенно ведущихся без должного анестезиологического пособия. Во время беременности нарастает одышка и утомляемость, усугубляется правожелудочковая недостаточность, часто возникают за грудиной боли вследствие ишемии миокарда. Большинство смертей происходит в перипартальном периоде из-за гипотензии (особенно после кровопотери), внезапных аритмий, легочной эмболии или недостаточности правого желудочка. Часто наблюдаются преждевременные роды с высоким уровнем перинатальной смертности. Кроме того, чем травматичнее способ родоразрешения (кесарево сечение), тем значительнее роль легочной гипертензии в его неблагоприятном исходе. Прогноз улучшают комиссуротомия при митральном стенозе, роды через естественные родовые пути с исключением потуг и наложением акушерских щипцов и с медикаментозной профилактикой возможных осложнений.

При сочетании первичной легочной гипертензии и беременности высок уровень осложнений и материнской смертности. Исследование показало, что

15 (40,5%) из 37 женщин с ПЛГ погибли во время беременности или в раннем послеродовом периоде.

Беременность противопоказана женщинам с первичной легочной гипертензией по следующим причинам:

1. Высокая частота материнской заболеваемости и смертности.
2. Трудности прогнозирования течения и исхода беременности, даже у женщин без симптомов или с легким течением болезни.
3. Высокая частота заболеваемости и смертности у плода (в т.ч. связанная с врожденными сердечными аномалиями).
4. Возможное ускоренное прогрессирование ПЛГ во время беременности.

Кроме того, пациентка и ее семья должны быть проинформированы о плохом прогнозе и снижении продолжительности жизни при первичной легочной гипертензии, даже если женщина выживает после беременности. Это в полной мере относится и к пациенткам с выраженной (высокой) вторичной легочной гипертензией.

Необходимы подборы оптимального метода контрацепции для пациенток с ПЛГ. Чаще всего могут быть использованы внутриматочные контрацептивы (противопоказаны женщинам с клапанными пороками сердца в связи с высокой предрасположенностью к инфекциям). Применение комбинированных оральных контрацептивов противопоказано вследствие их протромбогенного эффекта. Перевязка маточных труб, как любое хирургическое вмешательство, потенциально опасно для пациенток с ПЛГ, но может быть выполнено при легкой форме заболевания.

При наступлении беременности аборт должен быть выполнен как можно раньше под контролем гемодинамики и ЭКГ и с обязательной антикоагулянтной профилактикой в послеабортном периоде.

Женщины, настаивающие на пролонгировании беременности, нуждаются в особом наблюдении (госпитализация после 20 недель беременности или раньше при появлении малейших признаков прогрессирования заболевания).

Во время родов и в послеродовом периоде обязательно проведение мониторингового контроля за показателями гемодинамики и ЭКГ. Рекомендуется установление катетера в легочную артерию в начале родов. Крайне важно свести к минимуму объем кровопотери в родах и немедленно ее возмещать. Для профилактики гипоксемии проводится ингаляция кислорода. Родоразрешение в условиях гипербарической оксигенации (ГБО) предполагает значительное улучшение оксигенации крови, уменьшение одышки и цианоза прежде всего у пациенток с врожденными пороками сердца и легочной гипертензии.

Основной метод родоразрешения — досрочное индуцированные роды через естественные родовые пути с исключением потуг во II периоде родов путем операции наложения акушерских щипцов.

В послеродовом периоде мониторинг гемодинамических показателей и ЭКГ должно продолжаться в течение 1—2 суток, так как возможно ухудшение состояния вследствие послеродового увеличения венозного возврата. Послеродовая госпитализация должна составлять не менее 10—14 дней.

Легочная гипертензия любого происхождения связана со значительной заболеваемостью и смертностью, особенно во время беременности. Несмотря на последние данные об эффективности лечения при ранней диагностике, для большинства прогноз для жизни и исхода беременности остается малоутешительным.

Анализ течения гестационного процесса у 70 беременных с первичной и вторичной легочной гипертензией в специализированном кардиологическом роддоме при 67 ГКБ еще раз свидетельствует, что легочная гипертензия любого происхождения связана с высоким уровнем материнской смертности: 7 женщин из 70 умерли в родах или в послеродовом (послеоперационном) периоде вследствие выраженных тромбоэмболических осложнений, декомпенсации сердечно-сосудистой системы, тяжелого гипоксического синдрома.

Для беременности, протекающей на фоне легочной гипертензии характерно развитие тромбофилического состояния, которое было выявлено у 75,7% пациенток, в том числе у 12,9% была обнаружена циркуляция ВА.

Выраженность тромбофилических изменений в системе гемостаза находится в прямой зависимости от степени выраженности ЛГ. Следовательно, у беременных с легочной гипертензией имеет место чрезвычайно высокий риск развития тромботических, тромбоэмболических осложнений, а также декомпенсированного ДВС-синдрома. Последний в большей степени характерен для вторичной легочной гипертензии у беременных с врожденными пороками сердца.

В послеродовом / послеоперационном периодах тромбофилическое состояние сохраняется и усугубляется. Следует отметить, что у пациенток с легочной гипертензией, по данным исследования, отмечается и высокая частота акушерских осложнений: у 38,6% — угрожающий самопроизвольный выкидыш, у 11,4% — угрожающие преждевременные роды, у 32,9% — анемия, у 14,3% — гестоз. Внутриутробная задержка развития плода и фетоплацентарная недостаточность была диагностирована у 28,6%. Самопроизвольные преждевременные роды произошли у 15,7%; 42,9% пациенток были родоразрешены путем операции кесарева сечения по сочетанным показаниям (кардиальные, акушерские). У 34,3% в послеродовом / послеоперационном периодах отмечалось ухудшение течения порока сердца, осложнения инфекционного характера.

Для беременных с легочной гипертензией характерен и довольно высокий уровень перинатальных потерь: 2 случая интранатальной гибели при преждевременных родах, 1 случай неонатальной гибели. У 4,7% новорожденных были выявлены пороки развития.

С нашей точки зрения, учитывая высокую частоту тромбофилии у беременных с легочной гипертензией, патогенетически оправдана антикоагулянтная терапия не только в послеродовом / послеоперационном периодах, когда риск тромбоэмболических осложнений максимален, но и в течение беременности, в том числе и с точки зрения улучшения маточно-плацентарно-плодового кровотока и профилактики внутриутробной задержки развития плода, гестоза.

В условиях гипоксемии, свойственной беременным с легочной гипертензией, улучшение микроциркуляторного кровотока приобретает важнейшее значение. Препаратом выбора в такой ситуации может быть НМГ, учитывая его эндотелиопротективный эффект наряду с антикоагулянтным.

В то же время особое внимание хотелось бы обратить на то, что геморрагические осложнения в этой группе пациенток также опасны в плане прогноза, как и тромботические. Поэтому важно подчеркнуть, что у беременных с врожденными пороками сердца и легочной гипертензией имеет место волнообразное течение ДВС-синдрома с превалированием подострой фазы, а потому и риск геморрагических осложнений у них выше. Данное обстоятельство диктует необходимость применения свежезамороженной плазмы наряду с антикоагулянтами и регулярного контроля системы гемостаза с целью своевременной диагностики повышенной тенденции к геморрагиям.

В то же время у беременных с первичной легочной гипертензией, синонимом которой в последнее время все чаще считают «хронический легочный эмболизм», чрезвычайно важно выявление АФА и/или генетических форм тромбофилии. Риск тромбоэмболических осложнений у таких пациенток чрезвычайно высок и требует, в первую очередь, адекватной антикоагулянтной терапии.

Искусственные клапаны сердца и беременность

Больные с протезированными клапанами сердца относятся к группе среднего (в случае биопротезов и в отсутствие других факторов риска) и высокого (механические протезы или биопротезы в сочетании с другими факторами высокого

риска) риска по развитию тромбоземболических осложнений. Патогенез тромбоза у больных с протезированными клапанами мультифакториальный. Факторы перивальвулярных субстратов (хирургически обусловленное «обнажение» субэндотелия и протезный материал), реологии кровотока (стаз и турбулентность) и гемостаза (антитромботическая терапия, МНО, антитромбоцитарная терапия) являются основными причинами, обуславливающими вальвулярный тромбоз и тромбоземболизм (табл. 120). Тромбы начинают формироваться уже во время операции. Повреждение перивальвулярных тканей и протезный материал способствуют контактной активации коагуляционного каскада с повышенным тромбообразованием и активацией тромбоцитов при контакте их с поверхностью клапана в кровотоке. Кроме того, избыточные количества тромбина могут также формироваться на мембранах активированных тромбоцитов (через образование протромбиназного комплекса, который ускоряет образование тромбина в среднем в 278000 раз) после их адгезии и активации на поверхности протеза. Тромбин, в свою очередь, является одним из мощных активаторов тромбоцитов в артериальном кровотоке, помимо того, что обуславливает образование фибриновых сгустков. Таким образом, ингибирование как коагуляционного каскада, так и тромбоцитов представляется оптимальным для обеспечения максимального антитромботического эффекта у пациентов с протезированными клапанами сердца.

Таблица 120.

Клапанные протезы сердца, факторы патофизиологии и риск системного эмболизма.

Тип клапана	тромбы			эмболы
	Субстрат*	Кровоток**	Коагуляция***	
Митральный механический	++	++	+	5 (2,5)
Аортальный механический	++	+	+	4 (2)
Митральный биопротез	+	+	0	2 (1)
Аортальный биопротез	+	0	0	1 (0,5)

* перивальвулярное повреждение тканей, обнажение субэндотелия, дакроновые кольца, протез, шовный материал

** предсердная фибриляция (размеры левого предсердия), тип протеза

*** МНО и доза (тип) антитромбоцитарного препарата

И механические клапаны и биопротезы, содержащие дакроновые кольца, активируют как коагуляционный каскад, так и тромбоциты. В свою очередь тромбоцитарные тромбы могут дополнительно стабилизироваться фибрином, который адсорбирует тромбин и способствует дальнейшей активации тромбоцитов.

Стаз и сниженный кровоток (в левом предсердном ушке при фибриляции предсердий или вследствие снижения сердечного выброса с дисфункцией левого желудочка) также способствуют образованию фибрина. Свежие тромбы вскоре после операции по протезированию клапанов являются основной причиной высокого риска тромбоземболизма.

Уменьшение времени кругооборота тромбоцитов также указывает на повышенный риск тромбоэмболизма и часто имеет место у пациентов с протезированными клапанами.

Укорочение времени жизни тромбоцитов прямо коррелирует с поверхностной площадью протеза клапана. Аортальный клапан имеет меньшую площадь поверхности по сравнению с митральным. Короткое время жизни тромбоцитов коррелирует с повышенным риском тромбоэмболизма, так как отображает процессы интенсивной агрегации и дезагрегации тромбоцитов, которые могут быть кульминационными факторами, определяющими клиническую картину. Ингибиторы тромбоцитарной активности корректируют время жизни тромбоцитов, а потому определяют хороший прогноз при дополнительном назначении с антикоагулянтами. Во время беременности весьма обосновано наряду с гепарином назначение аспирина 100 мг или дипиридамола (курантила) 400 мг в сутки.

Фибринопептид А является маркером активности тромбина *in vivo* и отражает превращение фибриногена в фибрин под действием тромбина. Повышенный уровень фибринопептида А может свидетельствовать о недостаточной ингибции коагуляции гепарином или другим антикоагулянтом. Однако поскольку для ингибирования формирования тромбоцитарного тромба необходимо ингибирование в 5 раз большего количества тромбина, чем необходимо для ингибирования фибринового тромба, нормализация уровня фибринопептида А не может указывать на ингибцию тромбоцитарной активности, а соответственно и образования тромбоцитарного тромба. Уровень оральной антикоагуляции обратно пропорционален уровню фибринопептида А у пациентов с клапанными протезами.

Факторы риска тромбоэмболизма

Как уже указывалось, риск тромбоэмболизма высокий уже в раннем послеоперационном периоде (после протезирования клапана или клапанов). Кроме того, этот риск обусловлен факторами со стороны пациента и непосредственно клапанного протеза:

Факторы со стороны пациента:

- локализация клапана (аортальный, митральный, комбинированные клапанные протезы)
- адекватность антикоагуляции (интенсивность, препарат)
- фибрилляция предсердий
- синусовый ритм + увеличение левого предсердия (>50мл)
- предшествующий тромбоэмболизм
- дисфункция левого желудочка
- возраст, в котором произведена операция (в настоящее время операции производятся в более молодом возрасте при прогрессировании заболевания)

Факторы со стороны клапана:

- вид клапана: наличие или отсутствие турбулентного кровотока и стаза
- материал: тромбогенный / атромбогенный

Пациенты с протезом аортального клапана имеют меньший риск тромбоэмболизма. Более высокий риск у пациентов с протезированным митральным клапаном. При замене двух клапанов риск значительно повышается. Возможно, более высокий риск отчасти связан с площадью поверхности клапанных протезов сердца, равно как и с тяжелым заболеванием сердца, потребовавшим замены сразу двух клапанов. В то же время после двойного клапанного протезирования риск дисфункции левого желудочка и предсердной фибрилляции потенциально выше.

Возможно, оптимальная антикоагуляция является наиболее важным фактором, предотвращающим тромбоэмболизм. Вне беременности в качестве антикоагулянта используются оральные антикоагулянты, как правило, варфарин. В нашей стране до последнего времени использовался фенилин и другие оральные антикоагулянты, которые в сравнении с варфарином имеют ряд недостатков (см. главу VII).

Оптимальным значением МНО (а, следовательно, и интенсивности антикоагулянтной терапии) считается то, которое обеспечивает достаточный антикоагулянтный эффект и минимум геморрагических осложнений. Наименьшая частота одновременно и тромбоэмболизма, и геморрагических осложнений отмечается при интервале МНО от 2,2 до 3,5. Оптимальным считается интервал 2,7—2,9. Для механических клапанов «адекватным» МНО является 2,5—3,5, для биопротезов — 2,0—3,0.

Фибрилляция предсердий является фактором высокого риска церебрально-го эмболизма у пациентов с клапанными протезами, равно как и замедление кровотока в левом ушке предсердия, ассоциированного с фибрилляцией предсердий. Тем не менее, почти у 1/3 пациентов с фибрилляцией предсердий до протезирования клапанов, после операции восстанавливается синусовый ритм. Как уже указывалось, частота фибрилляции предсердий повышается с возрастом и больше характерна для пациентов старше 60 лет, в том числе при протезировании митрального клапана. После протезирования аортального клапана почти у 60% пациентов старше 70 лет имеет место, по крайней мере, транзиторная атриальная фибрилляция. Относительно ранняя (своевременная) операция протезирования при заболеваниях митрального клапана позволяет восстановить синусовый ритм и предотвратить или купировать хроническую фибрилляцию предсердий.

Наличие тромбоэмболий в анамнезе является фактором высокого риска последующего тромбоэмболизма. Поэтому все пациенты после операции должны получать антикоагулянтную терапию, независимо от того, какой клапан был протезирован.

Как уже указывалось, дисфункция левого дилатированного желудочка является фактором риска тромбоэмболизма даже вне клапанного протезирования, потому при наличии клапанных протезов антикоагуляция абсолютно необходима.

Вид клапана и материал, из которого он изготовлен, имеют большое значение. Клапанные протезы старого поколения обладали свойством создавать участки турбулентного кровотока и значительно активировали тромбоциты. Материалы, из которых изготавливались клапаны, также были более тромбогенны.

Хотя современные материалы менее тромбогенны, механические клапаны сердца все равно требуют пожизненной антикоагулянтной терапии. Преимущество заключается лишь в том, что достаточный антикоагулянтный эффект может быть достигнут менее интенсивной антикоагуляцией, соответственно и риск геморрагических осложнений меньше.

Выбор клапанов у беременных и женщин детородного возраста

Оптимальный выбор протеза клапана сердца с лучшими гемодинамическими свойствами способствует благоприятному исходу, сохранению функциональных возможностей миокарда, предотвращению осложнений и, возможно, даже определяет продолжительность жизни.

Выбор протеза зависит от:

- 1) факторов, связанных с хирургической процедурой и
- 2) пациента.

Ранняя смертность при замене клапана зависит скорее от хирургической бригады и состояния пациента, а не от типа протеза. Но некоторые анатомические факторы, описанные ниже, могут быть важны при выборе протеза клапана сердца.

Отдаленные результаты хирургической замены клапана связаны в значительной степени с состоянием пациента, что и определяет выбор между биопротезами и механическими клапанами. Наиболее важные характеристики пациента, которые влияют на отдаленные результаты, это возраст, наличие любого фактора риска или любых противопоказаний к терапии противосвертывающими препаратами.

Возраст — одна из наиболее серьезных проблем при выборе клапана из-за установленных различий в долговечности протезов. Биопротезы менее долговечны, чем механические клапаны. Следовательно, механические клапаны более предпочтительны у молодых пациентов, а биологические клапаны у лиц старшего возраста. Многие авторы рекомендуют биопротезы для пациентов от 65 до 70 лет: дисфункция биопротезов появляется в сроки от 6 до 10 лет. Дегенерация обычно заключается в постепенном увеличении регургитации, небольшую степень которой можно допускать в течение нескольких лет. Хотя в большинстве случаев разрушение клапанов происходит постепенно, давая возможность проведения повторной плановой операции, у некоторых пациентов возможен внезапный разрыв клапана. Частота дисфункции биологических клапанов, требующих повторной операции, около 30% к 10 годам после установки протеза.

Психосоциальные аспекты пациента, например, неспособность принимать противосвертывающие препараты, также могут влиять на выбор клапана.

Сегодня больше, чем когда-либо должно рассматриваться предпочтение пациента. Поскольку все протезы клапанов сердца имеют потенциальные осложнения, в процессе информирования пациентов часто появляется их предпочтение одному или другому клапану. Врач должен по возможности выполнить пожелания больного. Если доктор полагает, что мнение пациента неправильно, он должен сам или при помощи других врачей переубедить больного. При выборе протеза клапана сердца учитываются потенциальные последствия длительной терапии антикоагулянтами и их влияние на образ и качество жизни.

Наилучшей тактикой является рекомендация сначала родить, затем оперироваться, так как большинство женщин с заболеваниями клапанов сердца могут благополучно родить без потребности в хирургическом вмешательстве. Но в каждом конкретном случае необходимо оценивать возможность вынашивания беременности в связи с тем, что оперативное вмешательство при любых сроках гестационного периода опасно как для матери, так и для плода. При наличии тяжелого порока сердца замену клапана рекомендуется проводить до беременности.

При выборе клапана, который будет использован для протезирования у беременной или у женщины детородного возраста, учитывается долговечность, гемодинамические и тромбообразующие свойства клапана. Каждый клапан имеет недостатки. Механические клапаны прочны, но требуют длительной терапии антикоагулянтами. В связи с тем, что при беременности заметно повышается сердечный выброс, могут подойти клапаны с низким уровнем трансвальвулярного градиента, например, клапан Св. Иуды или Медтроник-Халла. Есть также данные, что клапан Св. Иуды обладает меньшей способностью к тромбообразованию, чем другие клапаны, хотя контролируемые исследования у беременных женщин не проводились. Биопротезы (в основном используют свиные гетеротрансплантаты) чаще используются в случаях, когда продолжительная терапия антикоагулянтами нежелательна. Но риск тромбозов в первые 3 месяца после имплантации остается высоким, благодаря незащищенному кольцу, которое подвергается постепенной эндотелизации (табл. 121).

Дискуссионным остается вопрос о влиянии беременности на долговечность биопротезов. Ретроспективное исследование показало, что у 17 из 49 беременных женщин (35%) произошло ухудшение функции биопротеза, потребовавшее неотложной замены клапана в течение беременности или вскоре после нее. Другое исследование, включающее 57 женщин с биопротезами, обнаружило, что сохранение трансплантата в течение 10 лет после двух беременностей составля-

ет только 16,7%, а после одной — 54,8%. Рис. 118 демонстрирует долговечность свиных ксенографтов в различных возрастных группах. У пациентов 35 лет и младше 77% клапанов сохраняют свою функцию в течение 5 лет, 49% в течение 10 лет и только 25% остаются через 15 лет. Эти данные показывают, что, по крайней мере, половина свиных клапанов имплантируемых женщинам репродуктивного возраста, разрушаются в течение 10 лет после операции.

Таблица 121.

Сравнение биологических и механических клапанов.

	Биологические клапаны	Механические клапаны
Долговечность	Ограничена (10—12 лет)	Не ограничена
Тромбоэмболические осложнения	Низкий риск	Высокий риск при отсутствии антикоагуляции
Потребность в антикоагуляционной терапии	Нет, кроме первых 3 месяцев после имплантации	Обязательна пожизненная терапия
Геморрагические осложнения	Практически нет	Есть
Гемодинамические свойства	Хорошие — отличные	Отличные
Повреждение во время беременности	Есть	Нет
Потери плода	Нет	Увеличение
Преждевременные роды	Практически нет	Увеличение
Недоношенность	Практически нет	Увеличение

Криоконсервированные гомотрансплантаты не требуют антикоагулянтов, более долговечны и, следовательно, имеют в данном случае преимущества. Кроме того, используют собственный легочный клапан пациента, то есть аутотрансплантат, чтобы заменить дефектный аортальный клапан. В данном случае также не нужна терапия антикоагулянтами, клапаны резистентны к эндокардиту и долговечны. Но этот метод ограничен аортальной позицией и технически выполним не у каждой пациентки. Операция требует значительно большего технического обеспечения, более длительного искусственного кровообращения, что повышает операционный риск и для матери, и для плода. В литературе отсутствуют данные о течении беременности у пациенток с имплантированными гомотрансплантатами.

Некоторые авторы, анализируя риск, считают, что у женщины детородного возраста безопаснее произвести замену биопротезом, который не требует обязательной терапии антикоагулянтами во время беременности. После рождения ребенка при появлении признаков ухудшения работы клапана может быть поставлен механический протез. Однако, операционная летальность при повторной операции замены клапана колеблется, по данным разных авторов, от 0,5% до 21,3% со средней смертностью 10,6% при сочетании данных плановой и экстренной хирургии и 6% при плановых оперативных вмешательствах. Так как эти данные включают пациентов всех возрастов, возможно предположить, что риск при повторной операции у молодых пациентов может быть ниже.

В нашей стране, как правило, всем пациенткам детородного возраста, которые могут и хотят выполнять все медицинские рекомендации во время беременности, производят имплантацию механических клапанов сердца последнего поколения. Они имеют ряд преимуществ: прочность, прекрасные гемодинамические свойства, а также низкий риск тромбоэмболических и геморрагических осложнений при тщательно подобранно и контролируемой антикоагулянтной терапии.

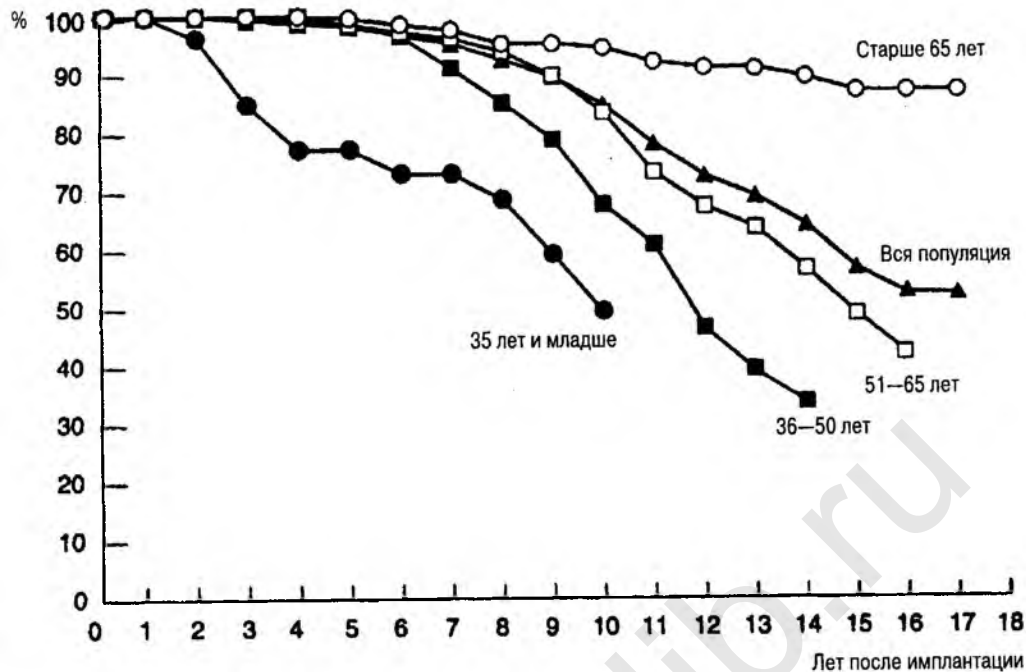


Рис. 118. Сохранение функции биологических клапанов (свинных биопротезов) в популяции и разных возрастных группах.

Следовательно, нет идеального клапана для замены у женщин детородного возраста, а тем более у беременных. В каждом случае риск и преимущества должны быть оценены индивидуально.

Подготовка к беременности, дородовое консультирование и ведение беременности у пациенток с протезами клапанов сердца.

Нередко пациентки репродуктивного возраста, не имеющие детей из-за заболевания сердца, соглашаются на хирургическую коррекцию порока, надеясь в будущем на возможность иметь потомство. Кроме того, после операции протезирования клапанов сердца важен не только вопрос выживаемости, но и «качества жизни» в отдаленной перспективе. «Качество жизни» оперированной больной предполагает оценку ее физического, социального и психического статуса. Клинические и социальные аспекты «качества жизни» больных после протезирования клапанов сердца включают в себя реабилитацию их физической работоспособности и трудоспособности. У женщин репродуктивного возраста благоприятное течение и исход беременности можно рассматривать как один из аспектов клинической (медицинской), социальной и психологической реабилитации.

Подготовка к беременности и дородовое консультирование.

При первом обращении в консультацию женщины, планирующей беременность или беременной, перенесших протезирование клапанов сердца, задачей участкового врача является получение как можно раньше (для беременных — до 12 недель) исходных сведений о больной для решения вопроса о возможности продолжения беременности. С этой целью пациентка направляется к терапевту (кардиологу) и кардиохирургу, по возможности в тот кардиохирургический стационар, где была проведена операция. После получения данных о характере и результате операции больная направляется в специализированный стационар (кардиологический или

кардиоакушерский) или в поликлинический консультативно-диагностический центр для установления возможных противопоказаний к сохранению беременности.

Согласно нашим исследованиям степень риска беременности и родов у больных, перенесших протезирование клапанов сердца, является неодинаковой и зависит от многих причин, среди которых определены следующие факторы высокого риска:

- 1) тяжелое исходное состояние больной (недостаточность кровообращения более чем 1 ст., мерцательная аритмия, легочная гипертензия, атрио- и кардиомегалия);
- 2) сопутствующие некорригированные пороки сердца;
- 3) тромбозмболические осложнения или бактериальный эндокардит в анамнезе;
- 4) параклапанная фистула;
- 5) активная фаза ревматизма;
- 6) многоклапанное протезирование;
- 7) малый срок (менее 1 года после операции на сердце);
- 8) низкая (удовлетворительная или неудовлетворительная) оценка результата операции.

Выявление перечисленных факторов прогностически неблагоприятно и служит абсолютным противопоказанием к беременности.

Основываясь на проведенных исследованиях, нами установлено, что кардиохирургическая оценка результатов по 3-бальной системе (хорошая, удовлетворительная, неудовлетворительная) может быть лишь ориентировочной в установлении противопоказаний к беременности и не должна служить основанием для окончательного решения этого вопроса.

На основании собственного многолетнего опыта, факторов высокого риска, показателей кардиореспираторной системы, гемостаза, исходов беременности для матери и плода, выделены 3 степени риска осложнений беременности и родов у женщин с протезированными клапанами сердца.

I степень риска. Больные, перенесшие протезирование аортального клапана с хорошим результатом (при отсутствии факторов высокого риска) и нормальных показателях кардиореспираторной системы. Риск кардиальных, тромбозмболических, акушерских и перинатальных осложнений (см. ниже) минимален. Беременность условно допустима, поскольку перечисленные осложнения гестационного процесса полностью предотвратить невозможно.

II степень риска. Больные, перенесшие протезирование митрального клапана с хорошим результатом (при отсутствии факторов высокого риска). Беременность противопоказана из-за высокой опасности развития сердечной недостаточности и тромботических осложнений. В случае категорического отказа больной от прерывания беременности при нормальных или близких к ним показателях кардиореспираторной системы и обеспечения специализированного наблюдения возможно доношивание беременности.

III степень риска. Больные, перенесшие многоклапанное протезирование, а также после одноклапанного при наличии одного или нескольких факторов риска. Течение беременности у этих больных, как правило, неблагоприятное за счет высокой частоты кардиологических, специфических, акушерских и перинатальных осложнений. Ухудшение показателей кардиореспираторной системы и гемостаза приводит к нарушению органного, в том числе маточно-плацентарного кровотока, формированию плацентарной недостаточности и задержке внутриутробного развития плода. Новорожденные, родившиеся у этих больных, имеют достоверно худшие показатели физического развития и функционального состояния в периоде ранней постнатальной адаптации и в последующие годы жизни. В литературе, в том числе и у нас, есть наблюдения случаев благоприятного течения и исходов беременности после многоклапанного протезирования (см. ниже клинический случай). Но больные, перенесшие многоклапанное протезирование, имеют наихудшие показатели, как материнской летальности, так и перинатальной смертности. Потеря детей, включая самопроизвольные аборты, составляет у них 70—80%. Беременность женщинам этой группы противопоказана.

При благоприятном результате первого обследования в специализированном учреждении и положительном решении вопроса о продолжении беременности дальнейшее наблюдение больной может быть амбулаторным в зависимости от местных условий: в поликлиническом отделении специализированного кардиоакшерского учреждения или в районной женской консультации, но с обязательным участием кардиохирурга и кардиолога (терапевта).

В дальнейшем госпитализация в специализированное кардиоакшерское отделение осуществляется в плановом порядке между 26 и 28 неделями беременности. В этот период особенно повышается нагрузка на сердечно-сосудистую систему, возникает опасность развития сердечной недостаточности в результате усиления относительного стенозирования клапанным протезом и нарастания опасности тромбозов.

Третья госпитализация показана на 35—36 неделе беременности для подготовки к родам и родоразрешения. Однако в III триместре беременности происходит ухудшение основных параметров кардиореспираторной системы и гемостаза. В связи с этим ряд больных нуждаются в длительной госпитализации — с 26—28 недели до конца беременности.

В дородовое обследование больных необходимо включать весь комплекс клинических, рентгенологических, лабораторных и инструментальных методов исследования, направленных на оценку функционального состояния кардиореспираторной системы, показателей гемостаза, состояния плода.

При сборе анамнеза необходимо уделять особое внимание следующим вопросам:

1. Длительность заболевания, диагноз и исходная тяжесть состояния больной до операции на сердце.
2. Характер и давность перенесенной операции, тип протезирования, модель протеза.
3. Осложнения после операции на сердце в ближайшем и отдаленном периоде (тромбозы, бактериальный эндокардит, реактивация ревматического процесса, нарушения сердечного ритма).
4. Оценка отдаленных результатов протезирования клапанов сердца кардиохирургами по трехбалльной системе.
5. Степень физической и социальной реабилитации после операции (характер выполняемой работы, переносимость физической нагрузки, инвалидность).
6. Профилактическое использование антикоагулянтов после операции на сердце (временное или постоянное, препарат, доза, побочные явления, МНО, использование во время беременности).
7. Состояние специфических функций репродуктивной системы до и после операции на сердце.
8. Ухудшение состояния во время беременности (специфические осложнения, недостаточность кровообращения, нарушение ритма сердца и др.).

Осложнения беременности, тактика ведения

Результаты клинических наблюдений за течением и исходом беременности у больных с протезированными клапанами сердца позволили выявить присущие им осложнения гестационного процесса: кардиологические, специфические, акушерские и перинатальные.

Кардиологические осложнения. Нарастание сердечного выброса во время беременности приводит к увеличению трансвальвулярного градиента в любом протезированном клапане. Это увеличение менее гемодинамически и клинически значимо для женщин с нормальной функцией клапана или имевших симптомы I и II функционального класса до беременности. У женщин с симптомами III, IV класса или с патологической обструкцией протеза (например, из-за образования тромба) необходимо регулярное использование эхокардиографии для оценки ответа на увеличение сердечного выброса, включа-

ющего изменения функции левого желудочка, увеличение трансвальвулярного градиента, изменения давления в легочных артериях.

Таким образом, клинически наиболее частым кардиологическим осложнением гестационного процесса является нарастание признаков недостаточности кровообращения, обусловленное нагрузкой на оперированное сердце. Кроме увеличения трансвальвулярных градиентов выявлен еще ряд факторов развития и (или) усугубления сердечной недостаточности, среди которых наибольшее значение имеют сопутствующие некорригированные (или корригированные с неудовлетворительным результатом) пороки сердца.

По данным кардиохирургов ухудшение состояния больных вследствие прогрессирования сопутствующих некорригированных пороков сердца вне беременности встречается редко. Во время беременности в связи с повышенной гемодинамической нагрузкой на миокард многоклапанные поражения сердца приобретают взаимосоотгащающее течение.

Другой важной причиной развития и усугубления сердечной недостаточности во время беременности является исходно тяжелое состояние больных, когда операция на сердце производилась при недостаточности кровообращения IIБ — III ст., мерцательной аритмии, легочной гипертензии, атрио- и кардиомегалии, глубоких дистрофических изменениях в органах, кардиальном циррозе печени, сердечной кахексии. У этих больных, по нашим данным, после операции на сердце не отмечается выраженного обратного развития и уменьшения размеров сердца, сохраняются атрио- и кардиомегалия, мерцательная аритмия. Хороший результат операции на сердце по мере развития беременности нивелируется за счет возрастающей гемодинамической нагрузки, что приводит к срыву неустойчивой компенсации кровообращения.

Следующим неблагоприятным фактором является малый срок (менее одного года) после операции на сердце. В этой группе больных наиболее часто прогрессирует недостаточность кровообращения во время беременности. Наилучшие показатели кардиореспираторной системы отмечаются у больных, перенесших операцию за 1—4 года до наступления беременности. Однако, по нашим наблюдениям, давность перенесенной операции не играет столь существенной роли в исходе беременности, как исходная тяжесть состояния больных и сопутствующие пороки сердца.

Гестационный процесс у трети наблюдаемых нами больных с протезированными клапанами сердца сопровождался развитием различных нарушений ритма сердца (эктопические аритмии, нарушения атриовентрикулярной проводимости, мерцательная аритмия), что у ряда больных, особенно при возникновении мерцательной аритмии, способствует прогрессированию сердечной недостаточности.

Кардиологические осложнения развиваются достоверно реже ($p < 0,001$) у больных, перенесших протезирование аортального клапана (2,8%) по сравнению с больными, перенесшими протезирование митрального клапана (58,6%), и особенно многоклапанное протезирование (87,5%).

Специфические осложнения. К специфическим осложнениям после протезирования клапанов сердца относятся тромбозэмболические осложнения, тромбоз протеза, инфекционный эндокардит протезов, нарушение функции искусственных клапанов, паравальвулярные фистулы и внутрисосудистый гемолиз.

Тромбозэмболические осложнения. Основным специфическим осложнением протезирования клапанов сердца являются тромбозэмболии. Ни один из искусственных клапанов (даже биологический) не предохраняет от тромбозэмболий в послеоперационном периоде, но риск их в настоящее время значительно уменьшен благодаря усовершенствованию протезов и адекватной антикоагулянтной терапии.

Частота тромбозэмболических осложнений варьирует по данным разных авторов. Составляя у пациентов с механическими клапанами и адекватной антикоагулянтной терапией от 0,5—0,7% до 1,9—3% пациенто-лет при замене аортального клапана и от 0,5—0,9% до 2,8—5% пациенто-лет при замене митраль-

ного клапана. Более низкая скорость кровотока через митральный протез по сравнению с аортальным способствует более частому развитию тромбоэмболических осложнений у пациентов с митральными протезами. Кровотечение, вызванное приемом антикоагулянтов, продолжает быть одной из наиболее частых причин заболеваемости (от 1,3% до 2,7% пациенто-лет) и смертности (0,1% до 0,5% пациенто-лет) пациентов с искусственными клапанами сердца.

Артериальные тромбоэмболии у беременных с протезированными клапанами сердца могут иметь различную локализацию. Наиболее часто возникают тромбоэмболии в системе сосудов головного мозга и почечных артерий.

При благополучном исходе и успешном лечении тромбоэмболических осложнений дальнейшее ведение зависит от срока беременности. После проведения интенсивной терапии показан искусственный аборт, если тромбоэмболия произошла в ранние сроки беременности. У наблюдавшихся нами больных тромбоэмболические осложнения возникали во II—III триместрах беременности, когда время для искусственного аборта было упущено. Прерывание беременности путем операции малого кесарева сечения является крайне опасным из-за возможного ухудшения состояния больной (опасность развития сердечной недостаточности, тромбгеморрагических и других послеоперационных осложнений). Поэтому наиболее целесообразным считается продолжение беременности в условиях специализированного кардиоакушерского стационара до срока 35—36 недель и родоразрешение через естественные родовые пути. Если артериальные эмболии возникают ближе к сроку родов и сохраняются остаточные симптомы осложнения, то родоразрешение следует проводить путем операции кесарева сечения.

Одним из наиболее ранних признаков начинающегося тромбоза клапана у наблюдавшихся нами больных явилась тотальная декомпенсация кровообращения, неподдающаяся медикаментозной терапии. Недостаточность кровообращения возникала вследствие повышения давления в полости левого предсердия и сосудах малого круга кровообращения (стенозирующий эффект тромба митрального клапана, приводящий к депонированию крови в системе малого и большого кругов кровообращения). На фоне общего благополучия больные начинали жаловаться на одышку в покое, боли в области сердца, сердцебиение. Объективно появлялся цианоз, одышка, нарастающая тахикардия, гипотония, отек легких. Таким образом, возникали клинические симптомы левожелудочковой недостаточности и декомпенсации кровообращения по большому кругу.

Несомненным признаком начинающегося тромбоза являются повторные эпизоды артериальной эмболии с различной локализацией и особенно сочетание эмболических осложнений с декомпенсацией по большому кругу кровообращения.

Результаты исследования гемостаза при тромбозе митрального клапана свидетельствовали о резкой гиперактивности тромбоцитов и хроническом ДВС-синдроме.

Наши наблюдения показали, что при появлении признаков дисфункции протеза, указывающих на начинающийся тромбоз клапана, искусственное прерывание беременности не является методом выбора улучшения состояния больной. У небеременных пациенток при наличии свежих тромбов обструкцию клапана можно иногда устранить тромболитической терапией, но в большинстве случаев показана повторная операция — замена протеза. Для беременных женщин единственным способом спасения является экстренное оперативное вмешательство, выполняемое по жизненным показаниям и заключающееся в удалении тромбов и замене протезированного клапана. При повторном протезировании клапанов сердца, проводимом в условиях искусственного кровообращения, возможно спасение жизни матери и ребенка.

Инфекционный эндокардит протезов. Вторым по частоте серьезным специфическим осложнением у больных с искусственными клапанами является протезный эндокардит, который встречается у 0,7—3,8% больных преимущественно в первые 2—3 года после операции. Летальность при этом осложнении, по данным разных авторов, составляет 50—100%. Низкая эффективность антибак-

териального лечения объясняется тем, что инфекция, внедряясь в синтетическое покрытие протеза и шовный материал, становится труднодоступной для непосредственного воздействия антибиотиков. В большинстве случаев эндокардит сопровождается тромбозом и тромбозом болиями, нередко приводит к образованию околопротезных фистул или отрыву протеза.

Диагностика дисфункций протезов при тромбозах и инфекционных эндокардитах трудна даже при использовании трансторакальной эхокардиографии. Поэтому в последние годы большое внимание получил метод чрезпищеводной эхокардиографии, который позволяет избежать снижений амплитуды акустических волн вследствие наличия подкожного жирового слоя и мышц, а также протезированных и кальцинированных клапанов сердца. Чрезпищеводная эхокардиография обеспечивает непосредственную близость сканирующей поверхности датчика к стенке сердца и, следовательно, более четкую и ясную визуализацию полостей и клапанов сердца.

При выявлении симптомов инфекционного эндокардита впервые во время беременности необходимо лечение антибиотиками широкого спектра действия. В периоде ремиссии или некоторого улучшения состояния больной — досрочное прерывание беременности по витальным показаниям (артифициальный аборт в ранние и кесарево сечение в поздние сроки беременности). В большинстве случаев единственным путем санирования очага инфекции является операция — удаление инфицированного протеза с репротезированием.

Нарушение функции искусственных клапанов сердца. Нарушение функции механических клапанов сердца из-за разрушения запирающих элементов (шарика, диска) и отлома стоек (дужки клапана Bjork-Shiley) описаны, но встречаются очень редко.

Долговечность биологических клапанов обратно пропорциональна возрасту пациента. У лиц старше 35 лет 90—95% клапанов сохраняют свою функцию в течение 6—7 лет. К 10 годам таких клапанов остается приблизительно 70-80%. Исследования показали, что у пациентов моложе 35 лет функция протеза через 10 лет после имплантации не изменяется только у 55% пациентов. Кроме того, митральные клапаны разрушаются быстрее, чем аортальные. Нарушение функции клапана происходит из-за спонтанной дегенерации коллагена и кальцификации биопротезов и заключается в постепенном увеличении регургитации, развивается у больных, перенесших почечную недостаточность в послеоперационном периоде.

Возможно, что наряду с несовершенством конструкции биопротезов и особенностями гемодинамики причиной их дегенерации и кальцификации являются используемые в настоящее время методы консервации, которые не препятствуют проникновению кальция в ткань при различных обменных нарушениях в организме больного. В этом направлении ведутся интенсивные научные поиски.

Паравальвулярные фистулы. Значительно ухудшают результаты протезирования клапанов сердца паравальвулярные фистулы, наблюдающиеся у 1,8—8% больных. Причинами их образования являются грубый кальциноз фиброзного кольца, наличие инфекции, технические ошибки. Фистулы могут образовываться при токсическом воздействии глутарового альдегида на фиброзное кольцо при вшивании плохо отмытого от консерванта биопротеза. Клинические проявления этого осложнения зависят от величины и объема регургитации. При прогрессирующем нарушении кровообращения рекомендуется операция ушивания фистулы или репротезирование.

Внутрисосудистый гемолиз. Современные модели механических и тем более биологических клапанов не вызывают значительной травмы эритроцитов, и внутрисосудистый гемолиз не играет большой роли даже при многоклапанном протезировании.

Хирургическая тактика. Во время гестации может возникнуть необходимость в замене собственного пораженного клапана, который не справляется с возросшей нагрузкой, или в реплантации нового клапана при дисфункции протеза, если

операция была произведена до беременности. Вопрос о дальнейшем ведении беременности решается индивидуально в зависимости от клинических проявлений и срока беременности совместно с кардиохирургом и кардиологом. Необходимо определение наиболее безопасного времени проведения оперативного вмешательства для матери и плода. По мнению одних авторов, операция замены клапана с использованием искусственного кровообращения может быть выполнена с минимальным риском для матери. Остающийся, тем не менее, значимый риск для плода (смертность около 20% в ранних исследованиях) можно уменьшить, выполняя вмешательство во втором триместре. В это время удается избежать тератогенных эффектов, возникающих при операциях, проводимых в первом триместре, и фетоплацентарной недостаточности третьего триместра. Как альтернативное время предлагается проведение оперативного вмешательства по замене клапанов сразу после родоразрешения путем кесарева сечения. Другие авторы на основе исследований показали, что риск для матери минимален, если операция замены клапана проводится в первом или во втором триместрах; риск для плода является минимальным, если вмешательство проводится после кесарева сечения и, конечно, когда операция проводится в ближайшие сроки после родов. Для матери риск повышается при проведении оперативного вмешательства сразу после родов. Первое сообщение об успешно проведенном кесаревом сечении с последующей заменой клапана, используя искусственное кровообращение, относится к 1981 году.

Кроме того, при митральном стенозе у беременных возможно выполнение закрытой митральной комиссуротомии, которая должна выполняться при сроке беременности 14—26 недель. В более поздние сроки (37—39 недель) необходимо одновременно делать кесарево сечение.

При операциях замены клапанов сердца с использованием искусственного кровообращения у беременной женщины проводят тщательное наблюдение за физиологическим статусом обоих пациентов: матери и плода. Для этого должны использоваться инвазивная катетеризация периферической и легочной артерий, а также мониторинг сокращений матки и частоты сердечных сокращений плода.

Искусственное кровообращение должно поддерживать высокую скорость кровотока и высокое давление, чтобы обеспечить требуемую плацентарную перфузию. Большое внимание должно быть уделено снижению частоты сердечных сокращений плода, что свидетельствует о его гипоксии. Некоторые центры считают, что также должна поддерживаться нормотермия для предотвращения брадикардии плода. Вазопрессоры, особенно альфа-адренергические агонисты, могут вызывать спазм маточной артерии и сосудов плаценты, приводящие к гипоксии плода. Если требуется фармакологическая поддержка прессорами, то низкие дозы допамина (4—8 мг/кг/мин) оказываются достаточными, чтобы обеспечить необходимую поддержку и умеренное расширение маточной артерии.

Прогрессирующее нарушение кровообращения при развитии специфических осложнений требует безотлагательного досрочного прерывания беременности.

Акушерские осложнения. Среди акушерских осложнений наиболее характерным является развитие ОПГ-гестоза (28,9%), что превышает частоту этой патологии во всей популяции больных пороками сердца, где она составляет 17—19,2%. Частое развитие гестоза у наблюдавшихся больных можно объяснить имеющимися у них сосудистыми нарушениями, тромбофилией, недостаточностью кровообращения и синдромом ДВС.

Развитие позднего гестоза у больных с клапанными протезами сердца способствует нарастанию сердечной недостаточности, повышает и без того высокий риск тромбозомнолических осложнений, усугубляя течение синдрома ДВС и вызывая развитие его подострой формы. ОПГ-гестоз участвует, наряду с другими причинами (гемодинамические сдвиги, активный ревматизм, нарушения дыхательной функции легких, гемостаза), в формировании плацентарной недостаточности и задержки внутриутробного развития плода.

Частым осложнением беременности является угроза ее прерывания (23,7—80%), что превышает частоту этой патологии (18,6—20%) в общей популяции больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и связывается в настоящее время с циркуляцией АФА у беременных с протезированными клапанами сердца и наличием тромбофилии другого генеза.

Высокая частота таких осложнений в родах, как преждевременное и раннее излитие околоплодных вод (26%), быстрые и стремительные роды (13,5%) соответствует частоте этой патологии у больных с пороками сердца.

Патологическая кровопотеря в последовом и раннем послеродовом периоде, возникая в несколько раз чаще, чем у здоровых рожениц, составила по материалам специализированного перинатального центра городской клинической больницы № 67 в 1970—80-е годы 16,8% с тенденцией к снижению в последующие годы до 4,5%. Объем и частота патологической кровопотери имеет прямую зависимость от стадии недостаточности кровообращения. Она достигает 11,6—30,7% у декомпенсированных больных и зависит в основном от изменений системы гемостаза и реологических свойств крови.

У больных с клапанными протезами сердца патологическая кровопотеря в последовом и раннем послеродовом периоде встречается наиболее часто, что, по мнению ряда авторов, в значительной мере обусловлено изменениями системы гемостаза как в результате кардиальной патологии, так и вследствие постоянного приема антикоагулянтов.

В наших наблюдениях патологическая кровопотеря в последовом и раннем послеродовом периодах развилась у 11,4% больных, гематомы мягких тканей передней брюшной стенки — у 8,5% больных.

Перинатальные осложнения. Осложненное течение беременности у женщин, перенесших протезирование клапанов сердца, привело к формированию перинатальной патологии: у 85,0±7,9% беременных выявлялось нарушение маточно-плацентарного кровотока (по данным радиоизотопной плацентографии), у 41,3±5,7% — задержка внутриутробного развития плода, у 23,8±6,6% — хроническая гипоксия. Перечисленные показатели имеют достоверную тенденцию к ухудшению у беременных с недостаточностью кровообращения IIA — IIIB ст. по сравнению с беременными при недостаточности кровообращения 0—I ст.

Ведение беременных с протезированными клапанами сердца

Ведение беременных с механическими клапанами сердца весьма проблематично, так как они традиционно составляют группу высочайшего риска по развитию тромбоэмболических осложнений. Следует учитывать, что и вне беременности искусственные клапаны — прямое показание к пожизненной антикоагулянтной терапии. Однако если вне беременности антикоагуляция обеспечивается оральными антикоагулянтами — производными кумарина (в основном, это варфарин в большинстве стран), то во время беременности — гепарином. В мировой практике все еще недостаточно данных об адекватной, безопасной и эффективной антитромботической терапии у женщин с искусственными клапанами сердца (ИКС) во время беременности. Согласно последним данным, считается, что гепарин ассоциируется с большим количеством тромбоэмболий, чем варфарин. Также появился сообщения о безопасности применения варфарина во время беременности, в том числе и в I триместре, поскольку он не ассоциируется с эмбриопатиями. Тем не менее, риск геморрагических осложнений у плода и влияние на ЦНС не отвергается. Сообщения о высоком уровне тромбоэмболизма на фоне терапии гепарином у беременных с ИКС, по сравнению с варфарином, могут объясняться неадекватностью дозы гепарина. Следует учитывать, что беременные с ИКС не чувствительны к средним дозам гепарина. Поэтому ведение таких беременных требует особого внимания, поскольку недостаточная доза гепарина ассоциируется с неудачами в лечении. Чтобы избежать тромбоэмболических осложнений, необходимы адекватная перво-

начальная гепаринизация и тщательный мониторинг терапии. Хотя терапевтическая доза гепарина подразумевает удлинение АЧТВ в 1,5 раз от контрольного времени, она считается недостаточной для обеспечения антитромботического эффекта у беременных с ИКС, и потому необходимо добиться удлинения АЧТВ, по меньшей мере, в 2 раза от контрольного времени. Доказано, что длительно применяющийся 2 раза в день подкожно гепарин в дозах, достаточных для поддержания терапевтического уровня в крови, также эффективен, как и длительно применяющийся варфарин (INR 2,5—4,9) для лечения острого венозного тромбоза. Однако такие дозы гепарина могут быть менее эффективны, чем варфарин для предупреждения артериального тромбоза у беременных с ИКС. В связи с этим, разумно рекомендовать наряду с гепарином аспирин в низких дозах (80—100 мг в день) на протяжении беременности.

В связи с вышеизложенным возможны 2 подхода к ведению беременных с ИКС: первый подразумевает использование гепарина на протяжении всей беременности 2 раза в день п/к в дозе, достаточной для достижения терапевтического значения АЧТВ (в 2 раза больше, чем контрольное). Второй подход подразумевает использование гепарина до 13 недель, с последующей заменой его на варфарин до середины III триместра, после чего вновь назначается гепарин до родов. Хотя второй подход позволяет избежать варфариновой эмбриопатии, другие фетопатии (например, аномалии ЦНС) все же возможны. Хотя в некоторых странах (в том числе и в Англии) еще остались приверженцы второго подхода, мы считаем, что все же предпочтение следует отдавать терапии гепарином на протяжении всей беременности. Помимо того, что при варфаринотерапии риск аномалий ЦНС остается, беременные в III триместре с адекватной антикоагуляцией варфарином могут дать катастрофические кровотечения при неотложной акушерской ситуации, такой как отслойка плаценты, или при ургентном кесаревом сечении, а также при наложении щипцов. Варфарин имеет пролонгированный эффект, который нельзя быстро реверсировать. При назначении витамина К реверс достигается в течение 24 часов. Единственным быстрым методом лечения при кровотечении является переливание свежезамороженной плазмы, которая восполняет недостаток витамин-К-зависимых факторов немедленно. Однако такое лечение не будет эффективно для большого дефицита витамин К-зависимых факторов у плода. Это объясняется тем, что уровень витамин К-зависимых факторов возвращается к нормальному только через 7—9 дней после того, как мать прекратила принимать варфарин. Учитывая это важное обстоятельство, необходимо произвести родоразрешение наименее травматичным способом во избежание внутренних кровотечений у плода. В экстремальных случаях витамин К вводят плоду трансамниотическим путем.

В послеродовом периоде родильницы вновь могут принимать варфарин, даже если кормят грудью. Значительная секреция варфарина в грудное молоко отсутствует, а обнаруживаемые метаболиты варфарина не вызывают антикоагуляцию у новорожденного. Как уже указывалось, то же нельзя отнести к фенидиону (фенилину): применение его кормящей матерью является причиной тяжелых кровотечений у новорожденного, находящегося на грудном вскармливании.

Для женщин с ИКС, принимающих гепарин длительно антенатально, желательно не применять гепарин в послеродовом периоде более чем 6 недель и переходить как можно раньше на варфарин, из-за высокого риска развития осложнений (остеопороз, аллопеция, снижение антитромбина III). Первые 2 недели — 1 месяц необходим тщательный мониторинг дозы варфарина с установлением терапевтического интервала INR в пределах 2,5—3,5.

Начальная доза гепарина в антенатальном периоде, как правило, составляет 17500—20000 Ед каждые 12 часов п/к с достижением через 6 часов после инъекции терапевтического уровня АЧТВ.

НМГ имеют ряд преимуществ по сравнению с НГ для длительной профилактики тромбоземболических осложнений у беременных с ИКС в антенатальном пе-

риоде. Это объясняется, прежде всего, снижением риска кровотечения и остеопороза, а также отсутствием негативных эффектов на плод. Согласно нашему опыту, терапевтическая доза НМГ фраксипарина 250 ICU/кг 1 раз в сутки п/к эффективно предотвращает развитие тромбоемболических осложнений у беременных с ИКС, а также не вызывают повышенной кровопотери при родоразрешении. На рис. 105 представлены основные принципы противотромботической терапии у беременных с искусственными клапанами сердца.

Основные принципы проведения родов и операции кесарева сечения. Ведение послеродового периода

Выбор способа родоразрешения у больных определяется их состоянием к сроку родов: стадией недостаточности кровообращения, эффективностью медикаментозной терапии, активностью ревматического процесса, характером специфических осложнений во время беременности, сопутствующей акушерской и экстрагенитальной патологией, степенью тяжести плацентарной недостаточности и задержки внутриутробного развития плода.

Родоразрешение беременных, относящихся в процессе наблюдения и лечения к I или II степени риска, рекомендуется проводить через естественные родовые пути с ограничением физической нагрузки, выключением потуг во втором периоде родов (операция наложения акушерских щипцов). Наиболее тяжелые больные III степени риска при положительном результате медикаментозной терапии также родоразрешаются с помощью операции наложения акушерских щипцов.

Согласно нашим данным, при родоразрешении через естественные родовые пути существенного ухудшения состояния больных не было отмечено, гемодинамика оставалась стабильной, нарушения ритма не прогрессировали.

Родоразрешение путем операции кесарева сечения в плановом порядке проводят по следующим показаниям:

1. клиническое ухудшение состояния больных: нарастание симптомов недостаточности кровообращения, подтвержденное результатами функционального исследования кардиореспираторной системы, отсутствие стабильного эффекта от медикаментозной терапии;
2. активная фаза ревматизма;
3. возникновение специфических осложнений во время беременности (артериальные тромбоемболии с остаточными явлениями к сроку родов, бактериальный эндокардит и др.);
4. акушерская патология (тазовое предлежание плода, предлежание плаценты, тяжелые формы ОПГ-гестоза);
5. задержка развития плода при отставании от гестационного срока более 2—3 недель.

Операция кесарева сечения рассматривается как вынужденный способ родоразрешения у наиболее тяжелых больных. Ограничение показаний к операции обусловлено тем, что кесарево сечение у больных пороками сердца создает по сравнению с родоразрешением через естественные родовые пути наибольшую нагрузку на сердце, которая сохраняется в первые дни послеоперационного периода (резкое возрастание минутного и ударного объема сердца и соответственно работы левого желудочка).

Показанием к абдоминальному родоразрешению у беременных I и II степени риска является акушерская патология, у больных III степени риска — сочетание тяжелой кардиальной и акушерской патологии и кардиальная патология с тенденцией к ухудшению.

Дородовая подготовка к родоразрешению через естественные родовые пути включает в себя:

1. лечение в условиях специализированного кардиоакушерского стационара не менее 4—5 недель до родов, консультация кардиохирурга;

2. продолжение кардиальной терапии — замена перорального приема сердечных гликозидов на внутривенный в индивидуальной дозировке в сочетании с препаратами, улучшающими обменные процессы в миокарде (кокарбоксилаза, АТФ, витамины группы В и С и др.);

3. за 2—3 недели до предполагаемого срока родов — замена непрямых антикоагулянтов на гепарин в сочетании с антиагрегантами и иммуносупрессорной терапией (преднизолон) под контролем показателей системы гемостаза;

4. за 2—3 дня до предполагаемого срока родов назначение максимальных доз антибиотиков широкого спектра действия с целью профилактики развития местной инфекции и инфицирования в области протезированных клапанов;

5. одно-двукратное переливание свежезамороженной плазмы накануне родоразрешения, в случае выявления подострой формы синдрома ДВС (профилактика коагулопатического кровотечения и образования гематом).

Ведение родов осуществляет бригада врачей, состоящая из акушера, терапевта (кардиолога), анестезиолога и неонатолога. Необходимо постоянное наблюдение за состоянием больной, функцией протезированного клапана сердца, стабильностью гемодинамики, течением родового процесса, состоянием плода (кардиомониторное наблюдение). Кардиальная терапия назначается в зависимости от гемодинамических нарушений. При стабильной гемодинамике достаточным является введение сердечных гликозидов (дигоксин, изоланид, коргликон) в конце первого периода родов. Одновременно рекомендовано применять витамины группы В и С, АТФ, кокарбоксилазу, преднизолон (витамино-энергетический комплекс). С началом родовой деятельности отменяют введение гепарина и возобновляют через 6—8 часов после родов.

Во втором периоде родов операция наложения акушерских щипцов проводится под общей анестезией: используется наркоз анестетиками ультракороткого действия (сомбревин) или масочный наркоз пентраном (или фторотаном) в сочетании с закисью азота.

Ведение II, III и раннего послеродового периода проводится с «иглой в вене». С целью профилактики патологической кровопотери в момент прорезывания головки плода одновременно вводят метилэргометрин по общепринятой методике, после рождения ребенка добавляют 5 ЕД окситоцина (капельно).

На фоне использования антикоагулянтов у больных отмечается повышенная кровоточивость из периферических сосудов при травме мягких родовых путей с образованием гематом. В связи с этим больные с клапанными протезами нуждаются в более тщательном проведении мероприятий по предупреждению травм родовых путей, а при ушивании травм — в тщательном гемостазе во избежание образования гематом.

Родоразрешение абдоминальным путем. Дородовая подготовка к родоразрешению абдоминальным путем включает все перечисленные мероприятия по подготовке к родоразрешению через естественные родовые пути. Помимо этого, с целью выбора параметров искусственной вентиляции легких для эндотрахеального наркоза проводят определение показателей дыхательной функции легких. Накануне операции больным назначают седативные средства. Перед операцией с больной согласовывают вопрос о стерилизации, считая ее показанной всем больным, перенесшим протезирование клапанов при ревматическом пороке сердца.

Операция кесарева сечения проводится под эндотрахеальным наркозом с проведением искусственной вентиляции легких в режиме умеренной гипервентиляции по методике, разработанной Н.Н.Панкратовой для больных с сердечно-сосудистой патологией. Больным проводится чревосечение по Джоель-Кохену и кесарево сечение в нижнем маточном сегменте с поперечным его рассечением. Предоперационная подготовка с включением одно-двукратного переливания свежезамороженной плазмы в количестве 200—250 мл, сочетанная противотромботическая терапия гепарином и антиагрегантная под контролем систе-

мы гемостаза, отмена гепарина за 8—12 часов до операции, тщательный гемостаз во время операции и адекватная анестезия позволяют избежать патологической кровопотери при операции кесарева сечения и образования под- и надпоясничных гематом.

Ведение послеродового периода. В послеродовом периоде у больных с клапанным протезами имеется повышенная опасность нарастания признаков недостаточности кровообращения, нарушений ритма сердца, реактивации ревматизма, тромбозомболических и септических осложнений. Ухудшение течения основного заболевания зависит от способа родоразрешения и стадии недостаточности кровообращения, являясь более значительным у больных с III степенью риска. Чем тяжелее стадия недостаточности кровообращения накануне родоразрешения, тем длительнее сохраняются ее признаки в послеродовом периоде. В связи с этим в послеродовом и послеоперационном периоде больным проводится интенсивная кардиальная терапия по тем же принципам, что и во время беременности с индивидуальной дозировкой сердечных гликозидов. В первые дни послеродового периода продолжали терапию преднизолоном с постепенным снижением дозы и отменой к выписке из стационара. В течение 7—10 дней, независимо от характера родоразрешения проводится терапия антибиотиками (профилактика послеродовых септических осложнений, инфицирования клапанов, обострения ревматизма).

В послеоперационном и послеродовом периодах через 8—12 часов после родоразрешения необходимо продолжение контролируемой противотромботической терапии, учитывая наибольшую опасность возникновения тромботических и тромбозомболических осложнений у больных с протезированными клапанами именно в этом периоде. Гепарин применяют в дозе 5000 ЕД 4 раза в сутки в течение 8—10 суток послеродового или послеоперационного периода. За 1—2 дня до окончания курса гепаринотерапии родильниц постепенно переводят на варфарин еще на фоне применения гепарина. Одновременно с антикоагулянтами больные продолжают принимать антиагреганты под контролем системы гемостаза. По достижении МНО 2,5—3,5 гепарин отменяется.

С первых дней послеродового периода проводится лечебная физкультура с включением дыхательных упражнений и движений в суставах конечностей.

Вопрос об исключении лактации должен решаться в зависимости от тяжести состояния больной (стадии недостаточности кровообращения II, обострения ревматизма, специфических осложнений).

Ниже приводим клинический случай ведения беременной с многоклапанным протезированием.

Клинический пример

Больная Б., 29 лет (г. Брянск), инвалид II группы, не работает, поступила в специализированное родильное отделение 67 городской клинической больницы г. Москвы 28.02.99г. Диагноз при поступлении: Беременность 20—21 неделя. Угрожающий выкидыш. Ревматизм, неактивная фаза. Состояние после протезирования митрального и аортального клапанов в 1996г. механическими шаровыми протезами. Гнойный парапроктит.

Из анамнеза: в детстве частые ангины. С 15 лет больна ревматизмом. В связи с резким ухудшением состояния в 1996г. произведено протезирование митрального и аортального клапанов механическими шаровыми протезами. С этого же времени в непрерывном режиме получала непрямые антикоагулянты (фенилин 1,5 т/д.).

В анамнезе 1 беременность, закончившаяся искусственным абортom. Данная беременность вторая. На сроке 19 недель диагностирован гнойный парапроктит. Инфильтрат был удален оперативным путем, однако имел место рецидив гнойного парапроктита на сроке 20—21 неделя, к которому присоединилась угроза прерывания беременности. В связи с очередной операцией удаления гнойного инфильтрата прием непрямого антикоагулянта был прекращен. После операции удаления гнойного инфильтрата, произведенной в хирургии-

ческого отделении 67 больницы, больная была переведена во II акушерское отделение, где ей был назначен фраксипарин в дозе 250 ICU/кг в сутки подкожно, а также проводилась антибиотикотерапия (ампициллин).

На фоне проводимой терапии отмечалось как успешное заживление послеоперационной раны, так и улучшение акушерской ситуации: угроза прерывания беременности миновала: плода развивался нормально (по данным УЗИ, КТГ и доплерометрии). В 39 недель беременная была родоразрешена путем операции кесарева сечения.

В ходе операции кесарева сечения производилось переливание свежезамороженной плазмы. Был извлечен плод массой 3900 г, длиной 52 см. Произведена трубная стерилизация. Общая кровопотеря составила 300 мл. Послеоперационный период протекал без осложнений. Получала фраксипарин в дозе 250 ICU/кг в сутки (терапия была возобновлена через 8 часов после родоразрешения) в течение 10 дней. С 7-го дня стала получать непрямой антикоагулянт варфарин (МНО 2,0—3,0). Кроме того, в послеоперационном периоде больная получала антибиотикотерапию, кардиоселективную терапию. Послеоперационный шов зажил первичным натяжением. Выписана домой на 11 суток.

Больная имела следующую динамику показателей системы гемостаза:

До терапии фраксипарином:

АЧТВ — 20 сек; ВА (+); ПДФ 2 — 10 x 10 — 3 г/л; ПИ — 90%; ТАТ 56 мкг/л;

Функция тромбоцитов: адреналин — 80%; АДФ — 80%; ристомидин — 96%. Характер агрегатограммы: высокая необратимая агрегация под действием средних и малых доз АДФ (1 x 10 — 5М и 1 x 10 — 7М) и адреналина; падение фаз первичной и вторичной агрегации.

PF4 — 22 мкг/л. На фоне терапии фраксипарином:

АЧТВ — 38 сек; ПДФ до 10 x 10 — 3 г/л; ПИ 85%; ТАТ 2,5 мкг/л; F1 + 2 1,1 нмоль/л.

Функция тромбоцитов:

Адреналин 35%; АДФ — 40%; ристомидин — 45%. Характер агрегатограмм: агрегация необратимая, двухфазная под действием малых доз адреналина.

PF4 — 5,5 мкг/л.

Комментируя этот случай, хотелось особо отметить, что у данной пациентки риск тромбоэмболизма был чрезвычайно высок (протезированные 2 клапана, гнойный процесс в малом тазу, циркулируя ВА, кесарево сечение). Тем не менее, адекватная терапия позволила предупредить развитие и тромбоэмболии эндокardита. В данном случае это был первый опыт успешного применения НМГ у пациентки с искусственными клапанами сердца.

Таким образом, подводя итог, следует еще раз подчеркнуть, что беременные с заболеваниями сердца представляют группу высокого риска развития не только сердечно-сосудистых осложнений, но и тромбоэмболических.

Анализ 22 случаев смерти беременных, рожениц и родильниц, имевших место в специализированном кардиологическом родильном доме 67 ГКБ с 1982 по 1998 год, показал, что у 3 (13,64%) были цианотические пороки, у 4 (18,18%) — ацианотические пороки, у 12 (54,5%) — приобретенные пороки сердца, у 7 (31,8%) — оперированное сердце, у 3 (13,6%) — первичная легочная гипертензия. Средний возраст женщин составил 27±1,8 лет.

Ведущими причинами материнской летальности явились декомпенсация сердечно-сосудистой системы (54,5%), тромбоэмболические осложнения (40,9%) и септические осложнения (4,6%).

Противопоказания к наступлению беременности были у всех 22 умерших женщин: у 15 (68,2%) — абсолютные противопоказания и у 7 (31,8%) — относительные.

Кроме того, при ретроспективном анализе архивного материала отсутствовали данные о проведении неспецифической профилактики, а также были выявлены ошибки, допущенные при проведении специфической профилактики (антикоагулянтная, антиагрегантная, инфузионная) у больных с сердечно-сосудистой патологией.

С нашей точки зрения ошибки в тактике ведения обусловлены рядом факторов:

1. Отсутствие специальных методов лабораторной диагностики тромбофилии (ТАТ, Д-димер).
2. Поздним началом противотромботической профилактики.
3. Неадекватной антикоагуляцией.
4. Неадекватным выбором антибактериальных препаратов по спектру действия для профилактики и лечения септических осложнений.

В заключение хотелось бы отметить, что раннее применение антикоагулянтов (предпочтительно НМГ) и антиагрегантов в группах высокого риска (в том числе при наличии генетической тромбофилии или АФС) при условии адекватного дозирования в абсолютном большинстве случаев позволяет избежать смертельных тромбоэмболических осложнений у пациенток с заболеваниями сердца и средним / высоким риском тромбоэмболизма.

Список литературы

1. Аббасси Хайсам. Значение дородового выявления различных форм патологических изменений в системе гемостаза для предупреждения тромбоэмболических осложнений в акушерской практике. Дисс. ... канд.мед.наук. — М., ММА, 1995.
2. Амбатьелло Л.Г., Чазова И.Е., Масенко В.П., Наконечников С.Н. Уровень некоторых маркеров эндотелиальной дисфункции у больных с дефектом межпредсердной перегородки, оперированных в возрасте старше 25 лет. // Кардиология, 2001, № 8, с. 38—40.
3. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. // М., Изд-во «Ньюдиамед», 2000, 148 с.
4. Беленков Ю.Н., Батыралиев Т.А., Першуков И.В. и др. Инвазивная кардиология: фокус на рестеноз. (часть 2) // Кардиология, № 11, 2002, с. 68—69.
5. Бицадзе В.О. Патогенетическое обоснование применения низкомолекулярных гепаринов у беременных с заболеваниями сердца и тромбофилией. // Дисс... канд.мед.наук, М., 2000.
6. Кириенко А.И., Леонтьев С.Г. и др. Экстренная помощь беременным и родильницам при тромбоэмболии легочной артерии. // Росс. медицинский журнал, 1996, № 2, с.21—25.
7. Кочарян П.Э. Состояние и коррекция нарушений гемостаза у беременных, рожениц и родильниц с врожденными пороками сердца. // Дисс... канд.мед.наук, М., 1992.
8. Крашутинский В.В., Проскурин В.М. Прогностическое значение изменений системы гемостаза при массивной ТЭЛА. //Клин. медицина, 1997, № 10, с.38—41.
9. Кужель Д.А., Шульман В.А., Матюшин Т.В. Случай семейной формы первичной легочной гипертензии. // Тер. архив, 2002, № 3, с.65—66.
10. Макацария А.Д. Антифосфолипидный синдром в акушерской практике. // М., «Руссо», 2000, 343 с.
11. Макацария А.Д., Беленков Ю.Н., Бейлин А.Л. Беременность и врожденные пороки сердца.// М., «РУССО», 2001, 416 с.
12. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. // М., «РУССО», 2001, 703 с.
13. Макацария А.Д., Мищенко А.Л. Современная профилактика тромбоэмболических осложнений в акушерстве. // Тезисы докладов 1 съезда РА-АГ, М., 1995, с. 64—66.

14. Макацария А.Д., Мищенко А.Л. Вопросы циркуляторной адаптации гемостаза при физиологической беременности и синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания. // Акушерство и гинекология, 1997, № 1, с. 38—41.
15. Макацария А.Д., Султанова И.О., Смирнова Л.М. Дифференциальная диагностика и принципы профилактики тромбоэмболических осложнений у беременных с искусственными клапанами сердца. // Акушерство и гинекология, 1991, № И, с. 28—33.
16. Манухин И.Б. Ведение беременности и родов у больных с оперированным сердцем. // Автореф. дисс..... докт. мед. наук, Киев, 1987, 39 с.
17. Манухин И.Б., Шехтман М.М., Невзоров О.Б. Беременность и роды у больных митральным пороком сердца // М., «Триада-Х», 2001.
18. Мареев В.Ю., Чазова И.Е., Лобова Н.М. Особенности течения хронической недостаточности кровообращения у больных первичной легочной гипертензией. // Кардиология, 1992, № 5, с. 5—7.
19. Мартынюк Т.В., Масенко В.П., Чазова И.Е. и др. Эндотелиальная дисфункция у больных с легочной гипертензией. // Кардиология, 1997, № 10, с. 25—29.
20. Наконечников С.Н., Чазова И.Е., Панченко Е.П. и др. Состояние системы гемостаза и фибринолиза у больных с различными формами легочной гипертензии. // Кардиология, 1995, № 2, с. 37—41.
21. Опыт применения низкомолекулярного гепарина (фрагмина) в акушерско-гинекологической практике. Под ред. акад. РАМН В.И.Кулакова, М., 2001.
22. Панченко Е.П. Роль гепарина в профилактике тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии у терапевтических больных. // Клиническая медицина, 2001, № 3, с. 59—62.
23. Пожилова О.В. Профилактика тромбоэмболических осложнений у беременных с легочной гипертензией. // Дисс ... канд. мед наук., 2003. — 154 с.
24. Привалова Е.В., Сумароков А.В., Савельев А.И., Рыбакова Г.М., Гадаев И.Ю., Сучкова С.А. Первичный антифосфолипидный синдром и высокая легочная гипертензия без тромбоза артерий малого круга кровообращения. // Тер. архив, 2001, № 3, с. 62—63.
25. Смирнова Л.М. Беременность и роды у женщин с искусственными клапанами сердца.// Дисс...д-ра мед. наук. Москва, 1994.
26. Султанова И.О. Патогенетическое обоснование коррекции нарушений в системе гемостаза у беременных и родильниц с приобретенными пороками сердца. // Дисс... канд.мед.наук, М., 1991.
27. Чазова И.Е. и др. Воздействие длительного лечения фраксипарином на гемостаз у пациентов с первичной легочной гипертензией». // Тер. архив, 1997, № 69 (9).
28. Чазова И.Е., Беленков Ю.Н. Первичная легочная гипертензия. — М., 1999.
29. Яковлев В.Б. Тромбоэмболия легочной артерии. Диагностика, лечение, профилактика. // РМЖ, 1998, т. 6, № 16.
30. Abenhaim L., Moride Y., Brenot F., Rich S., et al. Appetite suppressant drug and the risk of primary pulmonary hypertension. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group.// N. Engl. J. Med., 1996; 325: 609—616.
31. Al-Khadra A.S., Salem D.N., et al. Antiplatelet agents and survival: a cohort analysis from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) trial. // J. Am. Coll. Cardiol., 1998; 31: 419—425.

32. Al-Khadra A.S., Salem D.N., et al. Warfarin anticoagulation and survival: a cohort analysis from the studies of left ventricular dysfunction. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31: 749—753.
33. Altman R., Scazziota A., Rouvier J. Efficacy of unfractionated heparin, low molecular weight heparin and both combined for releasing total and free tissue factor pathway inhibitor. // *Haemostasis*, 1998; 28: 229—235.
34. Anand S.S., Yusuf S., Pogue J. et al. Long-term oral anticoagulant therapy in patients with unstable angina or suspected non-Q-wave myocardial infarction. // *Circulation*. 1998; 98: 1064—1070.
35. Arom K., Emery R., Nicoloff D., et al. Anticoagulant related complications in elderly patients with St Jude mechanical valve prosthesis. // *J. Heart Valve Dis.*, 1996; 5: 505—510.
36. Atrial Fibrillation Investigators. Echocardiographic predictors of stroke in patients with atrial fibrillation: a prospective study of 1066 patients from 3 clinical trials. // *Arch. Intern. Med.*, 1998; 158: 1316—1320.
37. Booke M. Et al. Prostaglandins in patients with pulmonary hypertension: the route of administration. // *Anesth. — Analg.*, 1998, April 86 (4).
38. Borg J.Y., Boudigwi O., Canard J., Steinberg G., et al. Assessment of a low molecular weight heparin (enoxaparin) safety during pregnancy: a retrospective study of 624 pregnancies. // XVII Int. Congress on Thromb. and Hemostasis, 1999, USA.
39. Burke A.P., Farb A., et al. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 1267—1281.
40. Cairns J.A., et al. Fifth ACCP Consensus Conference on Antithrombotic Therapy. // *Chest.*, 1998; 114: 611—635.
41. Cannegieter S.C., Rosendaal F.R., Wintzen A.R., van der Meer F.J.M., Vandembroucke J.P., Brief E. Optimal oral anticoagulant therapy in patients with mechanical heart valves. // *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 11—17.
42. Cohen M., Demers C., et al. A comparison of low molecular weight heparin with unfractionated heparin for unstable coronary artery disease. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 447—452.
43. Coumadin Aspirin Reinfarction Study (CARS) Investigators. Randomised double-blind trial of fixed low-dose warfarin with aspirin after myocardial infarction. // *Lancet*, 1997; 350: 389—396.
44. Coumadin aspirin re-infarction study investigators. Randomised double-blind trial of fixed low-dose warfarin with aspirin after myocardial infarction. // *Lancet*, 1997; 350: 389—396.
45. Dries D.L., Rosenberg Y., et al. Ejection fraction and risk of thromboembolic events in patients with systolic dysfunction and sinus rhythm: evidence for gender differences in the studies of left ventricular dysfunction trials. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1997; 29: 1074—1080.
46. Eckman M.H., Falk R.H., Pauker S.G. Cost-effectiveness of therapies for patients with nonvalvular atrial fibrillation. // *Arch. Intern. Med.*, 1998; 159: 1669—1677.
47. Eckman M.H., Levine H.J., Pauker S.G. Making decisions about antithrombotic therapy in heart disease: decision analytic and cost-effectiveness issues. // *Chest*, 1995; 108(Suppl): 457—470.
48. Flaker G.C., McGowan D.J., Boechler M., Fortune G., Gage B. Underutilization of antithrombotic therapy in elderly rural patients with atrial fibrillation. // *Am. Heart. J.*, 1999; 137: 307—312.
49. Fragmin and fast revascularization during instability in coronary artery disease (FRISC II) investigators. Low molecular-mass heparin in unstable coronary artery disease: FRISC II prospective randomised multicenter study. // *Lancet*, 1999; 354: 701—707.

50. Gage B., Cardinali A.B., Wyrwich K.W., Albers G.W., Rich M.W., Owens D.K. Meta-analysis of the optimal INR in nonvalvular atrial fibrillation (abstract). // *Gen. Intern. Med.*, 1998; 13(Suppl.): 25.
51. Gage B.F., Boechler M., Doggette A.L., et al. Adverse outcomes and predictors of underuse of antithrombotic therapy in Medicare beneficiaries with chronic atrial fibrillation. // *Stroke*, 2000; 31: 822—827.
52. Gage B.F., Cardinali A.B., Owens D.K. Cost-effectiveness of preference-based antithrombotic therapy for patients with nonvalvular atrial fibrillation. // *Stroke*, 1998; 29: 1083—1091.
53. Hart R.G., Benavente O., McBride R., Pearce L.A. Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. // *Ann. Intern. Med.* 1999; 131: 492—501.
54. Heart Failure Society of America guidelines for management of patients with heart failure caused by left ventricular systolic dysfunction — pharmacologic approaches. // *Cardiac Failure*, 1999; 5: 357—382.
55. Klien W., Buchwald A., et al. Fragmin in unstable angina or in non-Q-wave myocardial infarction (the FRIC study). // *Am. J. Cardiol.*, 1997; 80: 308—348.
56. Leon M.B., Bairn D.S., et al. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. // *N. Engl. J. Med.*, 1998; 339: 1465—1471.
57. Lincoff A.M., Califf R.M., Anderson K.M., Weisman H.F., Aguirre F.V., Kleiman N.S., et al. Evidence for prevention of death and myocardial infarction with platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade by abciximab (c7E3 Fab) among patients with unstable angina undergoing percutaneous coronary revascularization. // *Am. Coll. Cardiol.*, 1997; 30: 149—56.
58. Monette J., Gurwitz H., Rochon P.A., Avorn J. Physician attitudes concerning warfarin for stroke prevention in atrial fibrillation: results of a survey of long-term care practitioners. // *J. Am. Geriatr. Soc.*, 1997; 45: 1060—1065.
59. Pengo V., Zasso A., Barbero F., et al. Effectiveness of fixed minidose warfarin in the prevention of thromboembolism and vascular death in nonrheumatic atrial fibrillation. // *Am. J. Cardiol.*, 1998; 82: 433—437.
60. Stein P., Alpert J., Dalen J., et al. Antithrombotic therapy in patients with mechanical and biological prosthetic heart valves. // *Chest*, 1998; 114: 6025—1105.
61. Stroke Prevention Atrial Fibrillation III Writing Committee. Patients with nonvalvular atrial fibrillation at low risk of stroke during treatment with aspirin: Stroke Prevention in Atrial Fibrillation III Study. // *JAMA*, 1998; 279: 1273—1277.
62. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. Bleeding during antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation. // *Arch. Intern. Med.*, 1996; 156: 409—416.
63. The Medical Research Council's General Practice Research Framework. Thrombosis prevention trial: randomised trial of low-intensity oral anticoagulation with warfarin and low-dose aspirin in the primary prevention of ischaemic heart disease in men at increased risk. The Medical Research Council's General Practice Research Framework. // *Lancet*, 1998; 351: 233—241.
64. Topol E.J., Ferguson J.J., et al. Long term protection from myocardial ischemic events in a randomized trial of brief integrin Beta3 blockade with percutaneous coronary revascularization. EPIC investigators group. // *JAMA*, 1997; 278: 479—484.
65. Weitz J.I. Low molecular weight heparins. // *N. Engl. J. Med.*, 1997; 337: 688—689.

Глава XXI.

Синдром потери плода и противотромботическая терапия

Наряду с открытием в 90-ые годы XX столетия ряда весьма распространенных генетических форм тромбофилии (мутация фактора V Leiden, мутация протромбина в G20210A и пр.) и прогрессом в понимании молекулярных механизмов тромбофилии, стала выясняться роль различных форм тромбофилии не только в структуре тромбозов и тромботических осложнений, но и в структуре репродуктивных потерь, обусловленных невынашиванием беременности, гестозами, преждевременной отслойкой нормально распложенной плаценты. Как выше уже упоминалось, учитывая особенности физиологической адаптации системы гемостаза к беременности, абсолютное большинство генетических и приобретенных форм тромбофилии клинически манифестируют именно в течение гестационного процесса и, как оказалось, не только в форме тромбозов, но и в форме типичных акушерских осложнений.

Статистико-популяционные исследования, посвященные роли наследственных дефектов гемостаза в этиологии привычных потерь плода и других акушерских осложнений активно ведутся с середины 90-х годов. На сегодняшний день накоплены значительные клинические данные и проведен анализ результатов многоцентровых исследований, позволяющий выделить наследственные тромбофилии в самостоятельную группу причин невынашивания беременности.

Согласно последним обобщениям самой частой причиной привычного невынашивания являются те или иные дефекты гемостаза приобретенного или генетического характера (АФС, генетически обусловленные тромбофилии, геморрагические дефекты) (табл. 122).

Таблица 122.

Основные причины привычного невынашивания.

Авторы	Причины	Частота
1. R.Bick et al.	Дефекты свертывающей системы крови	53%
	Хромосомные аномалии	7%
	Анатомические дефекты	15%
	Гормональные нарушения (эстрогены, прогестерон, гормоны щитовидной железы)	15%
2. Neilmann et al.	АФА	35%
	Другие коагуляционные дефекты	10%
	Другие аутоантитела	5%
	Цитогенетические нарушения	5%
	Аномалии строения матки	5%
	Инфекция	5%
	Гормональная дисфункция	5%
Неясного генеза	20%	

Среди причин привычного невынашивания около 7% приходится на хромосомные аномалии, около 10% — на анатомические и около 15% на гормональные (про-

гестерон, эстрогены, диабет или заболевания щитовидной железы); примерно 6% привычных невынашиваний — неясного генеза и около 55—62% обусловлены дефектами коагуляционных протеинов или тромбоцитов. В то же время следует отметить, что около 70% первых выкидышей обусловлены хромосомными дефектами и около 25% первых беременностей могут закончиться выкидышем.

Как уже указывалось, синдром потери плода может быть вызван как тромбофилическими нарушениями, так и геморрагическими. Последние довольно редки, в то время как тромбофилия является частой причиной привычного невынашивания.

Процесс имплантации, инвазии трофобласта и дальнейшее функционирование плаценты представляются многоступенчатым процессом эндотелиально-гемостазиологических взаимодействий со сложной аутокринно-паракринной регуляцией, который объективно нарушается при тромботической тенденции и в случае генетических дефектов свертывания. К таким нарушениям относятся дефициты протеина C, протеина S, AT III, мутация фактора V Leiden, мутация протромбина, дефицит гепарин-кофактора II, дефицит протромбина, плазминогена, полиморфизм гена PAI-1, фактора XII, дисфибриногенемия, синдром липких тромбоцитов и некоторые другие.

Особо следует отметить, что мутация MTHFR C677T, и в особенности гомозиготная форма мутации, помимо привычного невынашивания, является причиной ряда других акушерских осложнений. Поскольку мутация MTHFR C677T может сопровождаться, помимо повышения уровня гомоцистеина, дефицитом фолата, соответственно могут иметь место и клинические проявления дефицита фолата. В частности, известно, что дефицит фолата вызывает дефекты нервной трубки у плода. Было обнаружено, что 69% женщин, родивших детей со структурными аномалиями нервной системы имели дефицит фолата, и только у 17% женщин, родивших детей с подобными отклонениями, уровень фолата был нормальным. Помимо этого у беременных с мутацией MTHFR C677T и дефицитом фолата обнаруживается макроцитарная анемия, которую часто, не зная генеза анемии, врачи безуспешно лечат препаратами железа.

Повышенный уровень гомоцистеина, в условиях мутации MTHFR C677T, во время беременности также может быть причиной не только тромботических осложнений, но и тяжелых форм гестозов, учитывая, что гомоцистеин обладает атерогенным эффектом на сосудистую стенку, а изменения в стенке сосудов при гестозе, как известно, весьма схожи с таковыми при атеросклерозе.

Дефицит фолата также ассоциируется с повышенной склонностью к судорогам, что на фоне гестоза может проявляться эклампсией. Таким образом, мутация гена MTHFR C677T может быть причиной разнообразных акушерских осложнений. Следует отметить, что даже гетерозиготная форма мутации, которая вне беременности обычно сопровождается нормальным или незначительным повышением уровня гомоцистеина и нормальным уровнем фолата, в условиях беременности, а также при дополнительном наличии приобретенных факторов, усугубляющих гипергомоцистеинемию и/или дефицит фолата (несбалансированное питание с недостаточным количеством витаминов, курение, заболевания щитовидной железы и пр.) может стать ведущей причиной акушерских осложнений: от привычного невынашивания до гестоза и эклампсии.

Возвращаясь к роли различных форм тромбофилии в патогенезе различных акушерских осложнений и, в частности, привычного невынашивания, наиболее важным представляется мультифакториальный генез и полиморфизм генетических форм тромбофилии. Суть заключается в том, что тромбофилия, как конечный результат, может быть следствием 1) дефектов различных компонентов системы гемостаза; 2) различных дефектов (различных точечных мутаций) одного и того же компонента; 3) варьировать по степени выраженности в зависимости от гетеро- или гомозиготной формы мутации; 4) сочетаться с другими генетическими или приобретенными дефектами и/или факторами риска.

Целый ряд осложнений второй половины беременности (гестоз, ПОНРП, задержка внутриутробного развития плода) также могут быть связаны с генетическими и комбинированными формами тромбофилии, хотя необходимы дальнейшие исследования. Хотя основные клинические проявления гестоза имеют место со II—III триместра беременности, патогенез осложнений в большой степени связан с нарушениями плацентации. Неполноценная инвазия трофобласта и ремоделирование спиральных артерий ведут к нарушению плацентарной перфузии. А как уже указывалось, тромбофилия, в том числе и генетически обусловленная, способствует нарушению как плацентарной перфузии, так и непосредственно неполноценной плацентации.

Таким образом, АФС и генетические формы тромбофилии заняли главенствующие позиции в акушерской патологии: это и гестозы, и ПОНРП, и неудачи ЭКО и, конечно, синдром потери плода (рис. 119). При этом в клинической практике возможны сочетания различных форм тромбофилии: как циркуляции АФС, так и сочетания с одним или несколькими дефектами гемостаза, а также ятрогенные формы (рис. 120).



Рис. 119. Взаимосвязь тромбофилических состояний и осложнений в акушерской практике.

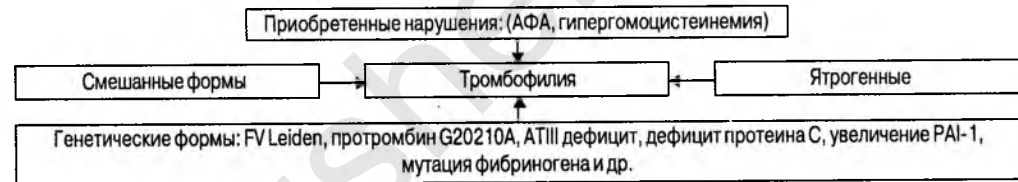


Рис. 120. Основные причины тромбофилических состояний

Какими бы ни были инициальные причины тромбофилии, результат во многом зависит от синергизма эффектов на систему гемостаза (рис. 121).

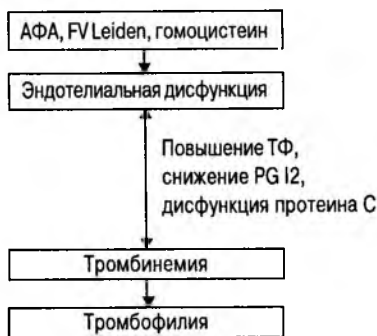


Рис. 121. Синергичные эффекты АФС и наследственных форм тромбофилии в патогенезе СПП.

Традиционно причины привычного невынашивания объединяют в 5 широких групп: генетические, эндокринные, инфекционные, анатомические и иммунные. В последние годы в отдельную группу выделяются нарушения в системе свертывания — наследственные и приобретенные дефекты гемостаза.

Хромосомные нарушения являются самой частой причиной самопроизвольного прерывания беременности. Как уже указывалось, до 70% выкидышей на ранних сроках, 30% выкидышей во 2 триместре и 3% мертворождений обусловлены хромосомными нарушениями. Стертые и субклинические формы эндокринных заболеваний редко являются причиной привычного невынашивания. Ведущими эндокринными факторами прерывания беременности являются дефект лютеиновой фазы и гиперсекреция ЛГ при синдроме поликистозных яичников. Около 12—15% женщин с привычным невынашиванием имеют дефекты строения матки. В основном это врожденные аномалии Мюллера протока, синехии (синдром Ашермана), миоматозные узлы, истмико-цервикальная недостаточность. Роль различных инфекционных возбудителей в этиологии повторных выкидышей обсуждалась неоднократно. В разные периоды и разными авторами придавалось особое значение тому или иному микроорганизму: хламидии, микоплазма, уреоплазма, токсоплазма, листерии, вирусы простого герпеса, цитомегаловирус и др. Несомненно, что инфекционный фактор играет большую роль, особенно в нашей популяции, характеризующейся высоким инфекционным индексом.

Из факторов, которые относятся к образу жизни, причиной привычного невынашивания объективно являются курение (пропорционально количеству выкуриваемых сигарет), алкоголизм и злоупотребление кофе и кофеинсодержащими напитками. Возраст женщины имеет самостоятельное значение для оценки риска прерывания беременности. Для женщины старше 40 лет частота выкидышей составляет, по разным данным, около 75,5%.

В мировой литературе последних лет все чаще репродуктивные потери объединяются в так называемый «синдром потери плода», включающий:

— один или более самопроизвольных выкидышей на сроке 10 недель и более (включая неразвивающуюся беременность);

— мертворождение;

— неонатальная смерть, как осложнение преждевременных родов, тяжелого гестоза или плацентарной недостаточности;

— три или более самопроизвольных выкидышей на презембрионической или ранней эмбрионической стадии, когда исключены анатомические, генетические и гормональные причины невынашивания.

Как видно из определения, в структуру синдрома потери плода помимо принятого ранее термина привычного невынашивания, также включены неразвивающаяся беременность, мертворождаемость, а также неонатальная смерть, как осложнение преждевременных родов, тяжелого гестоза или плацентарной недостаточности. Изучение причин и патогенеза более общего синдрома потери плода по сравнению с привычным невынашиванием позволяет глобальнее подойти к данной проблеме, а также разработать основные меры профилактики осложнений этого синдрома у женщин репродуктивного возраста. Современный уровень знаний, а также высокое качество диагностики и патогенетически обоснованная терапия позволяют осуществлять профилактику репродуктивных потерь еще до наступления беременности.

Что касается привычного невынашивания, то мнения мировых ученых относительно количества повторных выкидышей, позволяющих поставить данный диагноз, разделились. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) определяет спонтанный аборт как «изгнание или удаление плода весом 500 граммов или менее, что приблизительно равно сроку беременности до 20—22 недели, или другого специфического продукта беременности (например, пузырного заноса) вне зависимости от его веса и срока беременности и наличия или отсутствия признаков

жизни» (FIGO, 1977). Привычное невынашивание (привычный выкидыш, повторный спонтанный аборт, рецидивировующий спонтанный аборт, RSA) определяется как три и более беременностей, заканчивающихся самопроизвольным выкидышем.

По данным Brenner (Израиль), RSA имеет место у 1—2% женщин репродуктивного возраста. Brandenberger (Швейцария) указывает, что привычным невынашиванием страдает одна из каждых четырехсот супружеских пар или 0,4—0,8% беременных женщин. По данным Noens (Бельгия), привычное невынашивание является причиной бездетности среди 2—5% супружеских пар детородного возраста. Ежегодно более чем у 500 000 женщин в США диагностируется привычное невынашивание.

Некоторые ученые, как R.L. Vick и др., считают достаточным 2 повторных эпизода самопроизвольного прерывания беременности на ранних сроках для постановки диагноза привычного невынашивания. Процент таких женщин выше и составляет уже 5% (Brenner, Израиль, 2000). Но, несмотря на различные мнения относительно количества повторных выкидышей, ученые едины в своем стремлении установить причины их возникновения, патогенез, и, соответственно, разработать профилактику и лечение синдрома потери плода в каждом конкретном случае.

Как уже указывалось, в последние годы в отдельную группу причин репродуктивных потерь выделены нарушения в системе свертывания крови — наследственные и приобретенные дефекты гемостаза. Более того, по мнению многих ученых, подтвержденному различными клиническими и лабораторными исследованиями, дефекты системы гемостаза являются ведущей причиной СПП.

Рассматриваются 2 основных механизма развития СПП при дефектах системы гемостаза: нарушения с тенденцией к геморрагиям и нарушения с тромботической тенденцией. Геморрагические дефекты, связанные с СПП, встречаются довольно редко. Они, как правило, связаны с нарушением образования фибрина, что препятствует адекватной имплантации оплодотворенной яйцеклетки в толщу эндометрия. К таким дефектам относятся дефицит фактора XIII, фактора X, фактора VII, фактора V, фактора II (протромбина), синдром фон Виллебранда, дефекты фибриногена, гемофилия, а также дисфибриногенемии, связанные с геморрагиями.

Из тромбофилических расстройств лишь АФС до последнего времени рассматривался как «тромбофилическая» причина синдрома потери плода, в то время как роль генетически обусловленной тромбофилии не обсуждалась.

Признавая безусловно самостоятельной нозологией, в клинической практике АФС встречается в сочетании с другими нарушениями, осложняет их течение и может стать ведущим фактором, определяющим исход беременности.

Дискутабелен вопрос о том, какой тип потерь плода характерен для АФС — неразвивающаяся беременность, прерывание беременности после 10 недель или потеря эмбриона в начале 1 триместра. И надо ли включать в понятие «привычное невынашивание» ранние презембрионические и эмбрионические потери, которые наблюдаются и у здоровых женщин.

Более значимыми в качестве диагностического критерия для постановки диагноза АФС нам представляются потери плода в сроке более 10 недель беременности (8 недель эмбрионального развития), когда практически нивелируется влияние возможных исходных нарушений в генетической программе развития, а также гормональных нарушений в репродуктивной системе женщины, и патогенетическая роль АФА становится очевидной.

Отдельно хотелось бы остановиться на варианте, когда ВА и/или АФА выявлены у беременной безотягощающего анамнеза и нарушений при данной беременности. Нуждаются ли такие женщины в лечении или в тщательном контроле остается вопросом для обсуждения. Однако, принимая во внимание, что по статистическим данным риск потери плода у данной категории может достигать 28% в отличие от 7% в общей популяции, и с учетом собственного опыта, мы стоим на позиции активного ведения такой беременности.

Несмотря на некоторое различие взглядов на конкретный механизм взаимодействия антиген-антитело, однозначным является то, что реализация этих механизмов в организме человека происходит через нарушение микроциркуляции, гемостаза и патологию сосудистой стенки. Причем именно при беременности возникает уникальная, комплексно функционирующая система трех эндотелиальных поверхностей — фетоплацентарного эндотелия, эндотелия сосудов матки и эндотелия трофобласта, выстилающего межворсинчатое пространство. И проявляться эти нарушения могут на всех сроках беременности, начиная с момента зачатия.

После оплодотворения зигота активно делится, на 6 день после овуляции происходит первый контакт образовавшейся бластоцисты с эпителием матки, на 7 день начинается прикрепление и инвазия. Между 10 и 13 днем после овуляции между пролиферирующими клетками трофобласта начинают образовываться лакуны, которые в дальнейшем будут увеличиваться, сливаться и преобразовываться в межворсинчатое пространство плаценты. Именно с этого момента начинается активный контакт с плазмой матери, а значит и циркулирующими АФА. К 21 дню после овуляции ворсины трофобласта уже достаточно васкуляризованы и можно констатировать факт установления маточно-плацентарного кровотока. Факторы, обеспечивающие инвазию трофобласта и нормальное развитие плаценты на ранних стадиях очень многообразны: факторы роста, цитокины, интегрины, молекулы адгезии, антигены комплекса гистосовместимости (преимущественно 1 класс) и др. АФА многосторонне, напрямую или опосредовано, влияют на процесс имплантации и ранние эмбриональные стадии.

В процессе подготовки к имплантации под влиянием прогестерона в эндометрии происходит повышение содержания ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1), тканевого фактора (ТФ) и снижение активаторов плазминогена тканевого и урокиназного типов, снижение металлопротеиназ матрикса и вазоконстриктора-эндотелина 1. Эти механизмы регуляции гемостаза, фибринолиза, экстрацеллюлярного матрикса и сосудистого тонуса предотвращают образование геморрагий при инвазии трофобласта.

Со своей стороны эмбрион синтезирует активаторы плазминогена тканевого и урокиназного типов (t-РА и u-РА) и протеазы, которые необходимы для разрушения экстрацеллюлярного матрикса в процессе имплантации. Их синтез ингибируется хорионическим гонадотропином (ХГ). Эмбрион выделяет также некоторое количество простагландинов. Дозированное разрушение матрикса происходит с помощью ферментов, секретлируемых эмбрионом. Клетки эндометрия не фагоцитируются и не разрушаются, а как бы «отдвигаются» посредством контактного ингибирования. Освободившееся место занимает эмбрион. Влияя на синтез PAI-1 и ТФ (повышая их экспрессию), АФА усиливают протромботические механизмы и десинхронизируют процессы фибринолиза и фибринообразования, что может вести к дефектам имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта.

Самые последние исследования с использованием моноклональных антител к фосфолипидам (ФЛ) показали, что АФА напрямую взаимодействуют с синцитиотрофобластом и цитотрофобластом и ингибируют межклеточное слияние клеток трофобласта. Инвазия трофобласта в спиральные артерии связана с продукцией ацетилглицеринового эфира фосфатидилхолина. Этот процесс также нарушается при наличии АФА.

В эксперименте человеческие поликлональные АКА ингибируют выделение ХГ из эксплантов плаценты. Таким образом, АФА непосредственно могут влиять на секрецию гормонов эмбриона и плаценты.

Поверхность эмбриона должна обладать определенным зарядом и специфической конфигурацией поверхностных гликопротеидов (лектин-конканавалина А), что обеспечивает его частичную адгезивность.

АФА же могут изменять поверхностные характеристики предимплантационного эмбриона: как заряд, так и конфигурацию.

Весьма весомым фактором представляется снижение уровня интерлейкина -3 (IL-3) у беременных с АФС. IL-3 принадлежит к семейству лимфокинов, синтезируемых активированными CD4-клетками и Т-клетками, и является активным фактором роста трофобласта, способствуя имплантации и развитию плаценты, а также оказывает регуляторное действие на фибринолитические процессы в эндометрии (за счет активации урокиназы, превращающей плазминоген в плазмин). Аспирин является сильным индуктором продукции цитокинов и, в особенности IL-3, что частично объясняет его эффективность в малых дозах для лечения АФС. Высокий результат дает применение рекомбинантного IL-3, и это открывает новые перспективы терапии.

Как мы уже отмечали выше, процесс дифференцировки трофобласта сопровождается длительным экспонированием на наружную мембрану клеток отрицательно заряженных ФЛ, в частности фосфатидилсерина (ФС). ФС является матрицей для активации протромбиназного комплекса и протромбина.

Возникает вопрос, почему тромбообразование не происходит на протяжении всей физиологической беременности. Ответ на этот вопрос дает гипотеза «аннексинового щита», изложенная выше. Исследования последних лет показали, что в процессе дифференцировки трофобласта одновременно с экстернализацией ФС (переход ФС на наружную поверхность клеточной мембраны) происходит выработка аннексина V, естественного антикоагулянта, характеризующегося высокой специфичностью связывания с ФС. Сродство аннексина V к отрицательно заряженным ФЛ в 1000 раз сильнее, чем протромбина или фактора Ха. Он покрывает ФС, вытесняя факторы свертывания по типу ковра, оказывая местный антикоагулянтный эффект.

Морфометрические исследования плацент от пациенток с АФС, а также с ЗВРП, выявили значительное снижение концентрации аннексина V.

АФА в присутствии β 2-гликопротеина 1, нарушают локальную антикоагулянтную активность аннексина V. При этом возможны следующие механизмы снижения поверхностной концентрации аннексина V:

— АФА блокируют транспорт Аннексина V на поверхность апикальной мембраны трофобласта;

— АФА удаляют аннексин V с поверхности трофобласта с последующим его протеолитическим разрушением.

Казалось бы, возникает парадокс — если АФА могут удалять и ингибировать связывание с отрицательно заряженными ФЛ Аннексина V, почему они не оказывают аналогичное действие на связывание ФЛ с протромбином и FХа. По всей видимости, молекулы Аннексина V образуют на поверхности трофобласта межмолекулярные комплексы с множеством соединений по типу «ковра». АФА нарушают эти связи и удаляют аннексин V с гораздо большей поверхности, чем способны покрыть сами, оставляя места для связывания с протромбином.

Таким образом, повреждающее действие может осуществляться АФА несколькими путями:

- изменяются адгезивные характеристики предимплантационного эмбриона
- нарушается слияние синцития
- снижается глубина инвазии трофобласта
- подавляется продукция хорионического гонадотропина
- усиливаются тромботические тенденции за счет предоставления матриц для реакций свертывания

Последний момент объясняет положительный эффект от антикоагулянтной терапии с самых ранних сроков.

Эти механизмы также позволяют объяснить неудачные попытки искусственного оплодотворения и пересадки эмбриона у женщин с АФА.

По мере прогрессирования беременности тромбообразование в сосудах плаценты становится более очевидным. Механизмы его реализации изложены выше (эндотелиальная, плацентарная патология и пр.).

Тромбирование сосудов плаценты и, как следствие, прерывание беременности возможно на различных сроках. Но до сегодняшнего дня исследователей не перестает интересовать вопрос, почему местом реализации тромбоза в одном случае является плацента, а в других — сосуды сердца, мозга, сетчатки; что является фактором, определяющим локализацию тромботического процесса, и, самое главное, что обуславливает эпизодический характер процесса.

Многочисленные гистологические исследования плацент от пациенток с АФС представляют собой достаточно пеструю картину. Классифицировать эти морфологические повреждения достаточно сложно. Условно их можно подразделить на 3 варианта:

1. Первичные повреждения маточно-плацентарных сосудов с вторичным повреждением ворсин плаценты. Сюда включают фибриноидный некроз и/или атероз и отсутствие или незавершение физиологической конверсии основных спиральных сосудов. Последний диагноз ставится в случае, когда отсутствует или незавершенно эндovasкулярное разрушение трофобластом мышечных и соединительнотканых компонентов децидуальных спиральных артерий, имеющее место при нормальной беременности. При неполноценной конверсии мышечные и соединительнотканые компоненты остаются в стенках сосудов, и сосуды похожи на спиральные сосуды поздней лютеиновой фазы. Вторичные повреждения ворсин включают инфаркты, фиброз конечных ворсин, гиповаскулярные и аваскулярные конечные ворсины.

2. Повреждения, связанные с патологией свертывания: тромбоз спиральных сосудов, избыточное отложение фибрина на поверхности трофобласта и в межворсинчатом пространстве и тромбоз основных сосудов плода и хориона.

3. Повреждения по типу хронического воспалительного процесса: маточно-плацентарный васкулит (мононуклеарная инфильтрация стенок сосудов), плотные децидуальные инфильтраты из плазматических клеток, мононуклеарная инфильтрация ворсин хориона и межворсинчатого пространства.

Плаценты от пациенток, получавших различную терапию во время беременности также гистологически не нормальны: отмечаются бессосудистые конечные ворсины, маточно-плацентарный васкулит, единичные тромбы, а также избыточное отложение фибриновых масс на поверхности трофобласта.

В случае нелеченного АФС и последовавшей гибели плода, а также при сочетании АФС и СКВ, морфологические нарушения представлены множественными инфарктами и некрозами плаценты, скоплением фибриноидных масс в межворсинчатом пространстве, атерозом и тромбозом спиральных артерий, при этом в большинстве случаев отсутствует или не завершена трофобластическая конверсия.

Тем не менее, следует отметить, что тромбоз сосудов плаценты не абсолютно специфичен для АФС и, обычно, не так значителен, чтобы полностью объяснить весь спектр клинических проявлений, вплоть до внутриутробной гибели плода. Возможно, что тромбирование сосудов плаценты является неспецифическим маркером повреждений трофобласта при АФС. Избыточное отложение фибрина также может рассматриваться и как признак локальной активизации каскада свертывания, и как неспецифический признак повреждения синцитиотрофобласта по типу отторжения аллографта.

Конечный результат представляется суммой воздействий АФА на различные этапы формирования и функции трофобласта. Некоторые исследователи полагают, что изучение морфологии плаценты дает неполную картину патологии материнских сосудов. Необходимую информацию можно получить при биопсии плацентарного ложа, однако такие исследования представляются весьма затруднительными.

Плаценты от пациенток с циркуляцией АФА без клинических проявлений АФС, получавших во время беременности аспирин в низких дозах, характеризуются нормальными гестационными изменениями.

В условиях циркуляции АФА в кровотоке матери Ig класса G свободно проникают в кровоток плода через трофобласт после 15 недель беременности и могут оказывать прямое повреждающее действие на плод. Отметим, что этот факт неоднократно подтвержден исследованиями плацент в случаях потери плода.

На первый взгляд очевидными представляются макротромботические осложнения также у плода и у новорожденного. Наиболее часто по данным литературы встречается тромбоз почечных вен новорожденного.

Снижение активности системы фибринолиза (снижение концентрации плазминогена при одновременном увеличении тканевых активаторов и ингибиторов активаторов плазминогена), несбалансированность системы коагуляции в онтогенезе и при рождении (снижены уровни витамин К-зависимых факторов, однако, фибриноген, FV, FVIII аналогичны или даже выше, чем у взрослых) предрасполагают не только к геморрагиям, но и к тромботическим осложнениям при наличии такого фактора риска, как циркуляция АФА. Повреждение эндотелия при циркуляции АФА достоверно подтверждено у взрослых. Логично предположить, что подобные изменения возникают и у плода, вызывая более выраженные микротромботические, воспалительные и гипоксические повреждения в незрелых и, следовательно, менее защищенных тканях плода. Морфологически такие изменения не являются специфичными для АФА, и часто в качестве этиологического фактора называются, казалось бы, более очевидные причины (инфекционные и др.).

Возможно также прямое повреждающее действие АФА на ткани плода. Описаны поражения сердечно-сосудистой системы плода в виде блокады проводящих путей, глазной альбицизм, водянка плода и др.

Существует также мнение, что успешный исход беременности не зависит от наличия АФА до беременности. Авторы гипотезы предполагают, что выработка АТ к ФЛ-антигенам плода имеет место и в норме. По мере прогрессирования беременности титр АТ должен снижаться, т.е. подвергаться обратной регуляции. Если этого не происходит, что возможно при нарушениях в системе иммунной регуляции, титр нарастает и беременность прерывается.

Еще одним важным аспектом является часто семейный (и возможно наследственный) характер АФС. Развитие АФС связывают с носительством локусов DR4, DR7, DRw53, DRB1 системы HLA. Существует мнение, что для АФС более характерен аутосомно-доминантный тип наследования.

Синдром может носить как спорадический, так и наследственный характер. Возможно, именно исследования в области генетических механизмов дополняют современные взгляды на диагностику, лечение и профилактику этого синдрома.

Повышенной склонностью к тромбообразованию можно объяснить и механизм возникновения синдрома потери плода, связанного с тромбофилией. Благополучный исход беременности зависит от нормального развития и функционирования плаценты. Эти процессы поддерживаются адекватным функционированием системы кровообращения матери и плода. Тромботическая тенденция, имеющая место в организме матери при тромбофилиях, касается всех жизненно-важных органов и систем, в том числе и маточно-плацентарно-плодовой системы.

Хотя причины ЗВРП, АГП, гестоза, ПОНРП до конца еще не известны, все эти состояния ассоциируются с сосудистой плацентарной аномалией и нарушениями гемостаза, что способствует неполноценному маточно-плодовому кровотоку (табл. 123).

Таблица 123.

**Плацентарные сосудистые нарушения, связанные с тромбофилией
(по В. Brenner et al, 2000).**

	выкидыши	ЗВРП	гестоз	HELLP	ПОНРП
Дефицит АТ III	++	++	+		
Дефицит протеина С	+	++	+		
Дефицит протеина S	+	++	+	+	+

	выкидыши	ЗВРП	гестоз	HELLP	ПОНРП
Дисфибриногенемия	+	+			
APC-R	++	++	++	+	+
Мутация FV Leiden	++	++	++	+	++
MTHFR C677T	+	+	+		+
Гипергомоцистеинемия	+	+	++	++	++
Протромбин G20210A	+	+	+		++
АФС	++	++	++	+	++
Комбинированные дефекты	++	++	+	+	++

Примечания:

ЗВРП — задержка внутриутробного развития плода

ПОНРП — преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты

+ — взаимосвязь возможна

++ — взаимосвязь доказана

Нарушение маточно-плацентарного, плодово-плацентарного кровотоков, происходящее благодаря развитию тромбозов сосудов, васкулитов, инфарктов плаценты, может стать причиной целого ряда патологических состояний, как самопроизвольные выкидыши в I и II триместрах беременности, задержка внутриутробного развития плода, внутриутробная гибель плода, отслойка плаценты и гестоз. В последних исследованиях доказана связь тромбофилических состояний с развитием такого осложнения беременности как гестоз (De Groot et al, 1999), при котором страдание плода, хроническая внутриутробная гипоксия плода, ЗВРП, нередко приводят к его гибели. Причиной отслойки нормально расположенной плаценты, также часто приводящей к гибели плода, нередко бывает повышенное тромбообразование, связанное с врожденными и приобретенными тромбофилиями.

Существует гипотеза, согласно которой тромбофилия может быть причиной развития тромбозов не только у матери, но и у плода, что также ведет к снижению его жизненно-важных функций, а в дальнейшем и к гибели.

Так, в исследованиях проведенных Preston F.E. и др., показан повышенный риск самопроизвольного выкидыша у женщин с наследственным дефицитом АТ-III, протеина С и S. При этом самый высокий риск был выявлен у женщин с дефицитом АТ-III и с комбинированными дефектами системы гемостаза. Данное исследование также показало, что наследственные тромбофилии в большей степени увеличивают риск мертворождения, чем выкидыша.

По данным Brenner (Израиль), у 22% женщин с тромбофилией беременность самопроизвольно прервалась по сравнению с 11% в контрольной группе. Также автор сообщает о наличии нарушений гестаии у 15 женщин с дисфибриногенемией, связанной с тромбозами. Среди 64 беременностей 39% закончились самопроизвольными выкидышами, а 9% — внутриутробной смертью плода.

Ridker et al. изучали женщин с СПП и обнаружили увеличение частоты фактор V мутации Leiden в 2,3 раза по сравнению с контрольной группой.

В последнем исследовании Bick et al., 2000, 160 женщин с СПП, не имевших хромосомных, гормональных и анатомических дефектов, были обследованы на наличие дефекта в системе гемостаза. У 150 (94%) женщин были обнаружены следующие дефекты: антифосфолипидный синдром — 67%; синдром липких тромбоцитов — 21%; дефицит активатора тканевого плазминогена (ТРА) — 9%; фактор V мутация Leiden — 7%; высокий уровень PAI-1 — 6%; дефицит протеина S — 5%; высокий уровень LP(a) — 3%; дефицит АТ — 2%; дефицит протеина С — 1%. У 38 пациенток обнаружено более одного дефекта.

Значительное повышение риска мертворождения у женщин с дефицитом протеинов С, S и АТ-III может быть связано с развивающимися вследствие тромбозов множественными инфарктами плаценты, ведущими к развитию фетоплацентарной недостаточности. Другой причиной мертворождения могут быть тромбозы у плода.

Таким образом, дефекты гемостаза, связанные с синдромом потери плода включают приобретенные тромбофилические состояния (антифосфолипидный синдром, эссенциальная тромбоцитемия), а также генетически обусловленные тромбофилии: дефицит антитромбина, дефицит протеина С, протеина S, мутация фактор V Leiden, являющаяся причиной резистентности к активированному протеину С, мутация гена протромбина G20210A, фактора XII, дисфибриногенемии, связанные с тромбозом, дефекты системы фибринолиза, связанные с тромбозом (дефицит плазминогена, дефицит t-РА, повышение уровня PAI-1, включая его полиморфизмы). Хотя синдром липких тромбоцитов известен уже более 10 лет, только недавно установили его связь с синдромом потери плода. Гипергомоцистеинемия также является фактором риска развития венозных и артериальных тромбозов, соответственно и синдрома потери плода у беременных, она чаще является результатом наследственного дефекта энзимов, термолabileльной мутацией метилентетрагидрофолатредуктазы (5,10 - МТНFR). Можно ожидать, что с открытием новых мутаций факторов коагуляции, приводящих к состоянию гиперкоагуляции и тромбоза, они также будут связаны с тромбозом плацентарных сосудов, а, следовательно, и с синдромом потери плода.

Все больше исследований последних лет указывают на связь между мутацией FV Leiden и развитием синдрома потери плода. Не так давно было проведено 3 контролируемых исследования по оценке наличия мутации FV Leiden у женщин с синдромом потери плода. Bick (1997) обнаружил наличие данной мутации у 7 из 43 женщин (16%), при 4% в контрольной группе; Wopnar (1998) у 9 из 113 (8%) при 3,7% в контрольной группе; Brenner (1998) у 24 из 76 (32%) при 10% в контрольной группе. Несмотря на различный этнический состав, а также критерии отбора для исследования причин СПП, во всех трех исследованиях задокументировано значительное повышение частоты преобладания мутации FV Leiden у женщин с синдромом потери плода. Ridker изучал женщин с СПП, исключая лишь хромосомные причины выкидышей. Он обнаружил, что у таких женщин частота встречаемости мутации FV Leiden возрастает в 2,3 раза.

Связь между СПП и мутацией FV Leiden продемонстрирована также в популяции с высоким преобладанием гомозигот (Brenner 1998). В группе высокого риска по развитию СПП также находятся родные сестры женщин-носительниц FV Leiden мутации, имеющих тромбозы в анамнезе. Однако, далеко не у всех носительниц обязательно разовьется СПП. Потенциальное объяснение данному феномену можно получить из того факта, что APC-чувствительность прогрессивно падает во время нормальной беременности, коррелируя с изменениями в уровнях факторов V, VIII и протеина S, а преобладающая резистентность к APC, как указывалось выше, возможна и при обычной беременности и нормальном факторе V. APC-чувствительность может и далее снижаться во время беременности и при наличии мутации FV Leiden. Интересно и то, что наличие APC-R без мутации FV Leiden также может приводить к СПП.

В литературе описаны также исследования, при которых не обнаружена связь между данным видом мутации и СПП. Такие результаты получил, например Kutteh

(1998). А в другом исследовании обнаружено трехкратное увеличение риска развития тромбозов при FV Leiden мутации, но не обнаружено связи с СПП. Недавно проведена работа, в которой мутация FV Leiden оказалась ответственной за 48% случаев СПП. Существуют разные данные, но, все же суммируя их, можно сделать вывод, что на сегодняшний день даже гетерозиготное носительство мутации FV Leiden является значительным фактором риска для развития СПП и повышает этот риск в среднем в 3,3 раза (Bick, 2000).

Следует отметить, что значение мутации FV Leiden для акушерской практики не ограничивается одним СПП. Несколько недавних работ указывают на связь APC-R, мутации FV Leiden и ранним развитием тяжелого гестоза. В одном исследовании 14 из 158 женщин с тяжелым гестозом (8,9%) оказались гетерозиготами по FV Leiden мутации по сравнению с 4,2% в контрольной группе. В другом исследовании обнаружено 19% гетерозигот по FV мутации Leiden с гестозом по сравнению с 7% в контрольной группе (Dizon-Townson, 1996).

В литературе имеются данные и о связи мутации FV Leiden и APC-R и отслойкой плаценты. 17 из 27 женщин с отслойкой плаценты имели мутацию FV Leiden по сравнению с 5/29 в контрольной группе (Dizon-Townson, 1996). Vollset et al., 1998, обнаружили наличие данной мутации у 8 из 27 (30%) женщин с отслойкой плаценты по сравнению с 1/29 (3%) в контрольной группе.

Согласно последним данным, мутация протромбина помимо тромбоза глубоких вен может быть причиной цереброваскулярных тромбо-окклюзионных заболеваний. Подобно мутации FV Leiden, мутация протромбина G20210A при приеме оральных контрацептивов, при беременности в десятки и сотни раз повышает риск тромбозов.

Как и в случае других генетических форм тромбофилии, мутация гена протромбина может быть причиной развития синдрома потери плода. Роль этого фактора в СПП была недавно оценена в 3 исследованиях. Pickering et al. продемонстрировали отсутствие разницы в наличии данной мутации у пациенток с СПП по сравнению с контрольной группой. Те же результаты получил и Sarig, в то время как в работе Deitcher у одной пациентки с СПП была обнаружена мутация гена протромбина G20210A (2%). Однако результаты этих исследований не могут исключить возможность того, что данная мутация является умеренным фактором риска развития СПП. В подтверждение этому в исследовании было обнаружено увеличение риска развития СПП при наличии мутации гена протромбина в 2,2 раза.

Дефицит антитромбина III высоко тромбогенен, частота возникновения тромбозов во время беременности составляет 50% в симптоматичных семьях, а риск развития тромбозов возрастает у таких пациентов во время беременности в 4—20 раз. Основные проявления дефицита: тромбозы глубоких вен нижних конечностей, илеофemorальных вен, риск развития которых значительно возрастает при наличии сопутствующих факторов риска — беременности, приеме КОК, травме, операциях и т.д.

Являясь практически самым тромбогенным генетическим дефектом из ныне известных, дефицит антитромбина, естественно, является и причиной развития у женщин СПП. В исследованиях, проведенных Vonnar et al., частота возникновения СПП была выше всего в случаях комбинированных дефектов, а также в случае дефицита антитромбина III (отн. коэффициент 5,2).

Основными проявлениями дефицита протеина С являются тромбозы глубоких вен (63%) и ТЭЛА (40%). Что касается развития СПП при данном дефиците, в исследованиях Vonnar (1999) коэффициент относительности определен как 2,3.

Клиническая симптоматика гетерозиготного дефицита протеина S схожа с таковой при дефиците протеина С и АТ III — это ТГВ, ТЭЛА и очень редко артериальные тромбозы.

Некоторые исследователи отрицают роль дефицита протеина S в развитии СПП, в то время как Vonnar et al. оценили коэффициент относительности для дефицита протеина S по развитию СПП в 3,3. В исследованиях Bick дефицит проте-

ина S занимал второе место среди причин развития СПП (анатомические и гормональные дефекты были исключены перед проведением гемостазиологических исследований) с частотой 11% (1 место АФС — 76%).

Клинически синдром «липких» тромбоцитов SPS может проявляться как стенокардия, острый инфаркт миокарда, инсульты, артериальные и венозные ретицидивирующие тромбозы на фоне антикоагулянтной терапии. Клинические симптомы часто возникают после эмоционального стресса.

В одном из последних исследований Vick et al. (2000), SPS оказался причиной развития СПП у женщин с исключенными другими анатомическими, эндокринными и др. причинами в 20,6% случаев, уступив лидерство лишь АФС (67,3%). В более раннем исследовании тех же авторов в 1995г. синдром липких тромбоцитов занял второе место среди дефектов гемостаза, как причин развития СПП — данный синдром обнаружен в 6,5%. Все это указывает на значительную роль SPS в формировании риска по развитию СПП.

Гипергомоцистеинемия является независимым фактором риска развития окклюзионных сосудистых заболеваний, раннего развития атеросклероза. Известно, что повышение в крови уровня гомоцистеина является причиной активации и гиперрагегации тромбоцитов, повреждения эндотелия, в результате оксидативного стресса, прокоагулянтных тенденций через активацию FXII, FV и тканевого фактора. Все это способствует развитию окклюзионных заболеваний сосудов — артериальных и венозных тромбозов.

Наиболее часто встречающейся причиной выраженной гипергомоцистеинемии является гомозиготный дефицит фермента CBS (частота в общей популяции 1:250000 — 1:335000), гомозиготный дефицит фермента MTHFR, как правило, чаще вызывает «мягкую» гипергомоцистеинемия.

Гетерозиготная форма дефицита MTHFR часто является причиной легкой и средней степени тяжести гипергомоцистеинемии, частота в общей популяции 1,4—15%; гетерозиготная форма дефицита CBS встречается реже — 0,3—1%.

Наиболее частыми приобретенными причинами гипергомоцистеинемии являются дефициты фолата, и, в меньшей степени, дефициты витаминов B6 и B12 вследствие различных причин (алиментарный фактор, мальабсорбция, злоупотребление алкоголем и пр.)

При мутации 5,10 MTHFR C677T, как причины гипергомоцистеинемии и дефицита фолата, многие исследователи пытаются установить также и связь её с развитием СПП. Brenner et al. обнаружили, что данной мутации принадлежит несомненная роль в структуре генетических тромбофилических причин развития СПП наряду с FV Leiden мутацией, а также мутацией гена протромбина G20210A. Один из этих дефектов имел место у 46% женщин с СПП, а у 52% женщин с гестозом и отслойкой плаценты также обнаружен один из этих трех дефектов.

Хотя в ранних исследованиях не обнаружено связи между СПП и мутацией MTHFR C677T, в более поздних работах показана четкая связь между гетерозиготной мутацией MTHFR и СПП, при которой риск развития СПП возрастает в 2 раза.

Исследования Kupfermink также подтверждают ведущую роль тромбофилии в структуре таких осложнений как ЗВРП, ПОНРП, АГП: у 50% женщин с ЗВРП, согласно его данным, обнаруживается генетическая форма тромбофилии и у 11,4% — тромбофилия приобретенная; у 60% женщин с ПОНРП также обнаружена та или иная форма генетической тромбофилии, а у 10% — приобретенная тромбофилия; среди пациенток с АГП тромбофилия составила 50%. Таким образом, согласно анализу Kupfermink et al, среди беременных с разнообразными акушерскими осложнениями (ЗВРП, привычное невынашивание, ПОНРП, АГП, гестоз) у 65% выявляется та или иная форма тромбофилии, в то время как в контрольной группе — у 13%.

В настоящее время интенсивно изучается роль наиболее часто встречающихся в общей популяции генетических форм тромбофилии (мутация FV Leiden, мутация PtG20210A, MTHFR C677T) в структуре основных акушерских осложне-

ний. В табл. 124 и 125 представлены имеющиеся данные относительно частоты FV Leiden и PtG20210A у пациенток с привычным невынашиванием.

Таблица 124.

Мутация FV Leiden у женщин с привычным невынашиванием (%).

Автор	Женщины с привычным невынашиванием	Контроль
Holmes et al.	5,8	—
Cirkel et al.	10	4,3
Sarig et al.	25	—
Grandone et al.	16	4
Brenner et al.	32	10
Kornberg et al.	19	4
Wrambs et al.	18,3	7,1

Таблица 125.

Мутация PtG20210A у женщин с привычным невынашиванием (%).

Автор	Женщины с привычным невынашиванием	Контроль
Deitcher et al.	2	2
Kornberg et al.	6	4
Brenner et al.	8,1	4
Pickering et al.	4,5	4,2
Wrambsy et al.	3,7	1,2

Достаточно широкий разброс данных у разных авторов, возможно, объясняется и разной распространенностью мутаций в различных этнических группах. Тем не менее, частота выявления тромбофилии у беременных с синдромом потери плода достоверно выше.

Целый ряд других генетических дефектов гемостаза, приводящих к состоянию тромбофилии, также связаны с развитием СПП. Это и дефицит t-РА, повышенный уровень PAI-1 и др. Недавно стала изучаться роль генетически обусловленного гипофибринолиза в структуре акушерских осложнений. По предварительным данным мутации, проявляющиеся гипофибринолитическим фенотипом, также ассоциируются с привычным невынашиванием, преждевременными родами, ЗВРП, АГП, гестозом и ПОНРП. Описаны генетические аномалии гена PAI-1. Ген PAI-1 имеет несколько полиморфных локусов, включая 4G/5G-вставку-делецию. Уровень PAI-1 у лиц с 4G/4G почти на 25% выше, чем у лиц с 5G/5G. Мутация 4G/4G ассоциируется при этом с повышенным риском тромбозов. Кроме того, следует отметить, что ряд исследователей свидетельствует и о высокой корреляции между мутацией 4G/4G и инсулинорезистентностью, которая часто сопровождается, как известно, и синдромом поликистозных яичников. Это наблюдение важно, поскольку у женщин с СПКЯ традиционно фактором бесплодия и отягощенного течения беременности до последнего времени считались лишь гормональные причины. В то же время с учетом «тромбофилической составляющей» открываются новые резервы оптимизации ведения беременных с СПКЯ, направленные на устранение тромбофилии, как дополнительного (а в ряде случаев, возможно, основного?) фактора патологического течения беременности включением противотромботических препаратов.

Забегая вперед, хотелось бы заметить, что и неудач ЭКО, видимо, было бы меньше у женщин с СПКЯ при плановом назначении им антикоагулянтов.

Интересные результаты были получены Glueck et al., которые у 32% из 94 женщин с акушерскими осложнениями обнаружили мутацию 4G/4G, в контрольной группе здоровых беременных частота этой мутации составила 19%. Интересно, что при этом у 33% беременных с акушерскими осложнениями и мутацией PAI-1 4G/4G одновременно была обнаружена и мутация FV Leiden, в то время как в контрольной группе здоровых беременных с мутацией PAI-1 4G/4G мутация FV Leiden не обнаружилась ни в одном случае.

Таким образом, полиморфизму PAI-1 4G/4G достаточно часто сопутствует мутация FV Leiden, о чем свидетельствуют и другие исследования.

Индукцированные фактором V Leiden тромбозы в области плацентарного ложа с последующей гипоксией в еще большей степени способствует экспрессии PAI-1 — важному механизму супрессии фибринолиза — в условиях недостаточного поступления кислорода к плоду.

Тем не менее, ряд недавних исследований подтверждает, что полиморфизм 4G/4G является независимым фактором неблагоприятных исходов беременности, включая преждевременные роды, выкидыши, ЗВРП, АГП, эклампсию и ПОНРП. Гомозиготная мутация 4G/4G часто ассоциируется с венозными и/или артериальными тромбозами. В кардиологии высокий уровень PAI-1 расценивается как фактор высокого риска развития инфаркта миокарда.

Крайне важно подчеркнуть, что высокий уровень PAI-1 (результат полиморфизма гена PAI-1 4G/4G) уже на этапе имплантации плодного яйца и инвазии трофобласта оказывает свое негативное влияние и способствует неполноценной инвазии и недостаточной инвазии трофобласта (см. главу XXII), что, в свою очередь, объясняет высокую частоту как ранних выкидышей, так и плацентарных аномалий и гестоза.

Gris et al. обнаружили высокую PAI-1 активность у 616 пациенток с ранними выкидышами «неясного генеза». Недавно Yamada et al. получили подобные же результаты, свидетельствующие об ассоциации между 4G/5G полиморфизмом PAI-1 гена и тяжелым гестозом.

Отдельно хотелось бы остановиться на так называемых мультигенных и комбинированных формах тромбофилии, при которых имеет место сочетание двух или нескольких дефектов гемостаза, как генетически обусловленных, так и приобретенных. Изучение таких форм является крайне важным для практики, так как при этом имеет место увеличение степени риска развития тромботических осложнений, и соответственно, степени риска развития различных проявлений синдрома потери плода. Так, по данным различных авторов при наличии гипергомоцистемии и мутации фактора V Leiden, риск тромбозов возрастает в 10—20 раз.

B. Brenner (2000) в своей работе по изучению частоты мутаций FV Leiden, MTHFR C677T и мутации гена протромбина G20210A, показал, что сочетание FV Leiden с гомозиготной формой MTHFR C677T или комбинации мутации фактора V Leiden с антифосфолипидным синдромом значительно повышает риск развития тромбозов и СПП. 8% женщин в его исследовании имели комбинированные формы тромбофилии по сравнению с 0,9% в контрольной группе ($p < 0,02$).

В исследовании Vonnar (2000) установлено, что частота развития СПП у женщин с наследственными тромбофилиями возрастает по сравнению с контрольной группой в 3,6 раз. Причем этот коэффициент для комбинированных (мультигенных) форм тромбофилии составил 14,3, в то время как например, для дефицита анти-тромбина он был 5,2, для дефицита протеина С — 2,3, а для дефицита протеина S — 3,3, для FV Leiden — лишь 2,0.

Таким образом, при мультигенных формах тромбофилии риск возникновения тромбозов, а соответственно и СПП значительно возрастает. Если сюда добавить еще приобретенные факторы риска, такие как беременность, ожирение, иммобилизация, становится понятно, что без соответствующей профилактики достаточно

проблематично не только выносить беременность, но избежать таких угрожающих жизни осложнений как ТГВ и ТЭЛА.

Выявление факторов риска, своевременная ранняя диагностика тромбофилического состояния, а также тромбозов и тромбоэмболии имеют необычайно важное значение для беременной, роженицы и родильницы, так как своевременно начатая адекватная антикоагулянтная терапия практически всегда позволяет пролонгировать беременность до своевременных родов и предотвратить развитие различных осложнений, угрожающих жизни и матери и ребенка.

Уже при сборе анамнеза у пациентки с синдромом потери плода следует интересоваться не только семейным акушерским анамнезом, но также личным и семейным «тромботическим анамнезом». В нашей клинической практике мы внедрили исследование тромбофилии в алгоритм обследования пациенток с синдромом потери плода, а также другими акушерскими осложнениями (рис. 122).

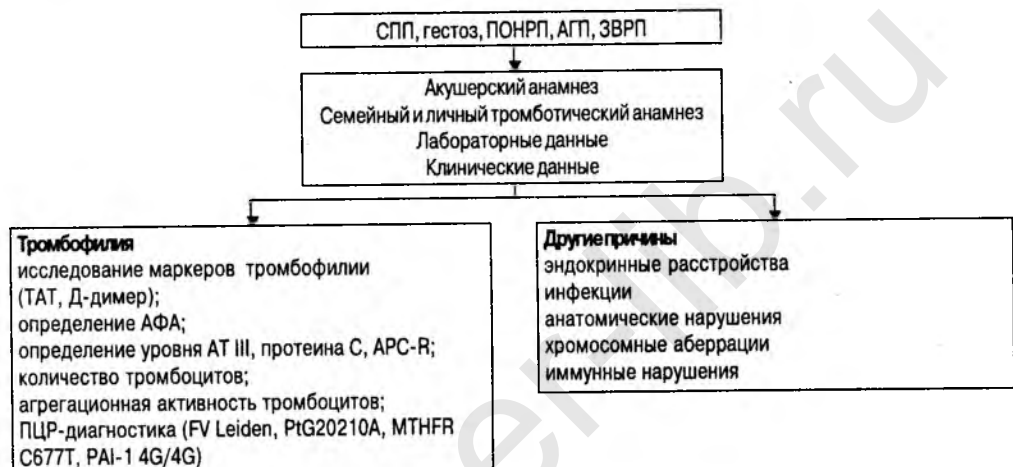


Рис. 122. Алгоритм обследования беременных с СПП.

Исследования, проводимые нами в 2001—2002 году у 84 пациенток с синдромом потери плода, подтвердили наличие той или иной формы тромбофилии у 68% обследованных.

Клиническими ориентирами для выявления АФА и генетических дефектов гемостаза помимо синдрома потери плода являлись также личный и/или семейный тромботический анамнез, тяжелые гестозы в анамнезе, ПОНРП в анамнезе.

Лабораторные методы диагностики включали как выявление ВА, так и антикардиолипиновых антител, а также антител к подгруппе фосфолипидов. Методом ПЦР-диагностики определялись мутации FV Leiden, MTHFR C677T и протромбина G20210A. Кроме того, определялись концентрации естественных антикоагулянтов — АТ III и протеина С (рис. 123).

Неспецифические методы оценки степени выраженности тромбофилии включали определение уровня молекулярных маркеров тромбофилии — комплексов тромбин-анти тромбин (ТАТ), фрагментов F1+2 протромбина, тромбоцитарного фактора 4 (PF4), Д-димера, FDP, а также агрегационной активности тромбоцитов.

Из 84 пациенток с синдромом потери плода по данным анамнеза у 39% имели место ранние репродуктивные потери и у 61% — поздние репродуктивные потери, включая антенатальную гибель плода, поздний выкидыш, мертворождение, неонатальную смерть как осложнение преждевременных родов.

Личный тромботический анамнез был отягощен у 25% пациенток: у 8% — ТЭЛА в анамнезе, у 7% — тромбоз мозговых сосудов и у 10% — ТГВ.

Пациенты:

84 беременные с СПП в возрасте 20—41 год
80 здоровых беременных с отягощенным акушер-
ским анамнезом (21—40 год)

Методы:

Определение АФА:

Волчаночный антикоагулянт (АЧТВ, dRVVT, КСТ +
тест нейтрализации тромбоцитов)

АФА (STAGO, France)

- ПЦР (FV Leiden, протромбин G20210A, MTHFR C677T)
- АТ III, протеин С (ELISA, STAGO, France)
- Маркеры тромбофилии (TAT, F1+2, D-димер, FDP (Behring-werke, Germany))
- Число тромбоцитов и тест активации тромбоцитов

Рис. 123. Материалы и методы исследования структуры пациенток с СПП.

Анализ структуры тромбофилии у женщин с синдромом потери плода показал, что у 45% имела место мутация MTHFR C667T, у 29% — АФА, у 15% — FV Leiden, у 4% — мутация протромбина и у 20% — мультифакториальная природа тромбофилии — сочетание нескольких генетических мутаций или АФА — с генетическими мутациями (рис. 124).



Рис. 124. Причины тромбофилических состояний у пациенток с СПП.

В связи с каузальной ролью тромбофилии в патогенезе синдрома потери плода, профилактика повторных потерь плода подразумевает применение противотромботических препаратов, что также позволяет предупредить тромбофилические осложнения в данной группе высокого риска.

Однако в зависимости от дефекта в ряде случаев (дефицит АТ III, гипергомоцистеинемия и пр.) необходима дополнительная терапия витаминами, а также заместительная терапия (концентрат АТ III или свежезамороженная плазма и пр.).

Тем не менее, учитывая, что нарушения, связанные с тромбофилией и неадекватным образованием фибрина, начинают формироваться еще на этапе имплантации оплодотворенной яйцеклетки, инвазии трофобласта, формирования плаценты, важно еще до зачатия проводить профилактику более поздних осложнений.

R.Vick предлагает до зачатия терапию малыми дозами аспирина (до 81 мг/день), и только после наступления беременности добавлять антикоагулянтную терапию низкими дозами гепарина (по 5 тыс Едх2 раза п/к). На основании результатов, полученных различными исследователями, низкие фиксированные дозы свиного ге-

парина более эффективны, чем высокодозированные режимы гепаринотерапии. При этом более чем у 98% женщин, получающих антикоагулянтную терапию, наблюдаются успешные исходы беременности.

Dallas/Fort Worth Metroplex (DFW Metroplex) был разработан протокол ведения беременности у женщин с синдромом потери плода и генетической, приобретенной или комбинированной тромбофилией (табл. 126).

Таблица 126.

Профилактика синдрома потери плода у пациенток с тромбофилией (согласно рекомендациям DFW Metroplex).

Препараты:

1. Аспирин — 81 мг/сутки, начиная с фертильного цикла.
2. Свиной гепарин: 5000 ЕД подкожно каждые 12 часов сразу после наступления беременности (дополнительно к аспирину).
3. Кальций: 500 мг перорально ежедневно.
4. Препараты железа по 1 таблетке ежедневно.
5. Витамины для беременных.
6. Фолиевая кислота: 1 мг перорально ежедневно.

Лабораторные исследования:

1. Клеточный состав крови и количество тромбоцитов, уровень гепарина (анти-Ха-методом) еженедельно в течение 4 недель, затем ежемесячно.
2. УЗИ регулярно вплоть до родов.
3. Наблюдение за активностью плода ежедневно с 28 недель беременности.
4. Биофизический профиль и цветной Допплер (кровоток в пупочной артерии в 32, 34, 36 и 38 недель).
5. Во время родов (или выкидыша) посылать плаценту для патологоанатомического анализа на предмет плацентарных сосудистых тромбозов.

Хотя протокол включает фолиевую кислоту в качестве профилактики гипергомоцистеинемии и/или дефектов нервной трубки, необходимо отметить, что при гомозиготной форме мутации MTHFR C677T и тяжелой гипергомоцистеинемии доза фолиевой кислоты может быть увеличена до 4 мг/сутки. Следует также учитывать, что повреждение сосудистой стенки в условиях гипергомоцистеинемии происходит с участием продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и, в частности, активных форм кислорода. Поэтому в условиях гипергомоцистеинемии противопоказаны озонотерапия и гипербаротерапия, которые могут усиливать ПОЛ и способствовать тем самым активации тромбоцитов и эндотелиоцитов, усугубляя атерогенный и тромбофилический эффекты гомоцистеина.

Витамины группы В также являются компонентом терапии гипергомоцистеинемии, поскольку являются кофакторами метаболического цикла метионина.

Что касается дозы гепарина или НМГ, мы считаем, что в зависимости от выраженности тромбофилии доза гепарина/НМГ не всегда одинакова и зависит от уровня маркеров тромбофилии ТАТ, ПДФ, так как помимо риска потерь плода, присутствует и риск тромбозов, особенно в III триместре беременности и в послеродовом / послеоперационном периоде.

В качестве базисного терапевтического агента мы использовали низкомолекулярный гепарин фраксипарин в дозах 0,3—1,0 мл (150—250 ICU/kg) в зависимости от выраженности тромбофилии. Начиная с фертильного цикла, пациентки получали аспирин в дозе 75—81 мг (рис. 125). Дополнительная терапия включала полиненасыщенные жирные кислоты (Омега-3), витамины для беременных, фолиевую кислоту 4 мг в сутки и витамины группы В — у пациенток с мутацией MTHFR C677T.

Оценка эффективности длительного применения НМГ фраксипарина производилась с учетом как клинических, так и лабораторных критериев. Об эффективной профилактике свидетельствовали как пролонгирование беременности до

сроков доношенной беременности, так и отсутствие задержки внутриутробного развития плода по данным УЗИ, отсутствие внутриутробного страдания плода по данным доплерометрии и кардиотокографии.

Базисная терапия:

- НМГ (фраксипарин 0,3 — 1,0 с начала беременности)
- НПВС (Аспирин 75 мг)

Дополнительная терапия:

- Витамины
- Фолиевая кислота 4 мг + В6 и В12 у пациентов с мутацией MTHFR C677T
- Полиненасыщенные жирные кислоты (Омега-3)

Рис. 125. Профилактика СПП и тромбозов у женщин с тромбофилией.

К важнейшим лабораторным критериям эффективности проводимой профилактики относится снижение вплоть до полной нормализации молекулярных маркеров тромбофилии (ТАТ, D-димер) и нормализация агрегационной активности тромбоцитов (рис. 126).

<p>Клинические критерии: Отсутствие признаков СПП Позитивная динамика при доплерометрическом исследовании Отсутствие тромботических осложнений Отсутствие задержки развития плода</p>	<p>Лабораторные критерии: Снижение уровней маркеров тромбофилии (ТАТ, D-димер) Нормализация функции тромбоцитов</p>
--	--

Рис. 126. Критерии эффективности длительной терапии НМГ.

Патогенетически обоснованная, с нашей точки зрения, профилактика СПП позволила у 91% пациенток с тромбофилией пролонгировать беременность и родить живых доношенных детей (рис. 127). В тех случаях, когда терапия была начата поздно (9% пациенток) избежать потерь плода не удалось. Одна пациентка, которая поступила с тромбоэмболией легочной артерии при сроке 28 недель беременности, умерла. У нее была выявлена гомозиготная мутация FV Leiden в сочетании с АФА. В то же время анализ акушерского анамнеза обследованных пациенток с СПП показал, что в отсутствие патогенетически обоснованной терапии только у 2% беременность закончилась рождением живых детей (рис. 128).



Рис. 127. Исходы беременностей у пациенток с СПП и тромбофилией при проведении адекватной противотромботической терапии.



Рис. 128. Исходы беременностей у пациенток с СПП и тромбофилией без терапии.

В исследуемой группе у 74% произошли роды через естественные родовые пути в срок, оперативные роды путем операции кесарева сечения — у 17%. В послеродовом/послеоперационном периоде терапия фраксипарином была возобновлена через 6 часов и продолжалась в течение 10 дней с последующим переходом на варфарин (МНО 2,0—3,0).

В процессе терапии НМГ фраксипарином не было ни геморрагических осложнений, ни тромботических осложнений.

С целью иллюстрации мы бы хотели привести один из наиболее ярких клинических случаев.

Клинический случай

Пациентка С., 32 года, поступила в отделение патологии беременных родильного дома при 67 ГКБ 11 мая 2001 года с жалобами на головную боль, мелькание мушек перед глазами. АД при поступлении 170/100 мм рт ст.

Диагноз при поступлении: Беременность 37 недель. Головное предлежание. Преэклампсия. Рубец на матке. Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез.

Соматический анамнез: хронический гастродуоденит с 1990г, хронический пиелонефрит с 1985г.

Гинекологический анамнез: менструации с 14 лет, установились сразу, через 26—28 дней по 6 дней, регулярные, умеренные, безболезненные. Половая жизнь с 19 лет.

Акушерский анамнез: первые 12 беременностей (1988—1996 гг.) закончились самопроизвольными выкидышами в сроках 5—6 недель беременности. Обследовалась, причина не найдена.

13 беременность (1997г) протекала с явлениями гестоза, преэклампсии, в связи с чем завершилась оперативными родами в сроке 38 недель. Родился живой доношенный мальчик 3100/51см, у ребенка — ДЦП.

14 беременность (2001г) — данная. С 13 недель отмечалось повышение АД (максимальные цифры 140/90 мм рт. ст.). В III триместре несколько раз в анализах мочи обнаруживались следы белка. Общая прибавка в весе за беременность 15 кг.

Объективно при поступлении: ЧСС 80 уд/мин, АД 170/100 мм рт. ст., кожные покровы чистые, отмечается отечность голеней и стоп, а также кистей рук. Женщина госпитализирована в палату интенсивной терапии, где проводилась интенсивная терапия гестоза: глюкозо-новокаиновая смесь в/в капельно, зуфиллин, клофелин, курантил, дибазол, папаверин.

Клинический анализ крови: гемоглобин 123г/л, эритроциты 3,7; лейкоциты 4,7; тромбоциты 169000; СОЭ 43.

Общий анализ мочи в пределах нормы.

Биохимический анализ крови: мочевины 1,6; глюкоза 3,9; общий белок 92,2.
ЭКГ: синусовый ритм, горизонтальное положение ЭОС, неполная блокада правой ножки пучка Гиса. Преобладание левого желудочка.

УЗИ: один живой плод в головном предлежании. БПР 91мм, СРЖ 100мм, ДБ 69мм, плацента по задней стенке, ближе к дну, толщина плаценты 37 мм, степень зрелости II, количество вод меньше нормы. Беременность соответствует 36—36,5 неделям.

Исследование гемостаза: АЧТВ 38, dRVVT 24, r+k 16, та 58, ИТП 27, АДФ-агрегация 26, ристомицин-агрегация 26, РКМФ +, Д-димер >3мг/мл, хронометрическая гиперкоагуляция, структурная изокоагуляция, функция тромбоцитов снижена. Признаки диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (РКМФ+, Д-димер+).

Иммуноферментный анализ показал высокую концентрацию АФА — 74 GPL.

Исследование крови на генетические формы тромбофилии обнаружена гомозиготная форма мутации метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR C677T.

Клинический диагноз: Беременность 37 недель. Головное предлежание. Преэклампсия. Мутация фермента MTHFR C677T (гомозиготная). АФС. Рубец на матке. Отягощенный акушерско-гинекологический анамнез.

Учитывая наличие комбинированной формы тромбофилии (АФС+MTHFR C677T) женщине была назначена терапия низкомолекулярным гепарином Фраксипарином по 0,3 мл/сутки, а также фолиевая кислота (4мг) и витамины группы В.

Принимая во внимание тяжелый гестоз, отягощенный акушерско-гинекологический анамнез, а также наличие рубца на матке, 18.05.01. в сроке 38 недель беременности женщина была родоразрешена путем операции кесарева сечения. За сутки до операции был отменен Фраксипарин. Родился живой доношенный мальчик 3500г/52см с оценкой по шкале Апгар 6>7 баллов, закричал сразу. Кровопотеря составила 600,0мл. Через 8ч после операции терапия Фраксипарином была возобновлена и продолжалась еще 10 суток. Женщина выписана домой с ребенком на 9 сутки после родов в удовлетворительном состоянии.

В данном случае имел место синдром потери плода (12 самопроизвольных выкидышей на ранних сроках), обусловленный наличием генетически обусловленной (гомозиготная мутация MTHFR C677T) и приобретенной форм тромбофилии. Эти же нарушения наряду с имевшим место хроническим пиелонефритом стали причиной развития тяжелого гестоза, осложнившегося преэклампсией, в результате чего женщина была экстренно родоразрешена оперативным путем во время предыдущей беременности, а также причиной тяжелого гестоза с преэклампсией во время настоящей беременности. К сожалению, несвоевременная диагностика генетической и приобретенной форм тромбофилии и позднее назначение антикоагулянтной и витаминотерапии (лишь на 37 неделе беременности) уже не позволили избежать гестоза, преэклампсии, но, возможно, именно благодаря этому родоразрешение прошло без осложнений, а главное удалось предупредить развитие тромбозов и эклампсии в послеродовом периоде.

Более ранние наши исследования, посвященные профилактике СПП у пациенток с АФС (Гениевская М. Г. и соавт.) также подтвердили, что чем раньше начата адекватная противотромботическая профилактика, тем благоприятнее исход беременности. Применялся НМГ Фраксипарин в качестве монотерапии в непрерывном режиме 1 раз п/к в дозе из расчета 150 ICU/кг. Терапию получали 55 женщин с АФС: 26 — со срока 3—4 недели и 29 — со срока 12—20 недель беременности. Данная терапия у 98,8% женщин позволила пролонгировать беременность и родить живых детей. Частота преждевременных родов в первой группе снизилась с 60% в предыдущих беременностях до 7,6%, а в группе, где фраксипарин назначался с 12—20 недель — с 58,3% до 17,3%.

Обращает на себя внимание значимое снижение частоты гестозов 2-ой половины беременности легкой и средней тяжести в группе с ранним началом терапии (19,2%) по сравнению с группой, получавшей терапию со II-го триместра (27,6%)

($p < 0,05$). Частота тяжелых форм гестозов значимо не отличалась в обеих группах ($p > 0,05$). При этом надо отметить, что общая частота этой патологии достаточно высока в обеих группах с АФС (19,2% и 31,0% соответственно), а также в группе с циркулирующей АФА без клинических проявлений АФС (26,7%). Следует учитывать достаточно высокий уровень экстрагенитальной патологии у обследованных больных, и особенно в группе с циркулирующей АФА без АФС, что является дополнительным фактором риска развития гестоза.

За последние 10 лет нами накоплен значительный опыт ведения беременных с АФС и с циркулирующей АФА без клинических проявлений АФС. Подробно изучены не только клинико-гемостазиологические особенности невынашивания при циркуляции АФА, но и такие «неклассические» варианты течения АФС в акушерской практике, как гестоз и плацентарная недостаточность, проблемы их своевременного выявления и профилактики. Особо актуальным остается изучение особенностей течения гестационного процесса у беременных с сочетанным риском тромбофилии: с циркулирующей АФА и экстрагенитальными заболеваниями, включая различную кардиальную патологию. Особое внимание уделялось вопросам диагностики, включая выделение и раннее обследования беременных группы риска в условиях амбулаторного наблюдения.

Изначально подход к терапии основывался на принципе поэтапного увеличения антиагрегантной и антикоагулянтной терапии на фоне иммуносупрессивной терапии в малых дозах (преднизолон/метипред 5—10/4—8 мг/сут) под строгим гемостазиологическим контролем и применялся у 142 беременных с циркулирующей АФА. Подобный подход основывался на выявлении у беременных с АФА нарастающих изменений в системе гемостаза, не характерных для физиологического течения беременности. Так, у беременных с циркулирующей АФА в начале II-го триместра без лечения имели место гиперактивация тромбоцитов у 98%, признаки тромбоцитопении у 86% и фибринемии у 18%, а так же снижение активности естественных антикоагулянтов (АТIII), что свидетельствовало о необходимости проведения эффективной противотромботической терапии (Басова Е.П., Сапина Т.Е.). Кроме того, было отмечено, что, несмотря на стойкую инверсию тестов на АФА при применении только иммуносупрессивной терапии, у большинства беременных сохранялись проявления патологической активации гемостаза по типу хронической компенсированной формы ДВС. В качестве антиагрегантной терапии использовался курантил в возрастающей дозе 75—225 мг/сут, аспирин 0,5 г через 48 часов. При выявлении признаков внутрисосудистого свертывания применялся гепарин в малых дозах (15000 Ед/сут по 5000x3 р/д) курсами 2—3 недели п/к. Длительное непрерывное применение гепарина применялось у небольшой группы беременных (20 человек) из-за боязни риска ятрогенных осложнений.

Контроль за эффективностью противотромботической терапии с помощью тестов гемостаза осуществлялся 1—2 раза в месяц. Это позволило, в свою очередь, выявить ряд особенностей и сложностей проведения антиагрегантной и антикоагулянтной терапии в данной группе беременных. У 16,2% беременных с циркулирующей АФА, был выявлен феномен резистентности тромбоцитов к проводимой антиагрегантной терапии. У беременных с гестозами средней и тяжелой степени и циркулирующей АФА подобная тромбоцитарная реакция имела место у 31%. У 11% наблюдалась гепаринорезистентность, когда на фоне проведения антикоагулянтной терапии в условиях редуцированного антитромбинового потенциала сохранялись признаки внутрисосудистого свертывания, одновременно с увеличением риска геморагий. Для оптимизации проводимой терапии антиагрегантами или гепарином в условиях резистентности системы гемостаза к их действию проводились инфузии реополиглукина (200—400 мл в/в капельно через 48 часов) до 3—4 раз.

Подобный подход позволил в большинстве случаев добиться рождения живых детей. Однако достаточно высоко оставался процент осложнений. Так по данным Сапиной Т.Е. в группе беременных с впервые выявленными АФА во II три-

местре преждевременные роды составили 33% (причем 21% приходился на индуцированные роды из-за тяжелого гестоза и почечной недостаточности), гестоз средней степени тяжести 26%, тяжелый гестоз 21%, клинически выраженная плацентарная недостаточность 21%. В исследованиях Басовой Е. П. плацентарная недостаточность была выявлена у 41%, при этом клинически выраженная у 19,1%, доклинические проявления по данным доплерометрии были диагностированы у 22,5%.

Принцип поэтапного усиления противотромботической терапии представляется симптоматическим подходом и предполагает необходимость частых гемостазиологических исследований, которые являются дорогостоящими. Кроме того, они не всегда позволяют прогнозировать индивидуальный, часто волнообразный характер течения тромбофилии и внутрисосудистого свертывания, а также диагностировать локальное тромбообразование в плаценте, связанное с нарушениями в системе Аннексина V. При вышеуказанном подходе также невозможно обеспечить адекватную трофобластическую конверсию, которая нарушается при циркуляции АФА и профилактику микротромбозов ворсин хориона с самых ранних сроков.

Объективным недостатком указанных исследований явилось формирование групп наблюдений по лабораторному признаку циркуляции АФА без четкого учета клинических критериев. В группы объединялись как первобеременные, так и беременные с отягощенным анамнезом.

Накопленный клинический опыт поставил вопрос о необходимости четкого разграничения понятий АФС и циркуляция АФА без клинических признаков синдрома, так как степень риска репродуктивных потерь и интенсивность необходимой терапии значительно коррелирует с устойчивостью тромбофилического эффекта АФА, что, по всей видимости, связано со степенью вовлечения в патологический процесс кофакторных механизмов. Согласно статистическим данным без лечения вероятность повторных потерь у беременных с АФС достигает 90%, вероятность невынашивания первой беременности у здоровой женщины при циркуляции АФА достигает 28%, по сравнению с 7%—15% в контрольной группе без циркуляции АФА (Lockshin M. 1997, Lynch A. 1994). Именно этим было обусловлено введение понятия «синдром потери плода», который представляется нам наиболее приемлемым для описания характера репродуктивных потерь при АФС. Более значимыми в качестве диагностического критерия для постановки диагноза АФС нам представляются потери плода в сроке более 10 недель беременности (8 недель эмбрионального развития), когда практически нивелируется влияние возможных исходных нарушений в генетической программе развития, а также гормональных нарушений в репродуктивной системе женщины, и патогенетическая роль АФА становится очевидной. Однократная потеря беременности на этом сроке служит объективным клиническим критерием.

В исследованиях М.Г.Гениевской сочетание циркуляции АФА с другими факторами невынашивания в группе беременных с синдромом потери плода имела место у 32,55%, при этом гормональные нарушения диагностировались у 16,5%, хроническая бактериальная инфекция у 21,6%. Таким образом, являясь, безусловно, независимой причиной потерь плода, в клинической практике АФС часто встречается в сочетании с другими нарушениями, осложняет их течение и может стать ведущим фактором, определяющим исход беременности.

Хроническое вирусоносительство имело место у 40%. Однако такой высокий уровень хронического вирусоносительства не рассматривается нами в качестве самостоятельного фактора повторных потерь плода. На сегодняшний день доказанным является повреждающее действие вирусной инфекции на сосудистый эндотелий, и, в частности, на изменение ламинарной конфигурации фосфолипидных мембран клеток на гексогональную, что, возможно, запускает выработку АФА. Однако наш опыт, а также ряд работ других исследователей (Harris E.N., Triplett D.A.,) позволяют предположить, что АФА, индуцированные инфекционным возбудителями, не взаимодействуют с кофакторами и с меньшей вероятностью способны развитию тромботических, но не акушерских осложнений.

Поскольку АФА способны оказывать патогенное влияние на различных сроках беременности, начиная с зачатия, патогенетически оправдана антикоагулянтная терапия с самых ранних сроков. Дефект глубины инвазии трофобласта, нарушение антикоагулянтной функции плаценты с развитием локальной формы ДВС не всегда можно уловить клинически и лабораторно в те сроки, когда медикаментозная коррекция не будет сводиться к симптоматической терапии. Именно поэтому терапия при АФС и синдроме потери плода должна носить превентивный характер и быть направленной на профилактику возможных, хорошо известных осложнений. Таким образом, исходя из важнейшей роли эндотелиальных повреждений при АФС, нам представляется патогенетически обоснованной попытка раннего применения эндотелиопротективных препаратов, потенцирующих антиагрегантные и антикоагулянтные резервы организма.

Список литературы

1. Агаджанова А.А. Основные подходы к комплексной терапии антифосфолипидного синдрома в клинике невынашивания беременности. // Акушерство и гинекология, — 1999. — № 3. — С.6—8.
2. Баркаган З.С., Сердюк Г.В.. Невынашивание беременности и мертворождаемость при нарушениях в системе гемостаза. // Гематология и трансфузиология.—1991. — № 4. — С.3—4.
3. Бицадзе В. О., Макацария А. Д. Патогенетическое обоснование и возможности применения низкомолекулярных гепаринов в акушерской практике. // Акушерство и гинекология, —1999.— № 2.— С. 37—41.
4. Бицадзе В.О. Патогенетическое обоснование применения низкомолекулярных гепаринов у беременных с заболеваниями сердца и тромбофилией. // Автореф. дис....канд. мед. наук.— М., 1999. — 26 с.
5. Гениевская М.Г. Патогенетическое обоснование противотромботической терапии невынашивания беременности у больных с антифосфолипидным синдромом. // Автореф. дис....канд. мед. наук. — М., — 1999. — 27 с.
6. Гениевская М.Г., Макацария А.Д. // Акушерство и гинекология, — 2002. — № 2. — С. 24—27.
7. Городничева Ж.А., Пономарева И.В., Мурашко Л.Е., Сухих Г.Т. Особенности течения беременности у женщин с антифосфолипидными антителами с гестозом. // Акушерство и гинекология, — 1998. — № 5. — С. — 35—38.
8. Громыко Г.Л. Роль антифосфолипидного синдрома в развитии акушерских осложнений. // Проблемы репродукции, — 1997. — № 4. — с. 13—18.
9. Зыков Е.С., Патрушев Л.И., Каюшин А.Л., Коросталева М.Д., Мирошников А.И., Бокарев И.Н., Леонтьев С.Г., Кошкин В.М., Северин Е.С. Новые аллель-специфические праймеры для обнаружения мутации Leiden в экзоне 10 гена фактора V при тромбофилиях. // Биоорг. химия, 1997, 23, 205—210.
10. Коняев Б.В. Антифосфолипидный синдром. // Клиническая медицина. — 1997. — Т. 75. — № 4. — с. 52—53.
11. Кулаков В.И., Голубев В.А. Роль новых медицинских технологий в акушерстве, гинекологии и перинатологии. // Акуш. и гин. — № 2. — 1999. — с. 3—6.
12. Макаров В.А. Разработка новых методов диагностики и лечения нарушений гемостаза.// «Проблемы физиологии и патологии системы гемостаза под редакцией А.И Воробьева, З.С Баркагана, Барнаул, 2000, с. 35—38.
13. Макаров О.В., Озолия Л.А. Венозные тромбозы в акушерстве и гинекологии. М., 1998, 262 с.

14. Макацария А.Д. Тромбофилия и беременность. // Вест. Рос. Асс. акушер. и гинекол., — № 1. — 1994. — С.76—85.
15. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Вопросы патогенеза тромбофилии и тромбозов у беременных с антифосфолипидным синдромом. // Акушерство и гинекология, — № 2. — 1999. — С. 62—67.
16. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. М.: «Руссо», 2001 — 704 с.
17. Макацария А.Д., Киселева-Романова Е.А., Кролл Ж.Б., Бухаева Я.Ш. Тромбофилические состояния в акушерской и гинекологической практике. // Материалы научного форума «Новые технологии в акушерстве и гинекологии», 1999 г.
18. Макацария А.Д., Просвирякова И.Г. Врожденные и наследственные дефекты гемостаза, предрасполагающие к рецидивирующим тромбозам, и беременность. // Акушерство и гинекология, № 6. — 1989. — с. 3—6.
19. Макацария А.Д., Просвирякова И.Г. Тромбофилические состояния, тромбозы и тромбоемболии в акушерской практике. // Акушерство и гинекология, — 1987. — № 12. — с. 62—67.
20. Макацария А.Д., Долгушина Н.В. Герпетическая инфекция, антифосфолипидный синдром и синдром потери плода. // Москва, 2002, 80 с.
21. Матвеева Т.Е. Вопросы патогенеза и профилактики синдрома потери плода у беременных с тромбофилией. // Дисс...канд мед наук. — М., 2002г. — 131 с.
22. Насонов Е.Л., Баранов А.А., Шимсина Н.П. Патология сосудов при антифосфолипидном синдроме. // Москва — Ярославль, 1995.
23. Патрушев Л.И. Тромбофилические состояния и современные методы их диагностики. // РМЖ, том 6, №3, 1998.
24. Пономарева И.В., Городничева Ж.А., Ванько Л.В. и др. Нарушения в системе гемостаза у беременных с патологическим уровнем антифосфолипидных антител. // Акушерство и гинекология, — 1999. — № 3. — с. 20—23.
25. Прудникова Л.З., Алекберова З.С., Насонов Е.Л., Сидельникова В.М. Роль антител к фосфолипидам в развитии тромботических осложнений в акушерской практике. // Клин. мед., — 1999. — № 6. — с. 59—64.
26. Савельева Г.М., Шалина Р.И. Современные проблемы этиологии, патогенеза терапии и профилактики гестозов. // Акушерство и гинекология, — 1998. — № 5. — с. 6—9.
27. Савельева Г.М., Шалина Р.И., Керимова З.М., Калашиков С.А., Панина О.Б. Внутриутробная задержка развития плода. Ведение беременности и родов. // Акушерство и гинекология, — 1999. — № 3. — с. 10—16.
28. Сапина Т.Е. Клиническое значение раннего выявления антикоагулянта волчаночного типа у беременных с привычным невынашиванием и гестозами. Автореф. дис. ...кан. мед. наук. — М., 1997. — с. 24.
29. Сапина Т.Е., Мищенко А.Л. Клиническое значение раннего выявления антикоагулянта волчаночного типа в противотромботической терапии у беременных с потерями плода в анамнезе. // Акушерство и гинекология, — 1999. — № 2. — с. 30—34.
30. Серов В.П., Макацария А.Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. — М. — 1987. — 288 с.
31. Сидельникова Т.В. Патогенетическое обоснование использования курантила в акушерстве. // Акушерство и гинекология, — 1999. — № 5. — с. 52—54.

32. Сухих Г.Т., Пономарева И.В., Городничева Ж.А., Ванько Л.В. Спектр антифосфолипидных антител у беременных с гестозом. // *Акушерство и гинекология*, — 1998. — № 5. — с. 22—26.
33. Brenner B., Mandel H., Lanir N., Younis J., Rothbart H., Ohel G., Blumenfeld Z. Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. // *Br. J. Haematol.*, 1997; 97: 551—554.
34. Brenner B., Sarig G., Wetner Z., Younis J., Blumenfeld Z., Lanir N. Thrombophilic polymorphisms in women with fetal loss. // *Thromb. Mac.* 1999; 82: 6—9.
35. Brenner B. Thrombophilia and pregnancy loss. // 16th International Congress on Thrombosis and Haemostasis, 2000.
36. Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. // *Thrombosis and Haemostasis J.*, 1999; Vol 82, №2, p.634—641.
37. Cowchock S. Antibodies and pregnancy loss. // *The New Eng. Journal of Medicine*, July 17, 1997, p. 197—198.
38. Cowchock S. Prevention of fetal death in the antiphospholipid antibody syndrome. // *Lupus*, 1996; 5(5): 467—472.
39. Gandra M.J., Fraga M., Saraiva J.P., Andrade J. High risk pregnancy and thromboembolic disease. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
40. Gharavi A.E., Wilson W.A. The syndrome of thrombosis, thrombocytopenia, and recurrent spontaneous abortions associated with antiphospholipid antibodies: Hughes Syndrome. // *Lupus*, 1996; 5(5): 343—344.
41. Granger K.A., Farquharson R.G. Obstetric outcome in antiphospholipid syndrome. // *Lupus*, 1997; 6: 509—513.
42. Gris J.C., Quere I., Monpeyroux F., Mercier E., Ripart-Neveu S., Tailland M.L., Hofet M., Berlan J., Daures J.P., Mares P. Case-control study of the frequency of thrombophilic disorders in couples with late foetal-loss and no thrombotic antecedent—the Nimes Obstetricians and Haematologists Study 5 (NOHA5). // *Thromb. Haemost.*, 1999; 81: 891.
43. Kupferminc M.J., Eldor A., Steiman N., Many A., Baram A., Jaffa A., Fait G., Lessing J.B. Increased frequency of genetic thrombophilias in women with complications of pregnancy. // *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 9—13.
44. Kutteh W.H. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low dose aspirin alone. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1996, 174: 1584—1589.
45. Kutten W.H., Ermel L.D. A clinical trial for the treatment of antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss with lower dose heparin and aspirin. // *Amer. J. Reprod. Immunol.*, 1996; 35(4): 402—407.
46. Laskin C.A., Bombardier C., Hannah M.E., Mandel F.P. et al. Prednisone and aspirin in woman with autoantibodies and unexplained recurrent fetal loss. // *New. Eng. J. Med.*, 1997; 337: 148—153.
47. Makatsaria A.D., Bitsadze V.O., Genievskaia M.G., Hamani I. Multigenic pattern of thrombophilia in pregnant with heart diseases and history of thrombosis. // 16th Congress on thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
48. Martinelli J., Taioli E., Cetin I., Marinoni A., et al. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. // *N. Engl. J. Med.*, 2000; 343: 1015—1018.
49. Meinardi J.R., Middeldorp S., de Kam P.J., Koopman M.M.W., van Pampus E.C.M., Hamulyak K., Prins M.H., Buller H.R., van der Meer J. Increased risk for fetal loss in carriers of the factor V Leiden mutation. // *Ann. Intern. Med.*, 1999; 130: 736—739.

50. Nelen W.L.D.M., Blom H.J., Steegers E.A.P., Der Heijer M., Eskes T.K.A.B. Hyperhomocysteinemia and recurrent early pregnancy loss: a meta-analysis. // *Fertil. Steril.* 2000; 74: 196—199.
51. Ogasawara M., Aoki K., Matsuura E., Sasa H., et al. Anti beta 2 glycoprotein I antibodies and lupus anticoagulant in patients with recurrent pregnancy loss: prevalence and clinical significance. // *Lupus*, 1996; 5(6): 587—592.
52. Preston F.E., Rosendaal F.R., Walker I.D. Thromboprophylaxis in pregnancy reduces fetal losses in women with heritable thrombophilia: a prospective study. // *Supplement to Thrombosis and Hemostasis*, 1999, Aug., 227.
53. Preston E.E., Rosendaal F.R., Walker I.D., Briet E., Berntorp E., Fontcuberta J., Macris M., Pabinger I., Legnani C., Scharrer I., Schulman S., van der Meer F.J. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. // *Lancet*, 1996; 348: 913—916.
54. Rached R.A., Horellou M.H., Elalamy I., Conard J., Samama M.M. Homozygous 20210A prothrombin mutation combined with heterozygous factor V Leiden mutation. Thrombotic consequences in 5 unrelated women. // 16th Congress of thrombosis and haemostasis, Porto, 2000.
55. Reece E.A., Garofalo J., et al. Influence of Antiphospholipid Antibody titer, Prior pregnancy losses and treatment. // *The J. Reproductive Medicine*, V 42, N 1, 1997, p. 49—55.
56. Sarig G., Hoffman R., Younis J., Lanir N., Blumenfeld Z., Brenner B. Thrombophilia is common in women with pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. // *Thromb. Haemost.*, 1999; (suppl), (abstr.) 712, 226.
57. Tormene D., Simioni P., Prandoni P., Luni S., Innella B., Sabbion P., Girolami A. The risk of fetal loss in family member of probands with factor V Leiden mutation. // *Thromb. Haemost.*, 1999; 82: 1237—9.
58. Triplett D.A., Harris E.N. Antiphospholipid antibodies and reproduction. // *Am. J. Reprod. Immunol.*, 1989; 21: 123—131.
59. Sanson B.J., Friederich P.W., Simioni P., Zanardi S., Hilsman M.V., Girolami A., Ten Gate J.W., Prins M.M. The risk of abortion and stillbirth in antithrombin, protein C, and protein S-deficient women. // *Thromb. Haemost.*, 1989; 75: 387—388.
60. Younis J.S., Brenner B., Ohel G., Tae J., et al. Activated protein C resistance and factor V Leiden mutation can be associated with first- as well as second-trimester recurrent pregnancy loss. // *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2000; 43: 31—35.

Глава XXII. Гестозы и противотромботическая терапия

История вопроса

Указания на клинические проявления эклампсии встречаются еще в рукописях античных времен и средних веков. Так, судорожный синдром описывается в египетском Кахун-Папирусе (2200 г. до рождения Христова), где идет речь о «судорогах в день родоразрешения». Упоминание о приступах судорог у рожениц обнаружено и в древнеиндийских рукописях «хирурга Сусруты». В древнекитайской медицинской литературе также имеются указания на опасность развития судорог у беременных. Тем не менее, наиболее ранними и известными считаются описания клинической картины эклампсии Гиппократом (5—4-ый век до рождения Христова). Он не только описал наиболее характерные симптомы, но и прогноз эклампсии: «У беременных головные боли и потеря сознания связаны с плохим самочувствием и конвульсиями, что определяет плохой исход». Позднее греко-римские врачи античных времен также рассматривали судороги как «опасные признаки». Филуменос, врач II века н.э. описывает рожениц в «сонном» состоянии, которые «подергивались» или «дрожали» и имели очень частый, но слабый пульс. Паулюс из Эгины, известный врач в Александрии, в 7-м веке связывал «эпилепсию» беременных с состоянием беременности. Другие ранние авторы искали причину в отсутствии менструаций во время беременности, которые вне беременности очищали организм от «вредных соков». Персидский врач Разес описал в 925 году жену гравера на меди, которая была «очень полной и рыхлой консистенции» и у которой после родов развился «приступ эклампсии».

Первый акушерский учебник «Der Swangern Frauwen und hebammen Rosegarten» франкфуртского городского врача Эухариуса Ресслина появился на свет в 1513 году. В одной из глав, посвященных описанию различных заболеваний, способствующих выкидышу или мертворождению, к особо тяжелым отнесена так называемая «падучая» беременных. В своем труде «Медицинские советы» сотрудник парижского факультета Guillaume de Baillou (1538—1616) впервые попытался дифференцировать экламптические судороги от эпилептических: «Пациентка дворянского происхождения несколько раз «сотрясалась» во время и после родов так, что усилия шести мужчин не хватило, чтобы удержать ее». Baillou описал отеки лица у беременных и «полнокровие», под которым сегодня понимают гипертензию, свойственную гестозу. В своих комментариях он выразил сомнение относительно адекватности термина «эпилепсия», поскольку было не ясно, связаны ли судороги с состоянием беременности или с самостоятельным заболеванием — эпилепсией.

В конце XVII века стали интенсивно развиваться эмпирическая и прикладная медицина, в первую очередь, хирургия. Практическое акушерство также стало интенсивно развиваться. Родовспоможение (акушерство) было выделено в качестве отдельной специальности, что в свою очередь, заложило основу для изучения патологии беременности. Прежде всего, описанные ранее судороги стали рассматриваться в контексте осложнений беременности. Дифференцированно стали рассматриваться признаки гестоза и эклампсии.

В XVIII веке с развитием медицины уже было дано точное клиническое описание гестоза и эклампсии и новая систематизация известных к тому времени заболеваний. Была подвергнута частичной ревизии существовавшая ранее нозология. Поворотным пунктом истории можно считать классификацию заболеваний, которую предложил французский врач и естествознаватель Francois Boissier des Sauvages (1706—1767) подобно своему коллеге, шведскому натуралисту, Карлу фон Линнею (1707—1778), который ввел классификацию растений. В своей известной схеме нозологий (от 1768 года) под термином «эклампися», который происходит от греческого слова «сверкающая», он понимает судороги беременных. В немецкоязычной литературе первый классический труд по акушерству принадлежит профессору акушерства Йохану Георгу Рёдедеру (1726—1763), который рассматривает эклампию как самостоятельную нозологическую единицу. Он дифференцирует эпилепсию от эклампсии по анамнезу и некоторым симптомам.

Рёдедер отмечает о большей частоте развития эклампсии у первобеременных. Кроме того, он описывает состояние «сниженного мочевыделения» и периферического «полнокровия». Последнее он определял по пульсу и окраске кожи (в частности покраснению кожи лица), так как артериальное давление крови в то время еще определять не могли. Тем не менее, между судорогами и отеками беременных патофизиологической связи еще не было обнаружено. «Кожная водянка» считалась одним из физиологических проявлений, свойственных беременности. Первое упоминание о водянке беременных в связи с судорогами во время беременности относится к началу 19-го столетия. Руководительница большой клиники — Парижской школы акушеров — Marie-Louise Lachapelle (1769—1822) наблюдала среди 38000 родов 67 случаев судорог у беременных. Lachapelle отмечала «анасарку» в протоколе ведения беременных как важное клиническое проявление и предрасполагающую причину судорог у беременных, терапевтические мероприятия при этом включали традиционные в то время средства — кровопускание, и слабительные средства. Однако вполне логично при этом предлагалось досрочное родоразрешение с амниотомией и наложением щипцов.

В учебнике Йохана Фридриха Озиандера (1787—1855), сына известного в то время немецкого акушера, описываются синдром гестоза с эклампсией и одновременным повышением «напряжения сосудов (крови)» как патофизиологически связанные явления. Озиандер обозначил судороги и бессознательное состояние, отеки губ, лица, рук и ног, а также характерные продромальные симптомы, такие как головные боли, нарушение зрения, головокружения, шум в ушах, тошноту, рвоту, уменьшенное мочеотделение, слабость родовой деятельности и слабый пульс. Озиандер подчеркивает, что состояние эклампсии есть «особенное, длительно готовящееся» заболевание.

Конец XVIII века можно обозначить как историческую дату зарождения новой науки — патологической анатомии. Первые исследования стали производиться в Вене, Париже и Лондоне. В начале 19-го века появились первые физикальные методы обследования больных (перкуссия, аускультация) и химические методы исследования. Рихард Брайт (1789—1858) связал симптом «водянки и альбуминурии» с патологическими изменениями в почках. John Charles Weaver Lever (1811—1858) так представил патофизиологическую связь между гестозом и эклампсией: «У 14 женщин с эклампсией всегда обнаруживались отеки и белок в моче. Эклампися при этом является не обязательным сопровождающим компонентом гестоза, альбуминурия же является центральным и обязательным симптомом гестоза».

В 1863 году Людвиг Траубе (1818—1876) и Зигмунд Розенштайн (1832—1936) относят поражение почек, альбуминурию, «повышенное напряжение в артериальной системе» и отек мозга к симптомам эклампсии. С появлением первого сфигмоманометра Самуэля Риттера фон Баша (1837—1895), метода Рива-Роччи (1867—1937) и манжеты Генриха фон Реклингхаузена (1867—1942) стало возможным измерение артериального давления, что служило диагностическим целям у беремен-

ных с гестозом. С 1897 года повышение артериального давления стали относить к обязательным симптомам гестоза и эклампсии, в то время как ранее «полнокровие» рассматривалось как сопутствующий симптом гестоза.

Фридрих Теодор Фрерикс (1819—1885), известный в своё время клиницист, выдвинул концепцию, согласно которой эклампсия является состоянием «уремии» беременных, родильниц и рожениц. Эта концепция послужила своеобразной «отправной точкой» для появившихся затем многочисленных концепций развития гестоза (прежде всего во Франции), основная идея которых заключалась в отравлении организма беременных, получившем название «гестационного токсикоза» или, иначе «токсикоза беременных». Обнаруживаемые при этом анатомические изменения в почках, печени и плаценте объяснялись «отравлением» материнского организма продуктами обмена плода или другими неизвестными «ядами».

Цангенмайстер (1913) впервые ввел понятие «почка беременной», не объясняя при этом ни этиологии, ни патогенеза этого осложнения беременности. Lohlein уже в 1918 г. описал при эклампсии отек эндотелия капилляров и утолщение капиллярной стенки. После триумфа бактериологии в конце 19-го века стала рассматриваться «инфекционная» теория гестоза. Несколько позже основатели иммунологии Эмиль фон Беринг (1854—1917) и Пауль Эрлих (1854—1915) выдвинули иммунологическую концепцию. Столь многочисленны были выдвигаемые одна за другой концепции, что гинеколог конца века Пауль Цвайфель (1848—1927) назвал гестоз «заболеванием теорий». Среди работ XX столетия квинтэссенция знаний об этой комплексной проблеме наряду с другими работами, освещена в работах Chesley, Diekmann, Friedberg и др. Исследования этих лет свидетельствуют, что гестозы имеют мультифакториальную природу, а также предрасполагающие и различные разрешающие факторы. Попытки связать гестоз с единственной причиной до сегодняшнего дня терпят неудачу.

Последние годы усилия исследователей сфокусированы на патофизиологии происходящих при гестозе изменений и разработке методов раннего прогнозирования и профилактики гестозов.

Наиболее обсуждаемой в настоящее время гипотезой патогенеза гестоза является гипотеза маточно-плацентарной ишемии. J. C. Vecker показал в 1948 году, что нарушение гемодинамического равновесия плацентарного кровотока вызывает повышение сопротивления децидуальных артериальных сосудов. Эта гипотеза в последующие годы получила морфологическое подтверждение. J. A. Brosens и W. B. Robertson смогли доказать, что децидуальные сосуды при преэклампсии из-за неполноценной инвазии клеток трофобласта развиты и распространены недостаточно.

Теория «недостаточности» плацентарного кровотока как причины гестоза получила также подтверждение и в эксперименте на животных. D. Cavanagh в 1977 г. обнаружил повышение системного артериального давления у животных с компрессией *a. uterinae* и плацентарной ишемией. Помимо этого, у животных отмечалась значительная протеинурия, а также гистоморфологические изменения в области клубочков, соответствующие обнаруживаемым также у женщин с гестозом. В. Spargo в 1959 году назвал эти изменения «гломерулярным капилляроэндотелиозом».

О существовании специальных гуморальных прессорных факторов у беременных с гестозом предположил еще в 1920 году E. Vumm. Hunter (1960) назвал эту субстанцию «гистеротонин». Эти первые гипотезы легли в дальнейшем в основу исследований нефрологов по проблеме эссенциальной гипертензии. В 50-ые, 60-ые годы впервые была доказана роль катехоламинов и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

В настоящее время знания о патогенезе гестоза, благодаря успехам молекулярной медицины, биохимии и биофизики, значительно расширились. С момента открытия Mc Kay ДВС-синдрома появился термин «синдром микрофибринообразования», который в большой степени касался различных форм акушерской патологии, включая тяжелые формы гестоза и, в первую очередь, эклампсию, поскольку у

женщин, умерших от эклампсии обнаруживались фибриновые сгустки в микроциркуляторных сосудах. Позже этот феномен был обнаружен и при других формах гестоза. С ним связывали и синдром микроангиопатической гемолитической анемии, который в 1954 году был обнаружен Притчардом у беременных с тяжелым гестозом. Им же позже была предложена известная схема магниезальной терапии при преэклампсии и эклампсии.

С нашей точки зрения новая эра в понимании этиопатогенеза гестоза началась с открытия новых наиболее часто встречающихся в общей популяции генетических дефектов гемостаза тромбофилического характера и антифосфолипидного синдрома, а также установления роли тромбофилии в патологии процессов имплантации плодного яйца, плацентации и более поздних нарушений маточно-плацентарной перфузии.

В 1999—2002 году рядом исследовательских групп: V. Brenner, A. Elder (Израиль), R. Bick et al. (США), L. Heilmann et al. (Германия), а также нами (Макацария А. Д., Бицадзе В. О., Баймурадова С. М.) независимо друг от друга впервые в мире была обнаружена высокая частота генетических форм тромбофилии у беременных с тяжелыми формами гестоза. Кроме того, нами обнаружено, что при комбинированных формах тромбофилии (мультигенные или сочетание генетической тромбофилии с АФС) течение гестационного процесса более тяжелое и помимо гестоза может сопровождаться и другими акушерскими осложнениями (невынашивание, ПОНРП, ЗВРП, АГП), также высок риск тромбоэмболизма.

Тем не менее, несмотря на успехи последних лет в области молекулярной медицины, проблема этиологии гестозов по сей день не решена, и все больше данных свидетельствует о мультифакториальной природе гестозов.

Являясь тяжелейшим осложнением беременности, гестоз на сегодняшний день по-прежнему остается одной из главных причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности не только в нашей стране, но и в мире. Частота его в общей популяции составляет в среднем около 4% среди всех беременностей с индивидуальными колебаниями от 1,5% до 10% (табл. 127).

Таблица 127.

Частота гестоза в различных странах.

Регионы	Частота
Индустриально развитые страны	5%
Азия в целом	1,5—10%
Вьетнам, Таиланд, Бирма	1,5%
Китай	10%
Африка в целом	3%—9%
Центральная Африка	7%—9%
Южная Африка	3%

В развивающихся странах гестоз является третьей по частоте причиной высокой материнской смертности. Высокая частота гестоза в Китае, возможно, связана с пропагандируемой в стране тенденцией «семьи с одним ребенком»: высокая частота возникновения гестоза у первобеременных и обуславливает столь высокую заболеваемость в Китае.

Многолетние наблюдения и эпидемиологические данные свидетельствуют, что к факторам риска возникновения гестоза, помимо паритета, относятся возраст (риск выше с увеличением возраста), генетические причины, многоплодная беременность, иммунологические причины, плацентарные факторы («гиперплацентоз»), социальные факторы, климат (время года) и возможно другие (рис. 129).

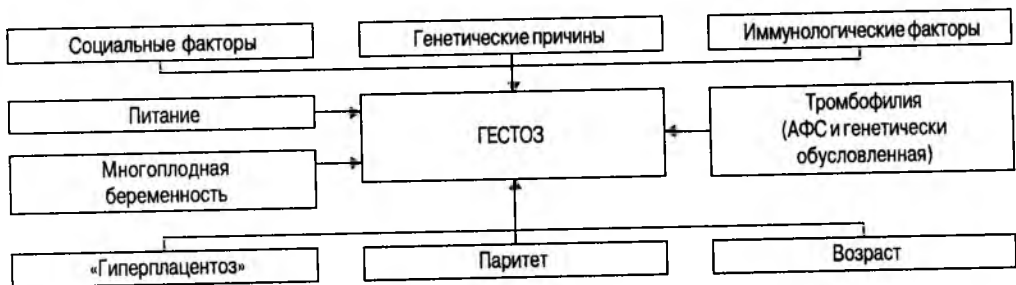


Рис. 129. Факторы риска возникновения гестоза.

Хотя далее более подробно будут рассматриваться существующие ныне гипотезы этиологии гестоза, хотелось бы пояснить некоторые положения, приведенные выше относительно факторов риска.

Возраст, являясь фактором риска, рассматривается и как фактор, который может агgravировать возможную эссенциальную гипертензию, в том числе генетически обусловленную. В то же время не следует забывать и об атеросклеротических и склеротических изменениях сосудов, в том числе и миометральных, которые с возрастом усиливаются.

С давних времен прослеживается и наследственный характер гестоза. И в настоящее время все больше данных свидетельствуют о генетической предрасположенности к гестозам: частота возникновения гестоза у кровных родственников в 2—5 раз выше, если в роду у кого-то был тяжелый гестоз.

В то же время, если предыдущая беременность была осложнена гестозом, риск его возникновения в следующую беременность повышается. Риск «повторного» гестоза по обобщенным данным мировой литературы в среднем колеблется в пределах 30—40%. При этом чем раньше развился гестоз в предыдущую беременность, тем выше риск «повторного» гестоза в следующую беременность. Тем не менее, отмечено, что в большинстве случаев «повторный» гестоз протекает легче и клинически манифестирует позже. Замечено также, что у женщин, которые во время беременности перенесли гестоз с гипертензивным синдромом, в более старшем возрасте развивается гипертензия. По предварительным данным, в том числе и нашим, у беременных с гестозом частота выявления мутаций гена ангиотензин-превращающего фактора и рецептора ангиотензина достоверно выше, чем у беременных с физиологическим течением гестационного процесса. Конечно, с одной стороны, можно предположить, что в таких случаях имеет место эссенциальная гипертензия, обусловленная генетически, однако, с другой стороны, учитывая достаточно высокую распространенность АФС, не следует забывать, что как гестоз, так и гипертензия в пожилом возрасте являются различными клиническими проявлениями столь многоликого синдрома как АФС. Генетически обусловленная гипергомоцистеинемия (в результате мутации гена MTHFR C677T или других мутаций) также может быть объяснением данному феномену.

Такой фактор, как этническая принадлежность, впервые был описан Chesley в 1984 году, который обнаружил значительную разницу в частоте возникновения гестоза у жительниц острова Фиджи (высокая частота) и индианок (низкая частота). Исследования Rath et al. (1992) частоты гестоза у черного и белого населения Канады показали более высокую частоту гестоза, преждевременных родов и перинатальной смертности у чернокожих женщин.

Плацентарным факторам в возникновении гестоза в настоящее время придается большое значение. В 1959 году Jeffcoatte ввел понятие «гиперплацентоз» для обозначения возможной причины плацентарного фактора в возникновении гестоза. «Гиперплацентоз» может иметь место при пузырном заносе, гестационном диабете, многоводии, многоплодной беременности. Со времени введения термина

«гиперплацентоз» знания о роли плацентарных нарушений в патогенезе гестоза значительно расширились благодаря успехам молекулярной биологии и биохимии, о чем подробнее будет изложено несколько позднее. Что же касается патологических состояний, сопровождающихся «гиперплацентозом», то достоверно известно, что у беременных с гестационным диабетом риск развития гестоза в 4 раза выше, чем в контрольной группе.

Влияние таких факторов как климат/время года на частоту возникновения гестозов дискутабельны. Тем не менее, по обобщенным данным мировой литературы отмечается связь между развитием гестоза и низкой температурой, а также повышенной влажностью воздуха.

Несбалансированное питание, несомненно, является значимым фактором риска развития гестоза. Об этом свидетельствует не только тот факт, что в индустриально слабо развитых странах частота гестоза выше, но также высокая частота гестоза и в эндемических областях, дефицитарных по тем или иным микроэлементам и/или витаминам.

Учитывая роль оксидативного стресса в патогенезе гестоза, изучались вопросы влияния определенных диетических режимов на возникновение гестоза. При этом было отмечено, что в Колумбии, благодаря употреблению в пищу продуктов, богатых соевыми белками, кальцием и линолевой кислотой развитие поздних гестозов значительно ниже. В то же время попытки использовать в терапевтических целях диетические продукты с высоким содержанием линолевой кислоты у беременных с уже развившимся гестозом, не увенчались успехом. Не отмечалось позитивного влияния ни на параметры артериального давления, ни на гемостазиологические параметры, ни на перинатальные исходы.

Важным аспектом питания является также и прибавка в весе. Было отмечено влияние времени года на прибавку в весе у беременных. Кроме того, в зависимости от сезона состав, а точнее, концентрация витаминов А, С, фолиевой кислоты в основных пищевых источниках также меняется.

Изучение роли оксидативного стресса (дисбаланса между антиоксидантами/оксидантами) в патогенезе гестоза продемонстрировало важнейшую роль глутатион-пероксидазы. При исследовании глутатиона — внутриклеточного антиоксиданта — было обнаружено значительное снижение его концентрации у беременных с гестозом. Что же касается «статуса» витамина Е как важного антиоксидантного параметра, то данные относительно его концентрации у беременных с гестозом весьма разноречивы: некоторые авторы отмечают повышение концентрации витамина Е. Для объяснения этого, на первый взгляд непонятного феномена, была предложена гипотеза о компенсаторном механизме увеличения концентрации витамина Е в условиях оксидативного стресса. Нам же кажется, что такое объяснение вряд ли можно рассматривать как достойное внимания, поскольку известно, что любые компенсаторные возможности организма не безграничны и истощаемы. Более приемлема гипотеза, согласно которой повышение концентрации витамина Е у беременных с гестозом объясняется гиперлиппротеинемией, характерной для гестоза: витамин же Е, в свою очередь, транспортируется липпротеинами.

Известно, что многоплодная беременность является одним из факторов риска развития гестоза. Риск развития эклампсии у беременных двойней в 3 раза выше, чем у беременных одним плодом. Эти наблюдения по сей день не имеют научного объяснения. Возможно, это можно объяснить большей массой плаценты («гиперплацентоз») и более высоким количеством отцовских антигенов, что может косвенно подтверждать иммунологическую этиологию гестоза. С другой стороны, возможно, при многоплодной беременности потребности в кислороде повышаются, и нередко имеет место относительная плацентарная недостаточность, сопровождающаяся снижением кровотока и развитием гипоксии. Следует особо отметить, что если в таких случаях имеет место скрытая тромбофилия (генетически обусловленная и/или приобретенная) риск как гестоза, так и других осложнений беременнос-

ти (ПОНРП, выкидыши, внутриутробная задержка развития вплоть до внутриутробной гибели плода) многократно повышается.

Интересны исследования, посвященные значению иммунологических факторов в возникновении гестоза и связанные с вопросами репродуктивной медицины. Было отмечено, что если женщина ждет ребенка от нового сексуального партнера, риск развития гестоза выше, чем у женщин, которые длительное время имеют одного сексуального партнера. Кроме того, обнаружена обратная корреляция между регулярной половой жизнью без механических средств предохранения и частотой развития гестоза. Возможным объяснением данному феномену может быть попадание спермы в эндометрий, что получило название спермоинокуляции. В таких случаях вместе со спермой в организм матери попадают отцовские антигены, которые способствуют формированию иммунной толерантности таким образом, что иммунологически «свободный» плод без проблем акцептируется материнским организмом. В этом контексте представляет интерес исследование von Ikedife, который показал, что у 34 из 46 женщин с многоплодной беременностью и эклампсией беременность наступила от нового партнера.

Данные исследований ЭКО также подтверждают эту теорию. В одном из больших исследований было показано, что частота развития гестоза достоверно выше у женщин, оплодотворенных спермой донора, но не постоянного партнера.

Вероятно, те же иммунологические факторы объясняют и относительно высокую частоту гестозов у первобеременных по сравнению с повторнобеременными: первый иммунологический контакт с трофобластом происходит в отсутствие иммунологической толерантности материнского организма и отцовскими антигенами.

Вопросы этиологии и патогенеза гестоза

Несмотря на то, что клинические проявления гестоза были известны еще в древности, этиология его до сих пор остается неизвестной, хотя представления о патогенезе этого синдрома, свойственного только человеку, значительно расширились.

Хотя было выдвинуто множество гипотез этиологии гестоза, в последние годы наибольший интерес представляют следующие:

- генетическая гипотеза
- гипотеза плацентарной ишемии
- иммунологическая гипотеза.

На сегодняшний день открыты некоторые гены, которые могут быть ответственны за развитие гестоза. К таковым относятся HLA-антиген-кодирующие гены, гены АПФ и рецептора ангиотензина II и гены, ответственные за продукцию цитокинов (в первую очередь TNF- α).

Прослеживая характер наследования тяжелых форм гестоза, было сделано предположение, что «ген гестоза» является рецессивным или, по крайней мере, доминантным с неполной пенетрантностью.

В настоящее время появились данные и о влиянии плодовых генов на развитие гестоза. Так, фетальная трисомия и редкий дефект длинной цепи 3-гидроксиацил-СоА-дегидрогеназы связаны с высоким риском возникновения гестоза.

На сегодняшний день также интенсивно изучается роль полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента АПФ I/D в возникновении гестоза. Хорошо известно, что ренин-ангиотензиновая система играет ведущую роль в модулировании сосудистого тонуса, а, кроме того, как недавно выяснилось, влияет на тромбоцитарную, коагуляционную и фибринолитическую функции. Согласно последним исследованиям F.Geusini et al. (2002) АПФ Д-аллель (гомозиготный ДД-генотип) может играть роль в модулировании кровотока в маточной и пупочной артериях и повышает риск «повторного» гестоза и задержки внутриутробного развития плода.

Обсуждая вопросы генетической предрасположенности к гестозам, нельзя не указать на роль генетически обусловленной тромбофилии (мутация FV Leiden,

мутация протромбина G20210A, генетически обусловленная гипергомоцистеинемия в результате мутации MTHFR C677T или других дефектов) как факторе риска развития гестоза, о чем свидетельствуют и наши исследования.

Поскольку в регуляции сосудистого тонуса важнейшую роль играет оксид азота (NO), мощный эндогенный вазодилатор, в настоящее время интенсивно изучается влияние мутаций гена NO-синтазы (NOS) на риск возникновения гестоза. Среди множества вариантов мутаций NOS-гена, наиболее значимой причиной на сегодняшний день представляется точечная мутация G894T, которая ведет к замене аминокислоты глутамина на аспартат в позиции 298 (Glu298Asp). По данным Wagner et al. (1999) и группы японских исследователей (Shimasaki Y et al., 1998) данная точечная мутация ассоциируется как с высоким риском гестоза и, в частности HELLP-синдрома, так и повышенным риском сердечно-сосудистых заболеваний.

Как уже указывалось, «генетический конфликт» может возникать между материнскими и отцовскими генами, которые попадают в материнский организм вместе с плодом. В соответствии с этой теорией в условиях «конфликта» плод нуждается в большем притоке кислорода и питательных веществ, что обеспечивается за счет повышения артериального давления в материнском организме, а соответственно, и перфузионного давления в плаценте. В результате нарушения гемодинамического баланса развивается чрезмерная вазоконстрикция и гестоз.

Обсуждая вопрос формирования в условиях нормы «толерантности» материнского организма по отношению к плоду, который наполовину содержит «отцовские ткани», следует заметить, что данная «толерантность» не является «классической» в полном смысле этого слова, поскольку трофобласт не содержит классических антигенов гистосовместимости. Речь идет об HLA-независимом распознавании антигенов Т-клетками матки. Однако в условиях регулярного взаимодействия спермы с тканями эндометрия, благодаря TGF- β (трансформирующий фактор роста) происходит экспрессия IL-2 на лейкоцитах эндометрия. Это, в свою очередь, способствует супрессии HLA-независимого распознавания антигенов Т-клетками и тем самым препятствует антителиобразованию против отцовских антигенов плода.

Следует заметить, что хотя долгое время синцитиотрофобласт считался свободным от HLA-антигенов и, действительно, на поверхности ворсин хориона, участвующей в обмене веществ, эти антигены не обнаружены, в 1990 году две независимые исследовательские группы (Elis S.A. et al. и Kovats S et al.) обнаружили на поверхности экстравиллезных клеток трофобласта «неклассический» антиген типа G HLA-системы HLA-G (Human Leucocyte Antigen — G) — вариант MHC-I (Major Histocompatibility Complex-1). Поскольку этот антиген обладает минимальным полиморфизмом, обсуждается возможная его роль в обеспечении материнской толерантности к «полуаллотрансплантатному» плоду. При гестозе отмечается снижение содержания HLA-G на экстравиллезных клетках трофобласта и в децидуальной ткани. До сих пор не ясно, является ли снижение содержания HLA-G следствием сниженного количества клеток трофобласта в условиях гестоза или истинного снижения экспрессии HLA-G в условиях гестоза.

О значении снижения экспрессии HLA-G патогенезе гестоза может свидетельствовать тот факт, что более высокий полиморфизм HLA-G у афро-американок ассоциируется с характерной для этой этнической группы более высокой частотой гипертензии во время беременности.

Таким образом, в настоящее время формирование толерантности материнского организма к плоду рассматривается также и с точки зрения взаимодействия экспрессированных на клетках трофобласта HLA-G с большими маточными лейкоцитами (естественными киллерами, NK-клетки) и способности предотвращать атаку NK-клеток. Нарушение этих тонких процессов может стать причиной развития гестоза. Однако следует отметить, что данные нарушения могут быть причиной развития не только гестоза, но и внутриутробной гибели плода и другой акушерской патологии.

Иммунная система беременных с гестозом, согласно исследованиям последних лет, также претерпевает выраженные изменения по сравнению с беременными с неосложненным течением гестационного процесса. При этом обнаруживается практически генерализованная активация лимфоцитов, о чем косвенно свидетельствуют и высокие концентрации внутриматочного свободного кальция, и экспрессия IL-2 рецепторов. Кроме того, повышается пролиферативная активность и цитотоксичность лимфоцитов. Повышение отношения CD4/CD8 свидетельствует о снижении концентрации Т-супрессорных клеток. Что же касается гуморальных изменений — достаточно часто обнаруживаются антиэндотелиальные антитела, равно как и антифосфолипидные.

Подводя итог рассуждениям относительно этиологии гестоза, следует отметить, что несмотря на интенсивное изучение в последнюю декаду этого экстраординарного синдрома и поиска генов, «ответственных» за его возникновение, вряд ли можно думать, что существует один «ген гестоза», хотя, безусловно, те или иные генетические нарушения играют существенную роль в развитии гестозов.

Многочисленные наблюдения, свидетельствующие, что гестоз часто развивается у беременных с другими заболеваниями и патологическими состояниями (такими как диабет, СКВ и др.), характеризующимися дисфункцией эндотелия и микроциркуляции, позволяют предположить, что существует множество генов, predisposing к развитию гестоза, а потому гестоз — полигенный и мультифакториальный синдром.

Какова бы ни была причина возникновения гестоза, ведущая роль плаценты и ее аномалий в патогенезе гестоза в настоящее время уже не вызывает сомнений. Более того, уже хорошо известны и гистологические аномалии в области маточно-плацентарного кровотока, характерные для гестоза.

Сосудистая адаптация к беременности

В процессе физиологического течения беременности спиральные артерии подвергаются значительным морфологическим изменениям. Эти изменения включают:

- 1) замещение эндотелия интимы на большом протяжении клетками трофобласта;
- 2) замещение внутренней эластической мембраны и гладкомышечных клеток среднего слоя (медии) матриксом, содержащим клетки трофобласта, окруженные некоторым количеством фибрина. Вначале эти изменения происходят в децидуальном сегменте артерий, затем инвазия эндovasкулярного трофобласта распространяется на спиральные артерии миометрия, что по времени совпадает с началом второго триместра беременности. Происходящее в результате этих изменений расширение просвета сосудов способствует увеличению их «приспособляемости», снижает давление в артериальном кровотоке интервиллезного (межворсинчатого) пространства плаценты во время беременности;

- 3) в настоящее время хорошо известно, что у беременных с ЗВРП, гестозом физиологическая адаптация маточно-плацентарных артерий ограничена лишь уровнем децидуального сегмента сосудов, что часто связано с так называемой недостаточной инвазией трофобласта. Недостаточная инвазия трофобласта в область плацентарного ложа у беременных с ЗВРП, гестозом и др. осложнениями, сопровождается окклюзивными нарушениями в маточно-плацентарных спиральных артериях. Основными морфологическими проявлениями этих повреждений являются депозиция избыточных количеств фибрина и липидсодержащих клеток («пенистые» клетки). Характерно, что эти нарушения присутствуют и у нормотензивных, и у гипертензивных беременных с ЗВРП.

В настоящее время механизмы инвазии трофобласта и поистине «драматичных» изменений сосудов интенсивно изучаются. Обнаружено, что на трофобласте экспрессируется целый ряд специфических генов, которые обуславливают прогрессирование роста клеток посредством митоза с «инвазивным» феноменом. Нарушение экспрессии цитокинов, интегринов-молекул клеточной адгезии, мате-

ринских металлопротеиназ, HLA-G и плацентарного лактогена могут влиять на инвазию трофобласта. Недавние исследования (Caniggia et al., 1999) продемонстрировали ингибиторную роль трансформирующего фактора роста (TGF- β 3), экспрессия которого «выключается» в процессе инвазии трофобласта. Кроме того, цитокины, высвобождаемые децидуальными NK-клетками и местными макрофагами также могут модулировать инвазию трофобласта. Так, GM-CSF (гранулоцито-макрофагальный колониестимулирующий фактор) и M-CSF (макрофагальный колониестимулирующий фактор) стимулируют рост трофобласта, в то же время IFN- γ (интерферон- γ) и IL-2 — тормозят. TNF- α повышает, с одной стороны, экспрессию интегрина α 1 на клетках трофобласта, что ведет к повышению «инвазивной» способности, а с другой стороны — тормозит непосредственно рост клеток трофобласта. Подобным же образом действует и трансформирующий фактор роста β (TGF- β), эффект которого усиливается при стимуляции экспрессии интегрина α 5. При гестозе обнаруживается снижение экспрессии TNF- α в «неинвазированных» спиральных артериях. Кроме того, у пациенток с гестозом в децидуальной ткани обнаруживается повышенная экспрессия IL-2. Возможно, источником повышенной экспрессии IL-2 являются NK-клетки, в большом количестве поступающие в децидуальный слой.

Большие гранулярные клетки (LGL — Large Granular Lymphocytes), являясь типичной субпопуляцией NK-клеток, наряду с макрофагами в большом количестве присутствуют в области плацентарного ложа и «выделяют» множество различных цитокинов. В ранние сроки беременности LGL широко представлены в децидуальном слое, однако в конце первого триместра их концентрация значительно снижается. LGL лимитируют инвазию трофобласта. Наряду с регуляторной цитотоксичности посредством HLA-G, важную роль играет и влияние на цитокиновый спектр: LGL «выключают» м-РНК таких цитокинов, как CSF-1 (колониестимулирующий фактор 1), GM-CSF, M-CSF, TNF- α , TGF- β , IFN- γ и LIF (фактор ингибирования лейкемии). Каким образом при этом регулируется процесс трансляции, до сих пор не ясно.

Относительное увеличение количества LGL-клеток в децидуальной ткани наблюдается у пациенток не только с гестозом, но и с задержкой внутриутробного развития плода.

Макрофаги являются второй по частоте (после NK-клеток) субпопуляцией лейкоцитов, присутствующих в децидуальном слое, в отличие от LGL-клеток их концентрация в течение беременности не уменьшается. Макрофаги являются источником IL-1 β , IL-6, TNF- α , TGF- β , а также различных колониестимулирующих факторов. Reister F et al. (2002) обнаружили у пациенток с гестозом в среднем слое «неинвазированных» трофобластом артерий значительное скопление макрофагов. Также локальные скопления макрофагов обнаруживались в инвазированных (слабо!) трофобластом сегментах маточно-плацентарных артерий. В маточно-плацентарных артериях здоровых беременных макрофаги не обнаруживались. Что касается «неинвазированных» спиральных артерий у здоровых беременных, то концентрация обнаруживаемых в среднем слое макрофагов была значительно меньше, чем у беременных с гестозом.

Многочисленные исследования свидетельствуют о роли апоптоза клеток трофобласта в области плацентарного ложа. У здоровых беременных в терминальных ворсинах обнаруживаются лишь эндovasкулярные апоптозные клетки трофобласта. У беременных с гестозом же апоптозные клетки трофобласта обнаруживаются также и периартериально. При этом высокая концентрация макрофагов и увеличенная экспрессия TNF-рецепторов I позволяют предположить важную роль TNF- α и макрофагов в процессе апоптоза клеток трофобласта.

Маточно-плацентарный гемостаз при физиологически протекающей и осложненной беременности

Физиологическая беременность сопровождается значительными изменениями в системе гемостаза и, в частности, в области маточно-плацентарного кро-

вотока. Такая физиологическая адаптация необходима для обеспечения, по меньшей мере, двух важных функций: а) интеграции быстро увеличивающихся материнского и плодового кровотоков в области их «границы раздела» — плаценты; б) эффективного контроля кровотоков со стороны плаценты при отделении плаценты во время родов. С увеличением срока беременности физиологическая адаптация маточных спиральных артерий является важнейшим и необходимым условием для обеспечения повышенного притока крови к плаценте в условиях нормы. При осложненном течении беременности, включая гестозы, ЗВРП, как известно, маточно-плацентарный кровоток снижен, что можно регистрировать с помощью доплерометрии.

Изменения в свертывающей системе при физиологически протекающей беременности представлены слабой локальной активацией свертывания в маточном сосудистом русле, сопровождающейся повышенным синтезом фибриногена и других факторов свертывания, в сочетании со слабым снижением уровня естественных ингибиторов свертывания крови. Снижение фибринолитической активности в маточном кровотоке влияет на состояние свертывающей системы в периферической циркуляции у беременных.

Как интра-, так и экстравакулярная депозиция фибрина являются частью физиологического процесса при имплантации плодного яйца и инвазии трофобласта в области плацентарного ложа. Однако недавние исследования показали, что клетки трофобласта ответственны не только за контроль физиологической депозиции фибрина в области плацентарного ложа при физиологическом течении беременности, но также и за повышенную депозицию фибрина, которая наблюдается при беременности, осложненной ЗВРП.

Маточно-плацентарный фибринолиз

При беременности энзимы фибринолитической системы занимают центральное место в контроле и регуляции физиологического процесса депозиции фибрина, а в ряде случаев — и в предотвращении депозиции фибрина в области сосудистого ложа. Процесс регуляции зависит, в первую очередь, от активности активатора плазминогена и от уровня синтеза и секреции PAI, а также их взаимодействия. По меньшей мере, два известных ныне PAI играют важную роль в процессе фибринолитического контроля при беременности: PAI-1 и PAI-2. При этом PAI-1, в основном, локализован в сосудистом эндотелии, а PAI-2 — в клетках трофобласта плаценты и в области плацентарного ложа, хотя последние способны к продукции как PAI-2, так и PAI-1. Долгое время считалось, что клетки трофобласта, выстилающие интиму децидуальных спиральных артерий в поздние сроки беременности обладают сниженной фибринолитической активностью. Хотя это связывалось в основном с эффектом PAI-2, имеющим плацентарное происхождение, недавние исследования показали, что PAI-1 является более важным в маточно-плацентарной циркуляции. Кроме того, выяснилось, что дисбаланс маточно-плацентарного фибринолитического контроля при ЗВРП и гестозе в результате повышенной продукции PAI-1 ответственен не только за повышение депозиции фибрина в маточных сосудах и снижение степени инвазии трофобласта на ранних сроках беременности, что также создает предпосылки для развития в дальнейшем гестоза и ЗВРП.

Таким образом, маточно-плацентарный гемостаз во время беременности зависит от эффективной регуляции фибринолиза. При нормально протекающей беременности плацента является богатым источником ингибиторов фибринолиза, о чем свидетельствует и тот факт, что при ЗВРП, гестозе способность плаценты к ингибции фибринолиза повышена.

Клетки трофобласта у беременных с ЗВРП и гестозом также имеют значительно более сниженную способность к продукции простаглицина по сравнению со здоровыми беременными. А поскольку простаглицин является мощным вазодилатато-

ром и антиагрегантом, локальное децидуальное снижение продукции его интраваскулярным трофобластом играет также важную роль в повышенной депозиции фибрина и агрегации тромбоцитов в маточно-плацентарных сосудах при ЗВРП и гестозе.

Эндотелиальные повреждения и гестозы

Как уже указывалось (см. главу I), эндотелий занимает стратегическое положение между циркулирующей кровью и гладкой мускулатурой сосудов (или экстраваскулярным пространством) и составляет площадь более чем 1000 м². Эндотелиоциты секретируют множество активных сигнальных молекул непосредственно в кровоток, потенциально оказывая эффекты практически на все клетки организма. В свою очередь, сами эндотелиальные клетки являются мишенью для клеточных и растворимых субстанций плазмы (цитокины, липопротеины, тромбоциты, лейкоциты, плацентарные мембраны, антитела и другие циркулирующие пептиды). Эндотелиальные клетки модулируют регуляцию сосудистого тонуса, коагуляционного каскада, проницаемости сосудистой стенки и пр. В нормальных физиологических условиях эндотелий поддерживает гомеостатический баланс. Сосудистый тонус контролируется вазоконстрикторами (эндотелины и тромбоксан А₂) и вазодилататорами (оксид азота (II) [NO] и простаглицин [Pgl₂]). Гемостаз поддерживается равновесием между анти- и прокоагулянтными влияниями эндотелия, а проницаемость сосудистой стенки — за счет плотных (контактных) соединений между эндотелиоцитами. Наконец, активация материнских эндотелиальных клеток или их повреждение могут вести к сосудистому спазму, микротромбозу и повышению сосудистой проницаемости.

В настоящее время уже не вызывает сомнений ведущая роль повреждения эндотелия и дисфункции эндотелиальных клеток в патогенезе гестозов. Основное внимание исследователей на сегодняшний день сфокусировано на триаде нарушений при гестозе: а) нарушение инвазии трофобласта; б) маточно-плацентарная ишемия; в) генерализованная активация эндотелиальных клеток или механическое повреждение. Хотя этиология гестозов остается открытым вопросом, в настоящее время важными иницирующими факторами считаются недостаточная плацентарная инвазия, а также нарушения дифференцировки трофобласта и перестройки сосудов плацентарного ложа.

«Активация» эндотелиальных клеток при преэклампсии

Под «активацией» эндотелиальных клеток понимают нарушение дифференцировки эндотелиальных клеток, типично индуцированное действием цитокинов. Дисфункция эндотелиальных клеток при гестозе может быть результатом действия различных факторов: нарушения кровотока, гипоксии, продуктов перекисного окисления липидов — свободных радикалов и атомарного кислорода, и других субстанций. Например, внутрисосудистое увеличение силы ударной волны крови в результате вазоспазма или недостаточной перестройки спиральных артерий нарушает морфологию и функцию эндотелия. Гипоксия, как результат сниженной плацентарной перфузии, является хорошо известным стимулятором синтеза и секреции эндотелина и эндотелиального фактора роста в кровоток. Повреждения эндотелия могут вызывать появление высокоактивных производных атомарного кислорода, свободные радикалы, а также антифосфолипидные антитела и цитокины, такие как TNF- α , IL-6 (см. ниже).

Биохимическими проявлениями активации или повреждения эндотелия является синтез и секреция различных продуктов эндотелиальных клеток, включая простаноиды, эндотелин-1, NO, фибронектин, селектины и другие молекулы, которые оказывают влияние на тонус сосудов и их модулирование. Важно отметить, что в условиях хронического патологического процесса, каковым является и гестоз,

такой эндотелиальный ответ может провоцировать развитие порочного круга, состоящего из вазоспазма, микротромбозов, дезинтеграции сосудистой системы и выраженных физиологических нарушений, которые персистируют до тех пор, пока не удален иницирующий фактор.

В настоящее время в рамках сосудистой патофизиологии гестоза выделяют клинический феномен тромботических микроангиопатических расстройств, развивающихся во время беременности. Хотя эти расстройства редки, беременность предрасполагает к их развитию. В то же время, тромботическая тромбоцитопеническая пурпура (ТТП), характеризующаяся тромбоцитопенией, микроангиопатической гемолитической анемией, нарушениями функции почек, неврологическими симптомами и лихорадкой, подобно гестозу, наиболее часто манифестирует в конце II триместра беременности.

Нарушения инвазии трофобласта и атероз

Первые патологические изменения, связанные с гестозом, могут появляться уже в процессе инвазии трофобласта, когда, в условиях нормы, происходит денудация (отслойка) эндотелиального слоя маточных спиральных артерий и замещение его эндovasкулярным цитотрофобластом. Недостаточная инвазия трофобласта в дальнейшем определяет «эндотелиальный» феномен гестоза, что подразумевает эндотелиальный генез развивающихся при этом нарушений.

Аномальная инвазия трофобласта, и, как следствие, нарушенная плацентарная перфузия, являются неизменным условием развития гестоза. Поскольку изначально плацента является источником всех дальнейших проявлений гестоза, то вполне логично, что в первую очередь внимание исследователей было обращено на повреждение эндотелиальных клеток в сосудах плаценты и матки. Повреждения в области спиральных артерий, которые получили название острого атероза, впервые были описаны Nadji, Sommers, De Wolf et al. Они описали вакуолизацию эндотелиальных клеток, миоинтимальную пролиферацию и инфильтрацию «tunica media» пенистыми клетками; все эти гистологические изменения характерны и для сосудистой патологии при атеросклерозе. Это наводит на мысль, что повреждение эндотелиальных клеток может быть механизмом, ответственным за весь широкий спектр сосудистых проявлений у беременных с гестозом. Согласно исследованиям Brosens et al., Kitzmiller и Benriscike, гистологические изменения в сосудах плацентарного ложа у беременных с гестозом обладают большим сходством с таковыми при сосудистой патологии, связанной с отторжением аллотрансплантата. Проявления и тяжесть гестоза (сосудистых нарушений) коррелируют с количеством поврежденных спиральных артерий. В ряде случаев при иммуногистохимических исследованиях в поврежденных кровеносных сосудах при гестозе выявляется наличие депозитов иммуноглобулина, фибрина и протеинов комплемента. Несмотря на эти наблюдения, иммунологическая гипотеза этиологии гестоза и иммунная основа сосудистых нарушений остаются весьма противоречивыми.

Подтверждением ранних сосудистых нарушений в бассейне плацентарного ложа служат и данные доплеровской ультразвукографии, согласно которым уже в течение ранних сроков беременности у женщин с гестозом наблюдаются снижение кровотока в спиральных артериях и плацентарной перфузии.

Помимо изменений в сосудах плацентарного ложа, при гестозе морфофункциональные нарушения обнаруживаются и в сосудах других органов. Эндотелиоз почечных гломерулярных капилляров, «набухание» эндотелиальной цитоплазмы и облитерация эндотелиальных фенестр являются патогномоничными признаками гестоза.

В фатальных случаях гестоза и эклампсии Sheehan и Lynch описали перипортальные сосудистые повреждения — инфильтрацию артериальной меди и капиллярный тромбоз; тем не менее, специфических изменений сосудистого эндотелия обнаружено не было.

Проявления активации эндотелиальных клеток на функциональном уровне

Как ранее уже указывалось, в последние годы появилось множество новых данных клинических исследований в пользу гипотезы эндотелиальной дисфункции при гестозе. Классический эксперимент Gaut et al. продемонстрировал, что рефрактерность, характерная для беременных с неосложненной беременностью, к инфузии анготензина II, исчезает раньше второй недели гестации у первобеременных, гестационный процесс у которых в дальнейшем осложняется гестозом. К сожалению, в клинике применение такого теста чувствительности на инфузию ангиотензина II с целью прогнозирования гестоза весьма сомнительно.

Ультрасонографические исследования свидетельствуют о снижении кровотока в мозговых и ретинальной артериях у беременных с гестозом, в то же время лечение магнием ($MgSO_4$) существенно улучшает кровоток в средней мозговой артерии. Возможная роль эндотелия в ответе на лечение магнием состоит, вероятно, в повышении продукции эндотелиальными клетками простациклина (Pgl2).

Экспериментальные данные с использованием миографии демонстрируют резистентность к фармакологической ингибции эндотелий-зависимой вазодилатации у здоровых беременных женщин (в отличие от небеременных).

В то же время, для артерий беременных женщин с гестозом характерна дисфункция в виде недостаточности релаксации в ответ на эндотелий-зависимые вазодилататоры. В эксперименте микровиллезные мембраны синцитиотрофобласта нарушают эндотелий-зависимую вазодилатацию нормальных сосудов (регистрируется миографом), что индуцирует ультраструктурные проявления повреждения эндотелиальных клеток. Подобным образом, в другом эксперименте материнская плазма беременной с гестозом ингибировала эндотелий-опосредованную релаксацию артерий миометра. Плазма от здоровых беременных таким эффектом не обладала.

Циркулирующие маркеры активации эндотелиальных клеток *in vivo*

Для беременных с гестозом характерна циркуляция в крови множества маркеров активации эндотелия, включая сниженный уровень простациклина, а также повышенный уровень эндотелина-1, клеточного фибронектина и тромбомодулина. Эти данные свидетельствуют о морфологических и функциональных изменениях, свидетельствующих об эндотелиальном повреждении.

Простагландины. Простагландины являются одним из основных вазоактивных продуктов эндотелиальных клеток (см. главу I). Эти биоактивные липиды обладают выраженным эффектом в отношении сосудистой гладкой мускулатуры и тем самым играют важную роль в физиологическом и патофизиологическом модулировании сосудистого тонуса.

Одним из основных эйкозаноидов, продуцируемых эндотелиальными клетками, является простациклин (Pgl2) — мощный вазодилататор и ингибитор агрегации тромбоцитов. Простациклин не «хранится» в эндотелиальных клетках, но быстро высвобождается из этих клеток в результате каскада энзиматических превращений его предшественника — арахидоновой кислоты. Концентрация Pgl2 в плазме и экскреция с мочой его метаболитов у беременных с гестозом снижена, а при выявлении уменьшения экскреции снижения метаболитов Pgl2 до 20 недель гестации можно прогнозировать развитие в дальнейшем гестоза.

Причины нарушения продукции простагландинов при гестозе до конца не ясны. С одной стороны, снижение синтеза Pgl2 может быть просто неспецифическим маркером дисфункции эндотелиальных клеток, тогда как повышение уровня TXA2 свидетельствует об активации тромбоцитов на эндотелии. С другой стороны, возможно взаимодействие между продуктами оксидативного стресса (перекис-

ное окисление липидов с образованием перекисей и свободных радикалов), перекисей липидов и фермента циклооксигеназы. Перикисы липидов могут активировать циклооксигеназу и стимулировать синтез ТхА₂. Аспирин, назначаемый для улучшения плацентарной перфузии, значительно тормозит пероксид-индуцированную вазоконстрикцию и секрецию простагландинов.

Было обнаружено, что перекиси липидов и тромбосан первично образуются в клетках трофобласта, тогда как Pgl₂ первично продуцируется сосудистыми тканями ворсинок. Плацента беременных с гестозом продуцирует больше перекиси и липидов и тромбосана по сравнению со здоровыми беременными, в тоже время продукция Pgl₂ у них чаще снижена.

Прокоагулянтные протеины и активаторы плазминогена. Как ранее уже указывалось, гестоз характеризуется гиперкоагуляционным состоянием, ДВС, микротромбозами в различных органах и нарушением маточно-плацентарного кровотока. Избыточная депозиция фибрина в плаценте свидетельствует, что расстройства коагуляции и фибринолиза в плаценте могут играть роль в активации системы гемостаза. В условиях эндотелиопатии при гестозе наблюдается снижение экспрессии важнейших естественных антикоагулянтов, включая протеин С, протеин S и антитромбин III.

Следует отметить, что генетические формы тромбофилии чаще встречаются у беременных с гестозом, чем у здоровых беременных. Так, по обобщенным данным, среди беременных с тяжелым гестозом у 25% выявляется функциональный дефицит протеина S, у 18% — гипергомоцистеинемия, у 29% — высокие титры антикардиолипинов IgG и IgM.

У беременных с гестозом также отмечается повышение эндотелиальной экспрессии других прокоагулянтных протеинов, включая TF, vWF, ФАТ, β-тромбоглобулин и клеточный фибронектин.

Повышенный уровень циркулирующих в крови фибронектина и тромбомодулина являются хорошими маркерами гестоза у беременных и служат для дифференциации гестоза от других форм гипертензии во время беременности.

Ингибиторы фибринолиза также играют важную роль в дисбалансе коагуляционного каскада у беременных с гестозом.

Так, концентрация PAI-1, синтез которого во время беременности в основном осуществляется плацентой, повышается у беременных с гестозом; кроме того, у них отмечается повышение концентрации PAI-1 также в амниотической жидкости и децидуальной ткани. Содержание PAI-2 также выше у пациенток с гестозом. Уровни циркулирующих PAI-1, тромбомодулина и фибронектина прямо коррелируют с тяжестью гестоза.

В ответ на повреждение или активацию эндотелиальные клетки экспрессируют гликопротеины экстрацеллюлярного матрикса с прокоагулянтной активностью, как фибронектин, vWF и др.

При активации эндотелиального монослоя интерлейкином-1, экспрессируемый фибронектин подвергается деградации под действием протеаз. Деградирующий фибронектин стимулирует нейтрофилы и, таким образом, дальнейшую деградацию под действием ферментов нейтрофилов. Такая последовательность процессов «запускает» воспалительный порочный круг. Повреждение «архитектоники» фибронектина является хорошим маркером эндотелиального повреждения и имеет важные патофизиологические «последствия».

Основное количество фибронектина плазмы попадает в кровяной ток из печени, где он синтезируется. Специфическая изоформа фибронектина, клеточный фибронектин (cFN), который экспрессирует два экстрадомена (ED-A и ED-B), генерируется различными м-РНК эндотелиальных клеток. ED-A клеточный фибронектин локализован исключительно в сосудистой эндотелии у здоровых небеременных женщин. Клеточный фибронектин играет центральную роль в адгезии, морфологии и миграции эндотелиальных клеток. Являясь одним из основных компонен-

тов эндотелиального экстрацеллюлярного матрикса, cFN в норме составляет микроскопическую часть циркулирующего в крови фибронектина, поэтому он является более точным маркером эндотелиального повреждения, чем тотальный фибронектин.

Использование моноклональных антител, распознающих cFN, позволило сделать заключение, что уровень cFN в плазме повышается еще до начала II триместра у женщин с гестозом. Кроме того, этот тест дает возможность отличить транзиторную гипертензию, гипертензию беременности без протеинурии и других признаков гестоза от гипертензии в рамках гестоза, так как именно для гестоза характерно повышение концентрации cFN в плазме.

Концентрация эндотелиальных молекул адгезии, включая сосудистую молекулу клеточной адгезии (VCAM-1) и P-селектин, также повышается при гестозе еще до II триместра беременности, когда клинические проявления гестоза отсутствуют.

Таким образом, на сегодняшний день появились возможности доклинической диагностики гестозов с помощью ранних маркеров эндотелиопатии (клеточного фибронектина, тромбомодулина и пр.), что позволит проводить раннее и более успешное лечение, а возможно и профилактику гестозов.

Митогенная активность и факторы роста. Одним из многочисленных ответов эндотелиальных клеток на повреждение или активацию является высвобождение или секреция митогенных протеинов или пептидов, что вызывает пролиферацию гладкомышечных сосудистых клеток, а, следовательно, при таких заболеваниях как атеросклероз или гестоз снижается кровоток из-за гипертрофии сосудистой стенки. Taylor et al. показали повышение митогенной активности плазмы у беременных с гестозом. Эта активность повышалась еще в I триместре беременности и возвращалась к нормальным значениям к 6—12 неделе послеродового периода.

У женщин с гестозом, по данным Taylor et al., имеет место снижение концентрации в плазме протеина, связывающего и ингибирующего митогенную активность инсулиноподобного фактора роста (IGF). Помимо этого, у беременных с гестозом также повышен уровень фактора сосудистой проницаемости клеток (VEGF, vascular, endothelial growth factor), что объясняет появление отеков и протеинурии при гестозе. VEGF также является маркером активации эндотелия.

Другим, не менее важным маркером активации эндотелия при гестозе является вазоактивный пептид — эндотелин-1 (ET-1). Из трех изоформ (см. главу I), ET-1 является преобладающим эндотелином, продуцируемым в эндотелиальных клетках. В нормальных условиях сосудистый эндотелин синтезируется в количествах, недостаточных для индукции вазоконстрикции. Однако недавно было обнаружено, что даже этот базальный уровень потенцирует вазоконстрикцию, вызванную другими вазоконстрикторами. Это особенно важно при гестозе, когда имеет место повышенный ответ на все прессорные агенты. Более того, ET-1 является мощным вазоконстриктором маточного и почечного сосудистого ложа, учитывая, что оба поражаются при гестозе.

ET-1 и его предшественник синтезируются в эндотелиальных клетках ворсинки, но не трофобласта. Синтез ET-1 стимулируют гипоксия и оксидативный стресс (свободные радикалы, перекиси липидов и др.). Однако источником повышенной концентрации ET-1 является не плацента, а системная активация материнских эндотелиальных клеток.

Оксид азота (NO) как маркер активации эндотелия

Открытие продукции NO эндотелиальными клетками в 80-е годы еще раз подтвердило огромное морфофункциональное значение эндотелия, который ранее рассматривался как пассивная разделительная поверхность между кровью и экстравазальным пространством.

NO обладает множеством функций (см. главу I), среди которых главными являются поддержание нормальной функции сосудов и полноценная адаптация сердечно-сосудистой системы к беременности.

NO обладает вазодилатирующей, антиагрегантной активностью, а также является ингибитором митогенеза. Обладая неспаренным электроном, он способен акцептировать электрон и тем самым выступать в роли естественного антиоксиданта. Выпадение этих функций в результате снижения уровня NO является причиной большинства патофизиологических изменений при гестозе.

Учитывая, что на повреждение и другие альтерирующие агенты эндотелий отвечает повышенным синтезом NO и простаглицлина (Pgl2), которые являются маркерами активации эндотелия, кажется парадоксальным тот факт, что при гестозе в условиях эндотелиопатии эффекты NO и Pgl2 снижены. Однако этому есть объяснение. Острая активация эндотелиальных клеток (как, например, при септическом шоке) сопровождается повышением продукции Pgl2, NO, в то время как хроническая (гестозы и пр.) альтерация — преимущественно вазоконстрикторным ответом. Вероятно, в условиях длительного повреждения эндотелия, гипоксии и циркуляции перекисей липидов, свободных радикалов и агрессивных форм кислорода, что имеет место при гестозе, NO «расходуется» на связывание свободных радикалов, в результате чего страдает одна из других его функций — вазодилатирующая и антиагрегантная.

О важной роли снижения эффектов NO при гестозе свидетельствует тот факт, что в условиях эксперимента хроническое введение животным ингибиторов синтеза NO полностью имитирует картину гестоза. Это свидетельствует не только о роли, но и эндотелиальной дисфункции в патофизиологии гестоза.

До сих пор вопрос о том, защищены ли плодовой кровотоком и сосуды от гуморальных факторов, присутствующих в крови матери с гестозом, является весьма противоречивым. По данным Dadak et al., у плодов матерей с гестозом отмечаются морфологические и биохимические проявления повреждения эндотелиальных клеток, отмечается и тромбоцитопения. Davidge et al. обнаружили в смешанной артерио-венозной пуповинной плазме новорожденных от матерей с гестозом повышенный уровень cFN. Тем не менее, этот вопрос требует дальнейших исследований.

Факторы плазмы — возможные активаторы эндотелиальных клеток

Последние десять лет интенсивно изучаются циркулирующие в плазме токсические факторы, потенциально способные вызывать дисфункцию эндотелиальных клеток при гестозе. Вследствие прямого контакта с сосудистым эндотелиальным монослоем, различные субстанции плазмы могут быть возможными кандидатами на роль активаторов эндотелия при гестозе. К их числу относят в настоящее время растворимые протеины (например, антиэндотелиальные антитела, АФА, цитокины и пр.) липиды и перекиси липидов, форменные элементы крови (например, тромбоциты и нейтрофилы), микрочастицы плацентарной мембраны и некоторые тяжелые металлы.

Цитокины

Основными циркулирующими активирующими эндотелий молекулами при гестозе являются растворимые иммуноактивные протеины, известные как цитокины. Из них TNF- α отвечает всем критериям медиатора эндотелиальной дисфункции. Как показали исследования Susan Fisher et al. (Калифорнийский университет, Сан-Франциско), цитокины являются основным продуктом секреции клеток цитотрофобласта в условиях гипоксии *in vitro*, это наблюдение было подтверждено и с ворсинчатой тканью. Повышенная концентрация иммуноактивного TNF- α обнаруживается у беременных с гестозом в крови. Биологическая активность TNF- α включает активацию эндотелиальных клеток, стимуляцию продукции NO и митогенной активности. В эксперименте TNF- α индуцирует эндотелиальные повреждения почечных клубочков.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что повышение активности TNF- α ответственно за активацию фосфолипазы A2 (PLA2) и биосинтез простаноидов.

IL-2 — плейотропный цитокин, продуцируемый активированными Т-лимфоцитами, обладает ауто- и паракринными эффектами. Его свойство стимулировать

T-, B-клетки, а также клетки — естественные киллеры (NK) привели многих исследователей к выводу об участии IL-2 в патогенезе гестоза.

Другие цитокины, такие как IL-1, IL-6, IL-8, а также гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (G-CSF) согласно экспериментальным данным также обуславливают повреждение эндотелия при гестозе. Кроме того, выяснилось, что GM-CSF, G-CSF, IL-1 и IL-8, обнаруживаемые в материнской крови и амниотической жидкости ассоциируются при гестозе с задержкой внутриутробного развития плода.

Таким образом, подводя итог, хотелось бы акцентировать следующие положения относительно роли эндотелия в условиях нормы и в условиях гестоза.

1. Эндотелий является «высоко специализированной» составляющей сосудистой стенки с многочисленными функциями:

- специфическая регуляция кровотока в органах
- регуляция процесса свертывания крови
- контроль транспорта жидкостей, макромолекул, клеток и информации между кровью и тканями
- связывание лейкоцитов на своей поверхности.

2. Многочисленность и сложная сеть функций обуславливают потенциально выраженное влияние на функцию всех органов, нарушением эндотелиальной функции могут объясняться все главные симптомы гестоза (табл. 128):

- периферическая вазоконстрикция
- повышение артериального давления
- снижение концентрации простаглицлина
- усиление свертывающей активности
- повышение потребления тромбоцитов и повышенная их активность.

3. Плацентарные (до сих пор еще точно не идентифицированные) факторы могут стать причиной активации эндотелиальных клеток, то есть изменения экспрессии и эффектов транспортных, рецепторных и функциональных протеинов в эндотелии с соответствующими клиническими эффектами.

Таблица 128.

Изменение функций эндотелия при гестозе и соответствующие клинические эффекты.

Продукция NO	↓ в некоторых участках сосудистой стенки	Вазоконстрикция, адгезия и агрегация тромбоцитов
Продукция Pgl2	↓	Вазоконстрикция и агрегация тромбоцитов
ET-1 продукция	↑	Вазоконстрикция
Продукция VEGF (сосудистый эндотелиальный фактор роста)	↑	Повышение сосудистой проницаемости, активация свертывания
Барьерная функция	↓	Отек, протеинурия
Молекулы адгезии	↑	Агрегация лейкоцитов, повышение сосудистой проницаемости

Нарушение липидного обмена при гестозе и HELLP-синдроме

Как уже не раз указывалось, физиологически протекающая беременность сопровождается состоянием гиперкоагуляции с повышением уровня факторов свертывания, адгезии тромбоцитов и снижением фибринолитической активнос-

ти. Однако такое, казалось бы, протромботическое состояние компенсируется в некоторой степени присущей нормальной беременности гемодилуцией. Тем не менее, риск тромботических осложнений даже при физиологически протекающей беременности повышается в 2—4 раза, а тромботические проявления развиваются только при наличии дополнительных патологических факторов, как со стороны системы гемостаза, так и реологии крови и функции сосудистой стенки.

Гестоз является уникальным патологическим состоянием, присутствующим лишь беременности у человека и характеризующимся гипертензией и/или протеинурией у здоровых до беременности женщин. Другим, более тяжелым проявлением является HELLP-синдром, характеризующийся гемолизом, повышением уровня ферментов печени и снижением количества тромбоцитов (см. ниже). Патологически протекающая беременность сопровождается выраженной дисфункцией эндотелия, активацией тромбоцитов и коагуляционного каскада с развитием ДВС.

Тромбин является важнейшим медиатором гиперкоагуляционного состояния и вазоконстрикции при гестозе. Эффекты образующегося в больших количествах тромбина на эндотелиальные клетки включают стимуляцию синтеза и высвобождения различных агентов (таких как медиаторы воспаления, вазоактивные субстанции и факторы роста), избыточную генерацию фибриновых сгустков, активацию тромбоцитов, эндотелиальных клеток, лейкоцитов; повышение проницаемости эндотелия и вазоконстрикцию в результате сокращения гладкомышечных клеток сосудов.

Таким образом, тромбин, образующийся на поверхности поврежденного эндотелия, активизирует процесс свертывания крови и является ключевым энзимом системы свертывания крови, которому принадлежит одна из важнейших ролей в патогенезе гестоза.

Антитромбин III (АТ III) является одним из основных регуляторов тромбина, образуя с ним необратимые комплексы. В условиях гестоза отмечается значительное снижение уровня АТ III, что свидетельствует о повышенном связывании его с тромбином, образующимся в повышенном количестве. Низкий уровень АТ III, наблюдаемый у беременных с гестозом, коррелирует с тяжестью гестоза и материнской заболеваемостью.

Типичные сосудистые повреждения в области артерий плацентарного ложа называются «острым атерозом» из-за присутствия нагруженных липидами макрофагов («пенистые» клетки) в стенке поврежденного сосуда. Эндотелиальные повреждения также присутствуют в почках (гломерулярный эндотелиоз) и могут быть причиной протеинурии. В печени эндотелиальные повреждения являются причиной перипортальной депозиции фибрина и снижения кровотока в печеночных синусах с последующим повреждением эритроцитов, их гемолизом (микроангиопатический гемолиз) и повреждением клеток печени. Повреждение эндотелия у беременных с гипертензией, сходны с таковыми при начальных формах атеросклероза. Однако, в отличие от атеросклероза, клиническое течение гестоза более острое, поскольку он может развиться в течение нескольких недель и даже дней, в то время как атеросклероз является хроническим заболеванием, которое развивается в течение многих лет. Хорошо известно, что одним из важнейших факторов риска развития атеросклероза является нарушение метаболизма липидов и, в частности, соотношения липопротеинов различной плотности и холестерина. Липиды могут вызывать эндотелиальные повреждения и тем самым влиять на активацию тромбоцитов и активацию внешнего пути свертывания, и прочие механизмы, что в совокупности ведет к тромбофилическому состоянию. Гиперхолестеринемия, равно как и гиперлипидемия сопровождается гиперкоагуляцией в результате активации факторов свертывания, повышения агрегации тромбоцитов и адгезии их к коллагену. Липопротеин А (LpA) является другим важным связующим звеном между метаболизмом липидов и системой фибринолиза. LpA является липопротеином, подобным ЛНП, в котором апо-липидпротеин А (Apo-A) ковалентно связан с аполипидпротеином В-100 — основным липопротеином в составе ЛНП. Интересно, что Apo-A по своей структуре гомологи-

чен плазминогену, но, в отличие от него, не обладает фибринолитической активностью. LpA считается независимым фактором риска атеросклероза.

В последние годы появились сообщения, что согласно предварительным исследованиям, у беременных с гестозом определяется повышенный уровень триглицеридов в крови. А учитывая роль печени в регуляции метаболизма липопротеинов, можно думать, что нарушение функции печени или подобные нарушения при HELLP-синдроме могут вызывать значительные изменения в материнском метаболизме липидов, которые могут быть отличными от таковых при гестозе. Кроме того, при HELLP-синдроме коагуляционные расстройства более выражены, чем при гестозе, о чем свидетельствует и патогномичное для этого синдрома падение числа тромбоцитов.

Какой механизм лежит в основе изменений метаболизма липидов у беременных с гестозом до сих пор не до конца ясно. Возможно, это компенсаторная реакция организма (в ответ на снижение кровоснабжения плаценты), которая направлена на «подачу» плоду большего количества энергии в условиях сниженного маточно-плацентарного кровотока.

В настоящее время почти не вызывает сомнения, что неполноценная инвазия трофобласта в спиральные артерии является важнейшим звеном патогенеза гестоза, что в дальнейшем обуславливает недостаточность плацентарного кровотока и задержку развития плода. Клинические симптомы гестоза, и в особенности повышение артериального давления у матери, можно рассматривать как компенсаторный механизм, призванный корригировать недостаточный плацентарный кровоток.

Как уже указывалось, для беременности, осложненной гестозом, характерно значительное повышение уровня триглицеридов (TG) и липопротеинов всех субклассов, являющихся «переносчиками» триглицеридов, в первую очередь, ЛОНП, ЛСП и ЛВП. Появление других липопротеинов, отличных от ЛОНП, «нагруженных» TG является уникальным явлением, характерным и для физиологически протекающей беременности, однако при беременности, осложненной гипертензией и протениурией, количество этих липопротеинов в крови значительно выше. Механизм такой «перегрузки» триглицеридами остается все еще предметом для размышлений: возможно, это связано с повышением инсулин-резистентности, снижением β -окисления в печени или со снижением катаболизма триглицеридов вследствие ингибции липопротеин-липазы цитокинами (TNF- α и др.), которые обнаруживаются в плазме беременных с гестозом в повышенных концентрациях.

В противоположность TG, уровни холестерина, ЛНП и ЛВП у здоровых беременных и у беременных с гипертензией практически не отличаются, что свидетельствует о гораздо меньшей роли их в патофизиологии беременности, осложненной гипертензией.

Метаболизм липидов при гестозе и HELLP-синдроме также отличаются. При HELLP-синдроме отмечается повышение концентрации TG в ЛСП, что согласовывается и с повышением концентрации TG у беременных с гипертензией. С другой стороны, содержание TG в ЛОНП у беременных с HELLP-синдромом значительно ниже, чем у беременных с гестозом и у здоровых беременных. Такое необычное повышение уровня ЛСП-TG на фоне неизменной концентрации ЛОНП-TG, возможно, связано с нарушением функции печени при HELLP-синдроме и, как следствие, с нарушением процесса превращения ЛСП в ЛНП. Иммуногистохимический анализ биоптатов печени от беременных с HELLP-синдромом показал наличие больших количеств лейкоцитарной эластазы и TNF- α в области некроза печеночных клеток, свидетельствующих о цитокин- и нейтрофил-опосредованном механизме повреждения печени. Уровень сывороточного TNF- α также значительно выше при HELLP-синдроме, чем при гестозе, что, вероятно, и определяет разный метаболизм липидов при гестозе и HELLP-синдроме, однако этот вопрос требует дальнейших исследований.

Повышенный уровень TG играет важную роль в патофизиологии гестоза. Богатые TG липопротеины способны повреждать эндотелиальные клетки в такой же

мере, как и ЛОНП — *in vitro*. Это сопровождается снижением секреции простациклина, что играет важную роль в генезе вазоконстрикции и повышении активности тромбоцитов, не говоря уже о нарушениях в коагуляционном каскаде и системе фибринолиза (увеличение активности тромбина и оборота фибрина, повышение уровня PAI-1 и фактора VIII, снижение уровней естественных антикоагулянтов — АТ III и протеина С).

Повышение уровня TG в сыворотке способствует увеличению активности PAI-1. В то же время ЛОНП, которые содержат основное количество триглицеридов сыворотки, вызывают значительно более сильную активацию всех компонентов внешнего пути свертывания, чем ЛНП или ЛВП. Таким образом, богатые триглицеридами частицы, такие как ЛОП и ЛСП могут играть важную роль в поддержании повышенной генерации тромбина и агрегации тромбоцитов. Значительное повышение уровня TG-богатых частиц, особенно ЛСП, ассоциируется с гиперкоагуляцией, повышением агрегации тромбоцитов, вазоконстрикцией вплоть до развития тромбоцитопатии потребления и коагулопатии потребления в рамках ДВС. Это может в большей степени увеличивать повреждения в области сосудистых лож, таких как маточные синусы и почечные клубочки, с развитием типичных для ДВС патофизиологических изменений.

Хотя не все механизмы, лежащие в основе нарушения липидного обмена при гестозе и HELLP-синдроме еще ясны, возможно, патологические реакции энергетического обмена во время беременности генетически детерминированы (так же как типы и уровни энергетического баланса). Так, известно, что у беременных с гестозом уже в I и II триместрах беременности обнаруживается повышенный уровень свободных жирных кислот, а в III — повышенный уровень TG; до беременности у них определяется гиперинсулинемия и резистентность к инсулину. Исходя из вышеуказанного, детальный анализ метаболизма липидов может быть весьма полезным для раннего прогнозирования развития гестоза или HELLP-синдрома и проведения своевременной профилактики этих осложнений беременности.

Поскольку препараты, снижающие содержание липидов в крови (такие как фибраты) фетотоксичны, альтернативой могут быть пищевые добавки с рыбьим жиром, содержащие ω -3 жирные кислоты. При этом значительное снижение уровня TG отмечается через 3 недели после начала приема ω -3 содержащих пищевых добавок у беременных с гипертриглицеридемией. Тем не менее, поиск эффективной терапии нарушения липидного обмена у беременных продолжается, и во многом успешность его зависит от выяснения истинного генеза повышения уровня TG-содержащих частиц — в результате повышенной их секреции или сниженного катаболизма.

Циркулирующие липиды и липопротеины. Связь между ожирением у матери и повышенным риском развития гестоза была подтверждена в широких проспективных исследованиях. Физиологическая гиперлипидемия беременности проявляется повышением концентрации основных липидов и липопротеиновых компонентов. У женщин с гестозом имеет место дальнейшее повышение продукции липопротеинов и снижение клиренса этих частиц. Хотя суммарная концентрация полиненасыщенных жирных кислот в сыворотке здоровых беременных не отличается от таковой у небеременных женщин, концентрация неэтерифицированных жирных кислот (НЭЖК) повышено у беременных с гестозом; в некоторых исследованиях это повышение обнаруживается еще за месяц до клинических проявлений гестоза.

Поскольку НЭЖК обладают токсичностью и способностью к образованию свободных радикалов, в процессе эволюции сформировались тонкие механизмы, регулирующие их уровень. Выяснилось, что острый жировой гепатоз беременности связан с гетерозиготной точечной мутацией с заменой нуклеотида G на C в позиции 1528 гена гидроксиацилдегидрогеназы, что вызывает структурные изменения в α -субъединице длинной цепи этого фермента.

Повышение липолипидической активности сыворотки также может быть одной из причин высокой концентрации НЭЖК у беременных с гестозом, что часто свя-

зано с активностью липофосфолипазы. По предварительным данным, при дефектах плацентации (недостаточной инвазии трофобласта) микровиллезные мембраны могут быть источником липофосфолипазы, попадающей в материнский кровоток. Sattar et al. обнаружили повышенную концентрацию печеночной липазы в крови беременных с гестозом.

Важную роль в генезе нарушений липидного обмена при гестозе играет гормон беременности — плацентарный лактоген (ПЛ). Этот гормон обладает липолитической активностью в отношении материнских жировых клеток; полагают, что высвобождение свободных жирных кислот осуществляется через активацию рецептора гормона роста и повышение чувствительности к эндогенным катехоламинам.

Считается, что модуляторы метаболизма липидов влияют на исходы беременности. Массо-ростовой индекс, концентрация триглицеридов и НЭЖК обычно значительно повышены у беременных с гестозом; кроме того, обнаруживается повышенный уровень ПЛ.

Таким образом, эндотелиальное повреждение при гестозе может быть индуцировано различными процессами, вызывающими образование НЭЖК циркулирующими липопротеинами очень низкой плотности (ЛПОНП) или другими липидами.

Дислипидемия при гестозе обладает большим сходством с таковой при атеросклерозе. При этом значительное повышение уровня триглицеридов, жирных кислот и сниженный уровень липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) сочетаются у беременных с гестозом с повышенной концентрацией ЛПОНП и ЛПНП. Последние являются хорошей мишенью для окислительных реакций с образованием наиболее токсичных для эндотелия соединений — перекисей липидов.

Свободные радикалы как причина дисфункции эндотелиальных клеток при гестозе

Свободные радикалы, помимо гестоза, участвуют в патогенезе большого числа заболеваний. Как уже указывалось, высокие концентрации жирных кислот в кровотоке беременных с гестозом являются субстратом для перекисидации липидов. Образование же перекисей липидов и продуктов реактивного кислорода считается одним из главных механизмов повреждения эндотелия при гестозе.

Дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов получил название «оксидативного» или «окислительного стресса». «Оксидативный стресс» способствует формированию порочного круга нарушений, снижающих «защитные» функции сосудистого эндотелия: вазодилаторную, антиагрегантную и барьерную.

Свободные радикалы, являющиеся основными оксидантами, представляют собой, в основном, производные реактивного кислорода (ROS) — свободные радикалы, содержащие кислород, такие как гидроксил-радикал ($\text{HO}\bullet$), пероксид-радикал ($\text{ROO}\bullet$) и супероксид-анионный радикал ($\text{O}_2\bullet$). К другим дериватам реактивного кислорода относятся свободные радикалы, не содержащие неспаренный электрон, перекиси водорода (H_2O_2), гипохлорная кислота (HOCl) и пероксинитрит-анион (ONOO^-).

Широкий спектр производных реактивного кислорода служит для передачи разнообразных клеточных сигналов в физиологических условиях. Повышенная же их продукция может иметь место при инструментальных вмешательствах, метаболических расстройствах и других патологических процессах. Реперфузионная тканевая ишемия/гипоксия является одной из основных причин образования производных реактивного кислорода и перекисидации (перекисного окисления) липидов *in vivo*.

Образование производных реактивного кислорода при постишемической реперфузии обусловлено нарушениями в системах митохондриального дыхания, нейтрофильной NADPHоксидазы, ксантин-оксидазы и циклооксигеназы. Образование производных реактивного кислорода при постишемической реперфузии является одной из причин оксидативных повреждений в плаценте при гестозе.

Естественными антиоксидантами, контролирующими эффекты оксидантов, являются энзиматические антиоксиданты (супероксид-дисмутаза [SOD], каталаза и

глутатион-пероксидаза) и металл-связывающие протеины (трансферрин, церулоплазмин и ферритин). Кроме того, первичную защиту от оксидативных повреждений осуществляют соединения с низкой молекулярной массой, так называемые «мусорщики» (scavengers) свободных радикалов. Последние включают водорастворимые формы (аскорбаты [витамин С], глутатион- и протеин-тиолы, мочевая кислота) и липопротеин- и мембрано-растворимые формы (включая α -токоферол (витамин Е) и пр.).

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) можно определить как «порчу» полиненасыщенных жирных кислот. ПОЛ развивается обычно в результате цепной реакции свободных радикалов (рис. 130) или, альтернативно, под действием таких энзимов, как циклооксигеназа и липоксигеназа. Образование наиболее реактивных производных кислорода, за редким исключением, происходит в присутствии ионов железа и других металлов. Первичные продукты ПОЛ, перекиси липидов, выполняют множество функций в физиологических условиях. Однако дисбаланс в системе реактивные производные кислорода / антиоксиданты ведет к неконтролируемому перекисному окислению липидов. Образующиеся при этом перекиси липидов вызывают: а) физическое разрушение липидов, а, следовательно, и мембран клеток; б) образование промежуточных реактивных продуктов (пероксильных и алкоксильных радикалов; или в) образование цитотоксичных более стабильных продуктов деградации гидроперекисей липидов (малондиальдегид и др.) или продуктов перекисидации лизофосфолипидов.

В условиях хронической ишемии плаценты при гестозе у беременных обнаруживаются повреждения плаценты, связанные с реперфузионными окислительными повреждениями.

Попадая в кровотоки матери, продукты ПОЛ также вызывают повреждения клеток и тканей. При этом наиболее патогенетически значимыми при гестозе являются эндотелиальные повреждения (см. выше).

Кроме того, окислительный стресс аггавирует течение различных заболеваний и способствует их прогрессированию. ПОЛ может вести к дальнейшему повреждению тканей, замыкая порочный круг: (... \rightarrow повреждение клеток \rightarrow ПОЛ \rightarrow последующее повреждение клеток \rightarrow последующая перекисидация \rightarrow ...).

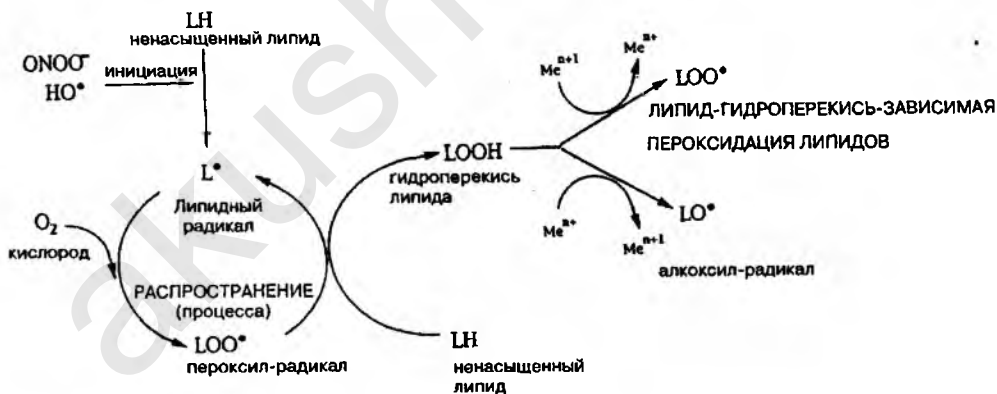


Рис. 130. Свободно-радикальный механизм перекисного окисления липидов.

ПОЛ инициируется, когда производные реактивного кислорода с достаточной силой «отрывают» метиленовый водород от ненасыщенной жирной кислоты (LH) с образованием липидного радикала (L^\bullet). Липидный радикал реагирует с молекулярным кислородом с образованием липидного пероксил-радикала (LOO^\bullet). LO^\bullet атакует другие ненасыщенные липиды, образуя другие липидные радикалы (которые включаются в цепную реакцию) и гидроперекиси липидов ($LOOH$) (распространение). Если липидный матрикс подвергается действию низких концентраций гидроперекисей липидов, перекисидация амплифицируется ионами металлов (Me^{n+}/Me^{n+1}), которые катализируют превращение перекисей липидов в производные радикалы ($LOO^\bullet; LO^\bullet$) (липид — гидроперекись — зависима перекисидация липидов).

Таким образом, теория «оксидативного стресса» в возникновении гестоза косвенно подтверждает ведущую роль эндотелиальных повреждений в генезе гестозов. В табл. 129 суммированы эффекты ПОЛ при гестозах и в эксперименте.

Таблица 129.

Эффекты ПОЛ при гестозе и в эксперименте.

Дисфункция при гестозе	ПОЛ в экспериментальной модели
<p>1. Проявления структурного повреждения эндотелия:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Гломерулярный капиллярный эндотелий • Эндотелий сосудов пуповины <p>2. Протеинурия</p> <p>3. Судороги при эклампсии</p>	<p>1. ПОЛ и/или высокие дозы перекисей липидов повреждают эндотелиальные клетки.</p> <p>2. Внутривенная инфузия перекиси водорода индуцирует обратимую протеинурию у крыс.</p> <p>3. Диета со сниженным содержанием витамина Е и содержащая перекиси липидов на 13-й день гестации вызывает развитие судорог, подобных эклампсическим, а также внутрисосудистый тромбоз.</p>
Эндотелиальные функциональные/биохимические изменения.	
<p>4. Вазоконстрикция и повышение чувствительности к прессорным агентам.</p> <p>5. Нарушение эндотелий-зависимой релаксации изолированных артерий у беременных с гестозом.</p> <p>6. Снижение продукции простаглицлина (PGI₂) сосудистой стенкой.</p> <p>7. Повышение уровня циркулирующего фибронектина.</p>	<p>4. Перекиси липидов или окисленные ЛНП повышают чувствительность артерий к агонистам <i>in vivo</i> и <i>in vitro</i>.</p> <p>5. Окисленные ЛНП ингибируют эндотелий-зависимую вазодилатацию.</p> <p>6. Усиление ПОЛ в условиях дефицита витамина Е снижает продукцию PGI₂.</p> <p>7. Пероксиды индуцируют высвобождение фибронектина тканями.</p>
Сыворотка/плазма беременных с гестозом нарушает функцию эндотелиальных клеток <i>in vitro</i>.	
<p>8. Плазма беременных с гестозом повышает продукцию оксида азота NO.</p> <p>9. Плазма беременных с гестозом индуцирует двухфазное высвобождение PGI₂ из эндотелиоцитов в культуре (повышение в течение первых 24 часов и снижение к 72 часам).</p>	<p>8. Окисленные ЛНП в низких концентрациях повышают продукцию NO эндотелиоцитами в культуре.</p> <p>9. Окисленные ЛНП или гиперлипидемичная сыворотка повышает продукцию PGI₂ в течение 2 часов, но ингибируют при дальнейшей инкубации (48—72 ч).</p>
Функциональные изменения в клетках крови.	
<p>10. Гемолиз и снижение осморезистентности эритроцитов.</p> <p>11. Снижение активности кальциевой АТФ-азы.</p>	<p>10. Окисленные ЛНП способствуют развитию гемолиза и снижению осморезистентности эритроцитов.</p> <p>11. Перекиси липидов и другие ROS ингибируют кальциевую АТФ-азу через модификацию протеиновых тиолов.</p>

Продукты перекисного окисления липидов также могут служить индикатором процесса чрезмерной активации процесса перекисного окисления липидов у беременных с гестозом. Изопростаны являются продуктами метаболизма арахидоновой кислоты в результате неэнзиматического окислительного ка-

тализа *in situ*. Эти липиды являются биологически активными вазоконстрикторами *in vivo*. Свободный 8-изопростан плазмы значительно повышен у беременных с гестозом до родов и возвращается к нормальным значениям после родов. 8-изопростан может служить биомаркером перекисного окисления липидов (ПОЛ) *in vivo*. Исследования с 8-изопростаном показали, что его экскреция с мочой значительно снижена у беременных с гестозом по сравнению со здоровыми беременными, что свидетельствует о нарушении почечного клиренса 8-изопростана при гестозе. С повышением ПОЛ отмечается повышение активности PLA2 и/или снижение почечного клиренса 8-изопростана. К другим проявлениям «оксидативного стресса» при гестозе относятся повышение концентрации стабильных метаболитов реактивного кислорода, перекисей липидов в крови и в тканях. Специфическим эффектом перекисей липидов является участие в патогенезе альтерации эндотелия, связанной с атеросклерозом, которая аналогична таковой при гестозе. TNF- α , уровень которого в крови повышен у беременных с гестозом, действует синергично с окисленными ЛПНП, повышая экспрессию эндотелиальных антигенов, которые активируют воспалительные клетки и стимулируют тем самым высвобождение свободных радикалов.

Форменные элементы крови как активаторы эндотелия

Тромбоциты. Как уже указывалось, нарушения в тромбоцитарном и коагуляционном звеньях системы гемостаза играют важную роль в патогенезе нарушений, свойственных гестозу (табл. 130, 131). Вполне резонно, что «поврежденные» тромбоциты могут взаимодействовать с сосудистым эндотелием, повреждая функцию эндотелиальных клеток. К сожалению, имеющиеся до последнего времени в распоряжении антиагреганты были не в состоянии предупредить это взаимодействие. Однако уже стали появляться новые препараты, редуцирующие негативное взаимодействие тромбоцитов с эндотелием. К ним относятся селективные антагонисты синтеза тромбоксана A2 и рецепторов тромбоксана A2, блокаторы рецепторов серотонина, гирудин, тиклопидин.

Таблица 130.

Изменения тромбоцитов, связанные с гестозом по сравнению со здоровыми беременными.

Факторы	Изменения при гестозе по сравнению с нормальной беременностью	Комментарий
Циркулирующие тромбоциты концентрация объем время жизни	снижена повышен снижено	Зависит от длительности и тяжести гестоза Юные, крупные тромбоциты
Активация тромбоцитов <i>in vivo</i> β -тромбоглобулин экскреция клеточных молекул адгезии тромбоксан A2	повышен (в сыворотке) повышена повышение метаболитов в моче	Связано с дегрануляцией Повышение экскреции анти-P-селектина Генерация тромбоксана также активирует тромбоциты
Агрегация тромбоцитов <i>in vitro</i>	снижена по сравнению с нормальной беременностью	Снижен ответ на АДФ, арахидоновую кислоту, вазопрессин и адреналин

Изменения в системе свертывания при гестозе по сравнению с нормальной беременностью.

Фактор	Изменения при гестозе	Комментарий
Потребление фактора VIII	Повышено	Как в результате непосредственного потребления фактора, так и в результате высвобождения связанного с фактором VIII антигена из поврежденных эндотелиоцитов
Фибриноген	N или незначительно повышен	Оборот фибриногена повышен при гестозе
Фибринопептиды А и В	Повышены	
Антитромбин III	Снижен	Зависит от тяжести гестоза, снижение связано с инфарктами плаценты, перинатальной заболеваемостью и смертностью, материнской заболеваемостью
Комплексы тромбин-анти-тромбин III	Повышены	Маркер активации коагуляции и потребления ингибиторов свертывания
Протеин С	Снижен	
Протеин S	Снижен	
Плазминоген	Снижен	
Продукты деградации фибрина/фибриногена Д-димер	N или повышены	Зависит от тяжести гестоза

Весьма перспективными для профилактики и лечения гестоза будут и тромбоцит-специфические доноры оксида азота. По предварительным данным отмечается значительное дозо-зависимое снижение АД и резистентности почечных артерий у беременных с гестозом средней тяжести при применении S-нитрозоглутатиона. При этом активность тромбоцитов также снижается.

Активация нейтрофилов также играет важную роль в патогенезе гестозов. Достоверно известно, что уровень маркеров активации нейтрофилов (эластаза, лактоферрин) выше у беременных с гестозом. Активация нейтрофилов опосредует связь между оксидативным стрессом в плаценте и в материнской сосудистой системе. Нейтрофилы, активирующиеся в процессе окислительного стресса, проникая в интервиллезное пространство, способны генерировать свободные радикалы на эндотелиальной поверхности.

Микрочастицы плацентарной мембраны

Существует мнение, что циркулирующие микрочастицы синцитиотрофобласта могут служить токсическим фактором для эндотелия. Частицы синцитиотрофобласта *in vitro* повреждают функцию эндотелиальных клеток. Кроме того, мембраны микроворсин синцитиотрофобласта способны вызывать ультраструктурное повреждение эндотелиальных клеток и нарушение тонуса в изолированной

артерии человека. Было обнаружено, что концентрация частиц микроворсинчатых мембран в крови выше у беременных с гестозом.

Тяжелые металлы как возможные токсины эндотелиальных клеток

В последнее время появились сообщения о возможной роли комплексов тяжелых металлов с металл-связывающими протеинами как токсических факторов сыворотки в патогенезе гестозов. Во время беременности, например, происходит мобилизация металлотионин-связанного кадмия в сыворотке крови. В условиях эксперимента проявления кадмиевой интоксикации полностью идентичны проявлениям гестоза (т.е. гипертензия, протеинурия, отек и эндовакулит).

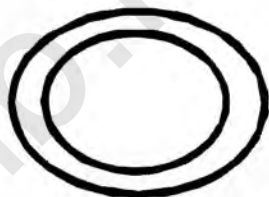
Таким образом, согласно последним данным, в патогенез гестоза вовлечены множество факторов плазмы, которые способны активировать эндотелиальные клетки или вызывать их дисфункцию. Весьма вероятно, что циркуляция этих факторов в плазме опосредована плацентой (рис. 131).



ПЛАЦЕНТА

аномальная имплантация, гиперплацентоз, нарушение васкуляризации, снижение плацентарной перфузии

фрагменты микроворсинчатых мембран, ET-1, TNF- α , hPL, ОХЛНП, перекиси липидов.



МАТЕРИНСКИЙ КРОВОТОК

повышение простагландинов cFN, VCAM-1, тромбомодулин PDGF.

Нарушение имплантации, гиперплацентоз и/или нарушенная васкуляризация плацентарного ложа ведут к функциональному снижению плацентарной перфузии. В ответ на ишемическое и/или гипоксическое состояние плацента секретирует или высвобождает в материнский кровоток факторы, которые прямо или косвенно вызывают дисфункцию эндотелиальных клеток. Возможно, такими факторами являются: фрагменты мембран микроворсинок, эндотелин — 1 (ET — 1), тумор — некротический фактор — α (TNF- α), человеческий плацентарный лактоген (hPL), окисленные ЛНП (ox ЛНП), ЛОНП и перекиси липидов. Системная активация материнского сосудистого эндотелия ведет к повышенной секреции вазопрессоров, прокоагулянтов, молекул адгезии клеток и факторов роста и проницаемости (простагландины [PG], фибронектин [cFN], молекулы адгезии сосудистых клеток — 1 [VCAM — 1], тромбомодулин, тромбоцитарный фактор роста [PDGF]).

Рис. 131. Возможная модель патогенеза гестоза.

Возможно, играет роль совместное действие иницирующих процессов (например, относительная ишемия плаценты, секреция цитокинов, эмболизация мембран синцитиотрофобласта) и материнские факторы (например, генетическая предрасположенность, антиоксидантные резервы, гиперхолестеринемия и циркуляция липопротеинов).

Только полное понимание этиологии и патогенеза гестоза позволит разработать эффективную терапию и профилактику этого синдрома.

Этиология гестозов остается неизвестной. Однако представления о патогенезе его существенно расширились за последние годы. Во многом этому способствовало изучение роли патологии гемостаза при данном патологическом процессе. Это касается эндотелиальных повреждений, предшествующих коагуляционным нарушениям и инициирующих их, изменений функций тромбоцитов, изменений метаболизма липидов; а также иммунологических и генетических факторов. Среди последних следует особое внимание обратить на достаточно высокую частоту генетических форм тромбофилии, особенно мутацию С677Т метилентетрагидрофолатредуктазы, провоцирующих нарушения сосудистой стенки, тромбозы и гестозы. Среди других генетических дефектов следует отметить мутацию фактора V Leiden, которая также сопровождается дисфункцией эндотелия, состоянием резистентности к активированному протеину С (естественному антикоагулянту) и, как следствие, тромбозами и довольно часто гестозами. В настоящее время интенсивно изучаются другие возможные генетические дефекты, предрасполагающие к развитию гестоза. Так, генетически обусловленный изначально высокий уровень TNF- α может также быть предрасполагающим фактором развития гестоза.

Интенсивно изучается и роль иммуногенетических факторов и главного комплекса гистосовместимости человека, а, следовательно, и «генетически запрограммированного» гестоза.

Несмотря на то, что клинические проявления гестозов известны с античных времен, патофизиология этого синдрома даже к концу второго тысячелетия остается во многом загадкой. Только после появления критических дедуктивных принципов в науке, начиная с середины XIX века, стала развиваться научная концепция клеточной патологии. В середине XIX века протеинурию считали «предшественником пуэрпериальных судорог», тем самым была обозначена предсудорожная фаза эклампсии, или преэклампсия. В начале XX столетия появился термин «токсемия», который отражал существующее в то время мнение, что синдром связан с «аутоинтоксикацией» вредными веществами, накапливающимися в материнском организме. С появлением сфигмоманометра было установлено, что гестоз и эклампсия сопровождаются гипертензией. Роль плаценты в этиологии этих расстройств стала обсуждаться после обнаружения множественных плацентарных инфарктов при гестозе и эклампсии, что послужило причиной исследования токсических продуктов распада плаценты, в частности, тромбопластина.

Интенсивное изучение роли синдрома ДВС при гестозе было начато с 1953 г после опубликования работ F.W. Page (1953) и D. McKay et al. (1953), которые были посвящены выяснению роли распространенного фибринирования в патогенезе эклампсии — тяжелейшего осложнения гестозов. В то время авторы высказывали предположение, что диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови является основной причиной симптомокомплексов, возникающих при эклампсии. При патологоанатомическом исследовании женщин, умерших от эклампсии, в микрососудах почек и головного мозга были обнаружены фибриновые тромбы.

В последующие два десятилетия данному аспекту эклампсии уделяли мало внимания. По-видимому, это было обусловлено тем, что патогенез тяжелых форм гестоза до последнего времени не связывали с расстройствами системы гемостаза, так как к последним относили лишь явные геморрагические диатезы, которые сравнительно редко при преэклампсии и эклампсии. Известно, что при нефропатии беремённых клиническую симптоматику обуславливает в основном гипоксия жизненно важных органов. Не преуменьшая роли генерализованного спазма артериол в возникновении гипоксии, следует особо отметить значение образования тромбоцитарно-фибриновых микросвертков в сосудистом ложе капиллярно-трофических структур. Обратимый характер нарушений микроциркуляции существенно зависит от распространенности и дальнейшей эволюции микротромбов.

Важность повреждения капиллярно — трофических структур объясняется тем, что трофическая функция данных структур состоит в обеспечении оптимальной среды для нормального функционирования органов и тканей. Таким образом, нарушения транскапиллярного обмена являются следствием нарастающей блокады микроциркуляции.

С учетом этих изменений становится понятным происхождение органных повреждений при тяжелых формах гестоза. Наибольший интерес представляют изменения в жизненно важных органах. По данным патологоанатомического исследования больных, погибших от эклампсии, одним из наиболее частых повреждаемых органов является печень, в синусоидах которой обнаруживают большое количество фибриновых микротромбов и кровоизлияния под фиброзной оболочкой. Характерны увеличение объема печени, некротические изменения паренхимы, коагуляционный некроз периферии органа, надрывы серозной капсулы, малокровие сосудов.

При тяжелых формах гестозов нарушается гемостатическая функция почек. Установлено, что при эклампсии происходит окклюзия гломерул, их приводящих и отводящих артерий фибриновыми свертками, набухание эндотелиальных клеток вплоть до обструкции просвета.

Электронно-микроскопические исследования показывают, что в протоплазме эндотелия наблюдаются вакуолизация и образование электронно-плотных частиц. Иммунофлюоресцентным методом установлена идентичность электронно-плотных участков цитоплазмы новообразованными нитями фибрина. Отмечено, что часто поражаются прекапиллярные артериолы почек; в них наблюдается тромбоз с последующим кровоизлиянием. В корковом веществе почек также обнаруживаются мелкоклеточные кровоизлияния. Кроме того, присутствие в крови высокомолекулярных полимеров белковой природы может приводить к феномену серозного воспаления, являющемуся основой дальнейших морфологических изменений тканей. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что инфузия РКМФ и ПДФ даже в условиях гепаринизации вызывает окклюзию почечных гломерул этими комплексами. Такие нарушения приводят к изменению фильтрации, реабсорбции и секреции веществ почкой, что является одной из причин дальнейшего развития кардинальных симптомов нефропатии беременных.

Двусторонний некроз коры почек, осложняющий иногда течение тяжелых форм нефропатии, является классическим морфологическим подтверждением существования синдрома ДВС при данном патологическом процессе.

При морфологическом исследовании легких умерших больных с тяжелой формой гестоза микротромбы в сосудистом русле обнаружены не всеми авторами. Так, отрицают микротромбоз капилляров легкого как характерную морфологическую картину эклампсии беременных и родильниц. Однако результаты сканирования легких свидетельствуют о возможности обструкции капилляров легкого микротромбами.

Теоретические данные о ДВС в значительной мере стимулировали всестороннее исследование микроциркуляции у больных с тяжелыми формами нефропатии. Значительные изменения в них были найдены в микрососудах мозга. Описано частое возникновение тромбоцитарных фибриновых смешанных микротромбов, сочетающихся с паренхиматозными кровоизлияниями в мозговое вещество, инфарктным размягчением мягкой мозговой оболочки и иногда внутрижелудочковыми кровоизлияниями. Эти изменения позволяют объяснить развитие клинических симптомов, характерных для эклампсии: приступов судорог, явлений «менингизма», мозговой комы и внезапную смерть. Отмечено сравнительно частое поражение передней доли гипофиза у больных, умерших от эклампсии. Морфологически в тканях гипофиза обнаруживают тромбоз сосудов, отечность, участки кровоизлияний на периферии железы и другие изменения.

Одной из характерных особенностей изменений плаценты у больных с тяжелыми формами гестоза беременных являются ишемический, тромботический и склеротический процесс.

Активирование процессов внутрисосудистого свертывания крови, имеющее место при тяжелых формах гестозов при наличии интервиллезного пространства огромной площади (11—15 м²), очень сложной конфигурации, малого объема (150 см³), а также прерывистого кровотока в пространстве, покрытом активно функционирующим синцитиотрофобластом, служит основной причиной интервиллезного тромбоза.

Фибриноидный материал происходит из тромбов, образующихся в материнском кровотоке. Синцитиотрофобласт при этом играет роль сосудистого эндотелия; в месте малейшего повреждения целостности синцитиотрофобласта происходит тромбирование. Клетки синцитиотрофобласта отличаются от клеток сосудистого эндотелия отсутствием активатора профибринолиза, что затрудняет лизис тромбов. Тромбоз может происходить и при неповрежденном синцитиотрофобласте в результате гиперкоагуляции и стаза крови. При этом в синцитиотрофобласте наступают вторичные ишемические дегенеративные изменения.

При электронной микроскопии установлена и другая принципиальная возможность появления фибриноидного материала в межворсинчатых пространствах — первоначальное возникновение фибриноидных нитей в клетках цитотрофобласта. Однако роль интервиллезного тромбоза в развитии гипоксии плода при нефропатии беременных требует дальнейшего изучения.

Морфологические особенности плаценты женщин, страдающих нефропатией, характеризуются гиперплазией цитотрофобласта, утолщением цитотрофобластической мембраны и рассматриваются как результат гипоксии и ишемии органа, обусловленных спазмом и тромбозом сосудов. В плацентах женщин, у которых беременность протекала с гипертоническим синдромом, чаще выявляется облитерирующий эндартериит плодовых сосудов ворсин.

Большой специфичностью отличаются морфологические изменения маточных сосудов — частей спиральных артерий матки, не подвергающихся влиянию трофобласта. Считается, что гиперпластический артериосклероз маточных частей спиральных артерий патогномоничен для эссенциальной гипертонии, а острый атероз — для гестоза. В дальнейшем происходит острый фибриноидный некроз сосудистой стенки с лимфоцитарной и моноцитарной инфильтрацией стенки поврежденной артерии, обструкция просвета сосуда тромбом, некротическими массами, отечными стенками. Эти изменения вместе с гиперплазией цитотрофобласта, облитерирующим эндартериитом плодовых сосудов ворсин с последующим фиброзом ворсин, избыточным образованием синцитиальных узлов и резко выраженным фибриноидным некрозом ворсин составляют комплекс морфологических изменений плаценты при нефропатии. Следует отметить, что истинные инфаркты плаценты встречаются в 2 раза, а ретроплацентарная гематома — в 8 раз чаще, чем при нормальной беременности.

Таким образом, морфологические изменения почек, печени, легких, мозга, плаценты у женщин, страдающих гестозом и эклампсией, напоминают изменения в органах при кровотечении, септическом шоке и являются морфологическим субстратом синдрома ДВС.

Среди гемостазиологических признаков синдрома ДВС при преэклампсии и эклампсии важное место занимает микроангиопатическая анемия, обнаруженная впервые при коагулопатиях во время беременности. Причины, вызывающие это состояние, разнообразны. Общим при этом является патологический процесс, характеризующийся наличием фибриновых свертков в артериолах, капиллярах и венах. Предполагается, что в основе микроангиопатического гемолиза лежит механическое разрушение эритроцитов в частично или полностью закупоренных терминальных сосудах. Было обращено внимание на одновременное образование фибриновых свертков, повышение содержания свободного гемоглобина, гемолиза, анизо- и пойкилоцитоза эритроцитов и повышение содержания ПДФ при синдроме ДВС. Следует подчеркнуть, что микроангиопатический гемолиз является следствием синдрома ДВС.

Характерными гемостазиологическими симптомами синдрома являются тромбоцитопения и изменение содержания некоторых дериватов фибриногена (фибрина) в крови. К ним относятся мономеры фибрина, образующиеся под действием тромбина на фибриноген, а также ПДФ, возникающие при воздействии плазмينا на фибриноген и фибрин и Д-димер.

По мере увеличения тяжести гестоза повышается потенциал свертывания крови. Это выражается в нарастающей гиперфибриногемии у больных с водянкой и нефропатией, повышении концентрации маркеров тромбинемии — комплексов ТАТ, фрагментов протромбина F1+2. Одновременно повышается активность плазменных факторов свертывания крови, на что указывает укорочение АЧТВ, характеризующего активность факторов «внутреннего» пути свертывания крови (I, II, V, VII, IX, X, XI, XII), а также калликреин-кининовой системы. Аналогичные закономерности отмечены при определении АВР, характеризующего внутренний путь свертывания крови и активного фактора 3 тромбоцитов. Наряду с активацией прокоагулянтного звена системы гемостаза происходит уменьшение содержания антитромбина III, характеризующего общий антикоагулянтный потенциал крови, секреция протеина С.

Уменьшение содержания плазминогена по мере нарастания патологического процесса свидетельствует о постепенном истощении запасов эндогенного плазминогена. Оценка общей свертываемости на тромбоэластографе показала уменьшение параметра «г+k» тромбоэластограммы, характеризующего скорость свертывания крови, включая контактную фазу активации процесса тромбопластина, тромбина и фибринообразования. По мере нарастания тяжести нефропатии беременных усиливаются структурные свойства сгустка крови, о чем свидетельствует увеличение параметров «ma» и ИТП тромбоэластограммы.

При оценке результатов тестов для определения РКМФ и ПДФ обнаружено достоверное повышение частоты их отклонения от нормы у больных с нефропатией. Выявление РКМФ в крови прямо указывает на наличие патологически активного тромбина и синдрома ДВС. ПДФ и Д-димер также указывают на наличие синдрома ДВС.

Уровень Д-димера является хорошим предиктором нарастания тяжести течения гестоза. Интересно также наблюдение, что существует положительная корреляция между диастолическим давлением и уровнем Д-димера и обратная связь между уровнем Д-димера и весом новорожденных.

По данным Voffa et al. и нашим (неопубликованным) данным у пациенток с гестозом также наблюдается увеличение в плазме уровня растворимого тромбомодулина, что является маркером эндотелиального повреждения и дисфункции естественных антикоагулянтных механизмов.

Изучение функциональных свойств тромбоцитов беременных с гестозом показало, что изменения адгезивно-агрегационных свойств кровяных пластинок предшествуют вовлечению прокоагулянтного звена системы гемостаза в процесс развития синдрома ДВС (см. ниже). Это наблюдается, в частности, у больных с водянкой беременных, у которых при повышении агрегационных свойств тромбоцитов, как правило, не выявляются достоверные изменения плазменных факторов свертывания крови. По мере нарастания тяжести гестоза происходит одновременная активация тромбоцитарного и прокоагулянтного звеньев системы гемостаза. При крайней степени выраженности гестоза (у больных с эклампсией) активация прокоагулянтного и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза настолько выражена (как по масштабам, так и по тяжести), что приводит к гипокоагуляции и гипоагрегации в периферической крови. Показатели системы гемостаза характеризуются падением уровня фибриногена, тромбоцитов, удлинением АЧТВ и АВР, увеличением параметра «г+k» тромбоэластограммы, резким снижением активности антитромбина III и протеина С и значительным повышением дериватов фибриногена и фибрина (РКМФ, ПДФ, Д-димер).

Описанная гемостазиологическая картина указывает на развитие коагулопатии потребления. Помимо последней, у больных с эклампсией обнаружена тром-

боцитопатия потребления. Это положение было подтверждено нами при проведении пробы переноса на агрегометре по способу, разработанному А.Д. Макацария и А.Я. Смоляницким (1979), а также результатами радиоиммунологического исследования тромбоцитарного звена (β -тромбоглобулин).

У всех больных с гестозом выявлена микроангиопатическая гемолитическая анемия, признаком которой является повышение свободного гемоглобина плазмы. Сущность данного феномена заключается в отложении в микрососудах нитей фибрина, которые могут нарушать струю эритроцитов и препятствовать прохождению последних по капиллярам. Происходящее при этом ускоренное разрушение эритроцитов приводит к насыщению плазмы свободным гемоглобином и билирубином.

При изучении особенностей конъюнктивальной микроциркуляции у больных с водянойкой беременных отмечается стазированный и шунтированный кровоток с единичными или множественными шунтами. Внутрисосудистые агрегаты определяются в капиллярах и венах.

В группе больных с легкой формой нефропатии определяется стазированный кровоток, либо кровоток с множественными шунтами. Замедление кровотока наблюдалось как в венах, так и в капиллярах и артериолах. Характерны фрагментация и стазирование кровотока. В капиллярах, венах и артериолах отмечаются внутрисосудистые агрегаты эритроцитов. Возможно нарушение перфузии концевых капилляров. Редуцированный капиллярный кровоток на этих участках характеризуется значительным увеличением количества функционирующих артериоло-веноулярных шунтов и преобладанием непитающего кровотока.

У больных с нефропатией средней тяжести отличительной особенностью конъюнктивальной микроциркуляции является наличие стазированного и шунтирующего кровотока с множественными шунтами. У всех больных в той или иной степени выражена внутрисосудистая агрегация эритроцитов с единичными и множественными микротромбами. По нашим данным, у 40% больных обнаружено частичное и у 20% полное нарушение перфузии концевых капилляров на значительном протяжении. На этих участках преобладает непитающий кровоток.

У больных с тяжелой формой нефропатии при исследовании сосудов бульбарной конъюнктивы в артериолах, венах и капиллярах обнаружено большое количество агрегатов из эритроцитов, которые часто приводят к закупорке суженных артериол. При этом ток крови становится едва видимым, а ткани над измененными артериолами — отечными. Значительно замедляется кровоток в венах и капиллярах.

Таким образом, гемостазиологическая картина степени выраженности синдрома ДВС находится в полном соответствии с данными, выявленными с помощью биомикроскопии сосудов бульбарной конъюнктивы. Обнаруженные нарушения кровотока, появление артериовенозных шунтов, внутрисосудистых агрегатов эритроцитов, микротромбов, снижение перфузии капилляров, нарушение перфузии концевых капилляров, периваскулярный отек, участки геморрагии являются как бы прижизненными морфологическими признаками синдрома ДВС.

При определении важнейших показателей у новорожденных, матери которых страдали нефропатией в форме средней тяжести и тяжелой, выявлена активация системы гемостаза и текущего синдрома ДВС. Об этом свидетельствует высокий уровень ПДФ (более 20 мкг/мл), сочетающийся с гиперфибриногенемией (более 35 г/л) и снижением концентрации антитромбина III в плазме (ниже 45%). Важнейшей причиной данного явления является, вероятно, микротромбоз спиральных артерий.

Исследования убедительно показали, что у больных с гестозом сразу же после появления первых признаков его происходит постоянная активация тромбоцитарного и прокоагулянтного звеньев системы гемостаза с развитием исподволь хронически текущего синдрома ДВС. Длительное течение синдрома ДВС у больных, вероятно, является одной из главных причин интервиллезного тромбоза, нарушения маточно-плацентарного кровотока и возникновения фетоплацентарной недостаточности.

Таким образом, анализ литературы и собственные исследования свидетельствуют о том, что у больных с тяжелыми формами гестоза происходят выраженные нарушения в системе гемостаза, укладывающиеся в классическую картину синдрома ДВС. Сопоставление клинических и морфологических признаков заболевания с гемостазиологическими позволяет утверждать, что в патогенезе гипоксических проявлений тяжелой формы гестоза синдрому ДВС принадлежит важное место.

Тромбофилия в структуре гестоза. Принципы профилактики и лечения

С начала 90-х годов прошлого столетия, открытие антифосфолипидного синдрома (АФС), мутаций FV Leiden, PtG20210A, дефицита MTHFR (генетически обусловленная гипергомоцистеинемия) позволило пересмотреть взгляды на патогенетические механизмы, наиболее грозных осложнений в акушерстве, одним из которых является гестоз. Следует отметить, что циркуляция антифосфолипидных антител (АФА) и скрытые, генетически обусловленные тромбофилии не только predisposing к возникновению макротромбозов, но и являются важнейшим триггером повреждения эндотелия, снижения противотромботического потенциала, нарушения регуляции тонуса сосудистой стенки, определяющих состояние микроциркуляции. С позиции эффектов свойственных тромбофилии, объясняются нарушения nidации плодного яйца, инвазии трофобласта и плацентации, рассматриваемые в настоящее время, как одна из важнейших причин последующего развития гестозов и невынашивания беременности. Поэтому вполне закономерен интерес к изучению взаимосвязи между наличием АФА и наиболее распространенных форм тромбофилий с гестозами.

Тромбофилии, как генетические, так и приобретенные способствуют развитию эндотелиопатии. При повреждении эндотелия сосудов комплексами антиген-антитело при АФС, гомотеином и продуктами его метаболизма (H_2O_2 , супероксидными и гидроксидными радикалами — оксидативный стресс) уменьшается выработка эндотелиоцитами естественных антикоагулянтов NO с усилением экспрессии прокоагулянтов. В ответ на повреждение, эндотелиоциты усиленно высвобождают индукторы активации, представленные фактором Виллебранда (ФВ), фибронектином и пр., последние способствуют образованию тромбина, фибрина, тромбоцитарных агрегатов. Аггезия тромбоцитов возрастает прямо пропорционально возрастанью уровня ФВ в плазме крови. То есть гликопротеины ФВ и фибронектин являются составляющими компонентами ДВС-синдрома, процесса микро- и макротромбирования сосудов, сопровождающих гестоз.

Dekker et al., обследуя 101 пациенток, перенесших тяжелые формы гестозов у 16% обнаружил снижение APC-R и у 28,4% — антифосфолипидные антитела. В подобном же исследовании Lindoff et al. — у 22%, Krauss et al. — у 19% и Kupfermine et al. — у 26,4% женщин, перенесших HELLP-синдром, обнаружили гетеро/гомозиготную форму мутации FV Leiden. В противоположность этим данным von v. Pampus et al только у 6% пациенток с гестозами обнаружили мутацию FV Leiden, что практически соотносится с распространенностью FV Leiden в общей популяции. Townson et al. выявил мутацию FV Leiden у 8,9% беременных с тяжелым гестозом и у 4,2% нормотензивных беременных. Результаты Grandone et al. также свидетельствуют о повышенной частоте обнаружения FV Leiden у беременных с гестозом, по сравнению со здоровыми беременными (10,5% вместо 2,3%).

Сравнимые результаты получены von Rai et al. Авторы исследовали группу из 120 женщин с внутриутробной гибелью плода во II триместре: у 20% выявлена APC-R, при этом у 12% — одновременно и циркуляция АФА. Brenner et al. описали 2 случая HELLP-синдрома у беременных с мутацией FV Leiden. При этом результаты большинства имеющихся на сегодняшний день исследований указывают на положительную корреляционную связь между FV Leiden и тяжелым гестозом/HELLP-синдромом, а также антенатальной гибелью плода во II триместре.

Мутация протромбина G20210A, как уже указывалось, встречается у 2% населения в общей популяции, и у 6% пациентов с ТГВ. Что касается частоты этой мутации у пациенток с гестозом, следует отметить, что исследований в мире еще недостаточно много. Так, по данным Grandone et al. эта частота составляет 14,1%, по данным Kupfermine et al. — 5,8%. Согласно нашим данным мутация PtG20210A обнаруживается у 2% беременных с гестозом, о чем более подробно будет изложено ниже.

Роль мутаций метилентетрагидрофолатредуктазы и гипергомоцистеинемии в настоящее время широко исследуется не только в патогенезе атеросклероза и окклюзионных заболеваний сосудов, но и в патогенезе основных акушерских осложнений. Полиморфизм гена MTHFR C677T является одной из наиболее частых причин гипергомоцистеинемии, нарушением естественной антикоагулянтной функции эндотелия и как окклюзионных, так и основных акушерских осложнений.

Dekker et al. обнаружили у 18% беременных с ранним тяжелым гестозом гипергомоцистеинемию. При этом следует отметить, что при физиологическом течении гестационного процесса уровень гомоцистеина в плазме снижается. Это, по-видимому, одна из приспособительных реакций организма. Поэтому даже среднее повышение уровня гомоцистеина для беременной может обернуться осложнениями — от тяжело-го гестоза до внутриутробной гибели плода и тромбофилических осложнений.

Молекулярно-генетические исследования von Grandone et al. и Kupfermine et al. выявили повышение уровня гомоцистеина в плазме соответственно у 29,8% и 20,5% пациенток с гестозом, в то время как в контрольных группах здоровых беременных частота гипергомоцистеинемии колебалась от 8% до 18,6%.

Согласно нашим данным мутация MTHFR C677T наиболее часто (по сравнению с другими мутациями) обнаруживается у беременных с гестозом. По-видимому, это обусловлено еще и наличием, помимо генетически обусловленной предрасположенности к гипергомоцистеинемии, приобретенных факторов (несбалансированное питание и, соответственно, дефицит фолатов, витаминов группы В, высокая морбидность и, в первую очередь, экстрагенитальная патология, злоупотребление алкоголем, курение и пр.), также способствующих повышению уровня гомоцистеина.

Безусловно, дополнительным аггравирующим обстоятельством является сочетание нескольких генетических дефектов, предрасполагающих к тромбофилии и/или сочетание генетической и приобретенной тромбофилии.

Если роль АФС как причины привычного невынашивания беременности не вызвала сомнений, то гестозы как клиническое проявление АФС лишь недавно были включены в определение термина «антифосфолипидный синдром».

Учитывая гистологические проявления повреждений плаценты при АФС (участки инфарктов, острый атероз, интралюминальный тромбоз спиральных артерий) и нарушения инвазии трофобласта, неполноценной плацентации и перфузии плаценты в гестозе, роль АФС в возникновении гестозов представляется весьма значимой. Клинические исследования также подтверждают более высокую частоту развития гестозов у беременных с циркуляцией АФА.

По данным Backos et al. и Lima et al. гестоз развивается у 17%—18% беременных с циркуляцией АФА, при этом задержка внутриутробного развития плода имеет место у 22%. Lynch et al. и Out et al. обнаружили связь между высоким титром АФА и частотой развития гестоза.

Крайне интересны первые результаты исследований взаимосвязи между уровнем гомоцистеина и АФА. По данным Carreras et al. гипергомоцистеинемия чаще встречается у беременных с АФА (в отсутствие мутации MTHFR), чем в контрольной группе здоровых беременных. Тем не менее, подобные данные немногочисленны и нуждаются в подтверждении в дальнейших исследованиях.

В свете последнего консенсуса относительно классификации КАФС (принятого на 10-м Международном конгрессе по антифосфолипидным антителам) можно утверждать, что тяжелые формы гестоза с полиорганной недостаточностью, в том числе и некоторые формы HELLP-синдрома у пациенток с циркуляцией АФА

представляют собой не что иное, как КАФС. Вследствие недостаточной лабораторной диагностики АФА эти случаи не всегда своевременно и правильно расцениваются, что объясняет и кажущуюся «экзотичность» КАФС.

Ниже мы описываем один из клинических случаев КАФС у беременной с гестозом.

Клинический пример

Пациентка З., 24 года, беременность 27–28 недель поступила 25.03.02. в родильный дом в связи с тяжелым гестозом, который сопровождался повышением АД до 160/110 мм. рт. ст., протеинурией 0,099 г/л, выраженными отеками. В анамнезе I беременность в 2000г закончилась самопроизвольным поздним выкидышем. Данная беременность II. При осмотре зрение ясное, дыхание не затруднено, голова не болит. Шевеление плода активное, предлежит головка. Сердцебиение ясное, ритмичное, 140 уд/мин. При ультрасонографии и доплерометрии маточно-плацентарного, плодово-плацентарного кровотоков выявлена задержка развития плода на 2 недели, нарушение маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровотоков. На основании проведенных исследований поставлен диагноз: «Беременность 27–28 недель. Головное предлежание. Преэклампсия. Анасарка. Фето-плацентарная недостаточность, компенсированная форма. Отягощенный акушерский анамнез». До начала какой-либо терапии через 1 час после госпитализации произошел приступ эклампсии. АД 190/110 мм рт. ст., Ps 110 уд/мин, частота дыхания — 24 в минуту.

Беременная переведена в отделение интенсивной терапии, где была начата подготовка к экстренному родоразрешению. Проведена инфузионная терапия свежезамороженной плазмой, гипотензивная и магниезиальная терапия.

В 19 ч 45 мин 25.03. произведена операция малого кесарева сечения. Под эндотрахеальным наркозом извлечена глубоко недоношенная девочка массой 980г, длиной 24 см. Кровопотеря составила 700,0 мл.

Учитывая тяжесть состояния, продолжена искусственная вентиляция легких в режиме гипервентиляции. Продолжалась инфузионная терапия, включая свежезамороженную плазму, антиагрегантная, гипотензивная, кортикостероидная, утеротоническая терапия, начата антибактериальная терапия.

За первые сутки введено в/в 3600 мл жидкости, из них белковых растворов — 1200,0 мл; мочи выделено — 2270,0 мл. 26.03. в 22 ч переведена на самостоятельное дыхание. Протеинурия в 6 ч 00 мин — 0,66 г/л, почасовой диурез 50–70 мл/час, АД 130/80; 140/80 мм рт. ст.

С 20 ч 00 мин 27.03. отмечены нарастающие симптомы дыхательной недостаточности, в легких — влажные хрипы, появились признаки почечной недостаточности, печеночной недостаточности, нарушения сознания, парез кишечника.

В связи с полиорганной недостаточностью был проведен плазмаферез, назначена антикоагулянтная терапия фраксипарином 5600 МЕ в сутки, ИВЛ.

Исследования гемостаза: LA — положительный, APA IgGM (STAGO) 148GPL, фибриноген 6,5 г/л, Д-димер 5,8 мг/мл, АЧТВ — 52 сек.

30.03. — состояние тяжелое, проводится ИВЛ. АД 130/80; 110/70, Ps 90–100 уд/мин, ритм синусовый, центральное венозное давление 400мл водного столба. Диурез 2555,0 мл, введено 1200,0, из них белков 1000,0 мл.

На 5-е сутки — самостоятельное дыхание, больная пришла в сознание, показатели гемодинамики стабилизировались. Больная контактна, адекватна, очаговой неврологической симптоматики нет, диурез удовлетворительный, проведена экстубация трахеи.

31.03. — состояние тяжелое, стабильное с положительной динамикой. Продолжалась интенсивная терапия, включая антикоагулянты, препараты, улучшающие мозговое кровообращение, ноотропы.

01.04.02. состояние стабильное, средней тяжести. АД 130/80, 150/80, Ps 80–90 уд/мин, диурез адекватный.

Клинический анализ крови: Hb 68 г/л, Ht — 20, СОЭ — 60, количество тромбоцитов 156 тыс/мкл.

AЧТВ — 37 сек, фибриноген 2,44 г/л, Д-димер 3 мг/мл, уровень APA IgGM — 87 GPL, ВА-положительный.

Продолжена антикоагулянтная терапия фраксипарином (5600 МЕ), ноотропами, аспирином 100 мг в сутки, антигипертензивная терапия (нифедипин), седативная терапия.

12.04. женщина выписана домой в удовлетворительном состоянии с рекомендацией продолжить реабилитационную терапию фраксипарином в течение 3 месяцев, аспирином, ноотропами.

Заключение: у беременных с тяжелыми формами гестоза абсолютно необходимо исследование с целью выявления АФА для своевременного начала патогенетической терапии (свежезамороженная плазма, антикоагулянты, антиагреганты) и профилактики катастрофического АФС: чем раньше начата терапия, тем благоприятнее исход.

В данном случае наличие в анамнезе позднего выкидыша + гестоз во II беременности уже являлись клиническим показанием для выявления АФА.

В последние 2 года в литературе появились описания «нетипичного» HELLP-синдрома у беременных с АФС. Так, Pauzner et al. (2002) сообщили о «нетипичном» и раннем HELLP-синдроме у 4 беременных, который развился на фоне циркуляции АФА и сопровождался инфарктом печени и внутриутробной гибелью плода. Если иметь в виду не только тромботический характер инфарктов печени, но и инфаркты плаценты (вплоть до «шоковой матки») у беременных с АФС и HELLP-синдромом, то данные состояния отвечают критериям КАФС, так как, по крайней мере, имеет место тромботическое поражение функции, по меньшей мере, двух органов — печени и плаценты.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о высокой частоте генетической и приобретенной формы тромбофилии в возникновении гестозов.

Ретроспективно с целью изучения роли тромбофилии в структуре гестозов нами были обследованы 98 женщин. Контрольные группы составили 50 и 47 беременных с неотягощенным течением гестационного процесса и легкой формой гестоза, соответственно. Методом ПЦР-диагностики в этой группе обнаружена мутация MTHFR у 45 (45%) — из них гомозиготная форма 20 (20%), гетерозиготная форма 24 (24%), FV Leiden у 13 (13%) — из них гомозиготная форма 4 (4%) и гетерозиготная форма 9 (9%), суммарно генетические дефекты гемостаза в первой группе — 59 (60%), комбинированные генетические дефекты составили 15 (15%), генетические дефекты в сочетании с АФС 69 (70%). Особенность течения беременности в данной группе выражалась ранним началом и тяжелым течением гестоза. Данные гемостазиограммы, ретроспективно отражали ДВС-синдром. В этой группе у 44 (45%) — прерывание беременности по поводу тяжелого гестоза с 22 до 34 недель, 14 (14%) — ПОНРП при доношенной беременности, 6 (6%) — осложнились эклампсией, 28 (28%) — мертвый плод. Проспективно обследовано 49 женщин: мутация MTHFR выявлена у 21 (43%) беременных — из них 9 (8%) гомозиготная форма и 12 (24%) гетерозиготная форма, FV мутация Leiden у 5 (11%) — гомозиготная форма 2 (5%) и гетерозиготная форма 3 (6%), мутация PtG20210A у 3 (6%), в сумме генетические дефекты составили 29 (59%), комбинированные генетические дефекты 8 (18%), изолированно АФС у 7 (7%) и генетические дефекты при сочетании с АФС 33 (67%). Из проспективной группы у 2-х (4%) беременных с гомозиготной формой FV мутации Leiden произведено прерывание беременности по поводу тяжелого гестоза на сроке 30—34 недели, гестоз у 1 (2%) беременной с гомозиготной формой MTHFR и АФС осложнился эклампсией на 35 неделе — ребенок жив, у 1 (2%) — беременной с гетерозиготной формой MTHFR-ПОНРП при доношенной беременности, ребенок жив, 1 (2%) — гетерозиготная форма мутации FV Leiden. Итак, из 147 беременных с гестозом, мутация MTHFR состави-

ла 65 (44%), FV мутация Leiden — 20 (13%), мутация Pt G20210A — 3 (2%), всего — генетические дефекты — 88 (60%), комбинированные генетические дефекты — 23 (15%), АФС — 18 (12%).

В контрольной группе, с неотягощенным течением гестационного процесса гетерозиготная форма мутации MTHFR составила 3 (7%), FV мутация Leiden, так же гетерозиготная форма — 1 (3%); в группе с легкой степенью тяжести гестоза мутация MTHFR выявлена у 4 (9%), FV Leiden — 1 (3%) (рис. 132). Всего генетические дефекты в контрольных группах составили 4 (8%) и 5 (11%), соответственно, т. е. процент генетических форм тромбофилий у женщин с неотягощенным течением беременности и легкой степенью тяжести гестоза приблизительно одинаков.

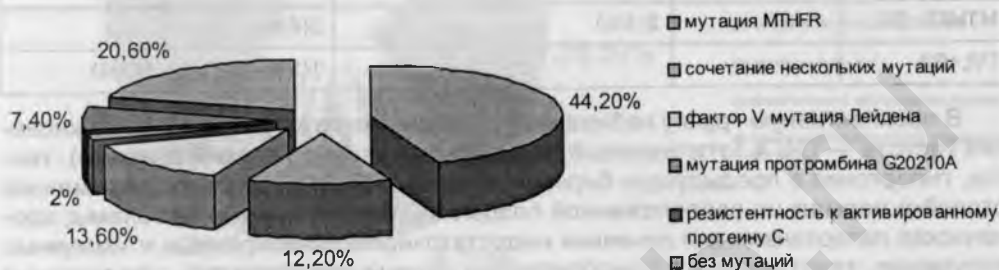


Рис. 132. Структура тромбофилии у беременных с тяжелыми гестозами в ретроспективной и проспективной группах (n=147).

Взаимосвязь тромбофилий и акушерских осложнений в ретроспективно обследованной группе представлена в таблице 132.

Таблица 132.

Генетически обусловленная тромбофилия.

	Тяж.гестоз	ПОНРП	Прерыв. бер в связи с т.гестозом	Гестоз и невынаш.	Тромбозы
Тромбофилии (n=98) Ретроспективная группа					
APC-R	35(35%)	5(5%)	24(24%)	22(22%)	5(5%)
FV Leiden	13(13%)	3(3%)	9(9%)	12(12%)	3(3%)
MTHFR	44(44%)	2(2%)	39(39%)	28(28%)	2(2%)
Гипергомоцистеинемия	46(46%)	9(9%)	42(42%)	39(39%)	3(3%)
АФС	11(11%)			5(5%)	
Комбин. ген.деф.	15(15%)		10(10%)	7(7%)	1(1%)
MTHFR+BA	2(2%)	7(7%)	2(2%)	2(2%)	
FV L+BA	7(7%)	2(2%)	5(5%)	3(3%)	1(1%)
Тромбофилии (n=49) Проспективная группа					
APC-R	4(8%)		2(4%)	6(12%)	2(4%)
FV Leiden	1(2%)		1(2%)		
MTHFR	1(2%)			11(22%)	

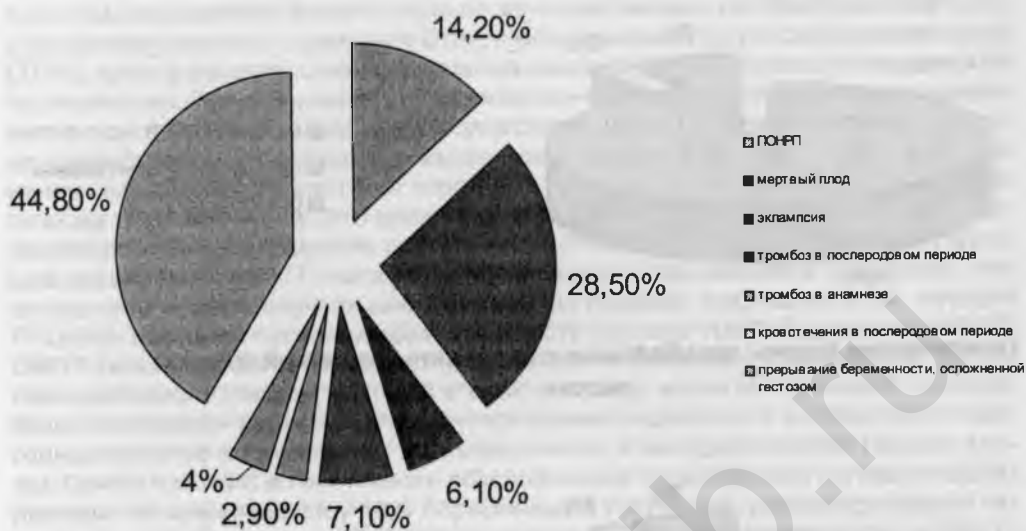
	Тяж.гестоз	ПОНРП	Прерыв. бер в связи с т.гестозом	Гестоз и невынаш.	Тромбозы
Гипергомо- цистеинемия				15(31%)	
АФС				1(2%)	
Комбин. ген.деф.	3(6%)		2(4%)	4(8%)	1(2%)
MTHFR+BA		2(4%)		3(6%)	
FVL+BA				1(2%)	1(2%)

В проспективную группу набирались женщины по группам риска возникновения гестоза — ОАГА (отягощенный акушерско-гинекологический анамнез): гестоз, гипертония в предыдущую беременность, ЗВРП, ПОНРП (преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты), перинатальные проблемы; хроническая гипертония или почечная недостаточность, эндокринные и иммунные нарушения, генетические и приобретенные формы тромбофилий, отягощенный семейный акушерский анамнез: гестозы, эклампсия по материнской линии. Анализ акушерского анамнеза в обеих группах продемонстрировал высокую частоту осложнений беременности (рис. 133). Исследование системы гемостаза проводилось так же и до беременности. Определение маркеров ДВС-синдрома (ТАТ, F1+2, Д-димера) вне беременности, с учетом анамнестических данных являлось показанием для проведения исследования на генетические формы тромбофилий: FVLeiden, PtG20210A, MTHFR677T (рис. 134).

Предпочтение в терапии отдавалось НМГ-фраксипарину, не требующему постоянного контроля. Однако применение НМГ требовало, как и любой антикоагулянтной терапии, оценки его эффективности, и помимо клинической картины нами исследовались маркеры тромбофилии. Отсутствие их повышения и снижения уровня, свидетельствовало о положительном влиянии НМГ. Количественный контроль тромбоцитов проводился до и после терапии, с целью своевременной диагностики гепарин-индуцированной тромбоцитопении (ГИТ2). В ряде случаев, как правило, при сочетанных формах тромбофилий, когда тромбогенный потенциал исходно был высоким, доза НМГ -фраксипарина повышалась. В наших исследованиях она колеблется в пределах 0,3—0,6 мл/сут и лишь в одном случае у женщины с синдромом потери плода, эпизодом илеофemorального тромбоза и двух инсультов в анамнезе доза НМГ достигла 1 мл/сут (250Е/ICU /кг).

В проспективно (n=49) обследованной и контрольных группах (n=50; n=47) определялось количественное содержание ФВ и фибронектина (ФН) в плазме крови. Индукторы активации внутрисосудистого свертывания крови, представленные ФВ и фибронектином, в контрольной группе с неотягощенным течением беременности повышались с увеличением срока гестации в физиологических пределах. Средний уровень антигена ФВ составил 181,6%, значения его колебались от 110 до 265%. Содержание фибронектина плазмы составило в среднем 213,6+/-6,8 мг/л. Таким образом, содержание таких белков, как фактор Виллебранда и фибронектин повышается прогрессивно в плазме во время физиологической беременности, достигая максимальных значений к концу третьего триместра. В проспективной и контрольной группе с легкой степенью тяжести гестозов, уровень плазменных белков был повышен, до назначения лечения, после которого приближался к норме. Среднее значение ристоминикофакторной активности фактора Виллебранда составило 249,2+/-5,1 и коле-

А) Акушерский анамнез в ретроспективной группе (n=98)



Б) Акушерский анамнез в проспективной группе (n=49)

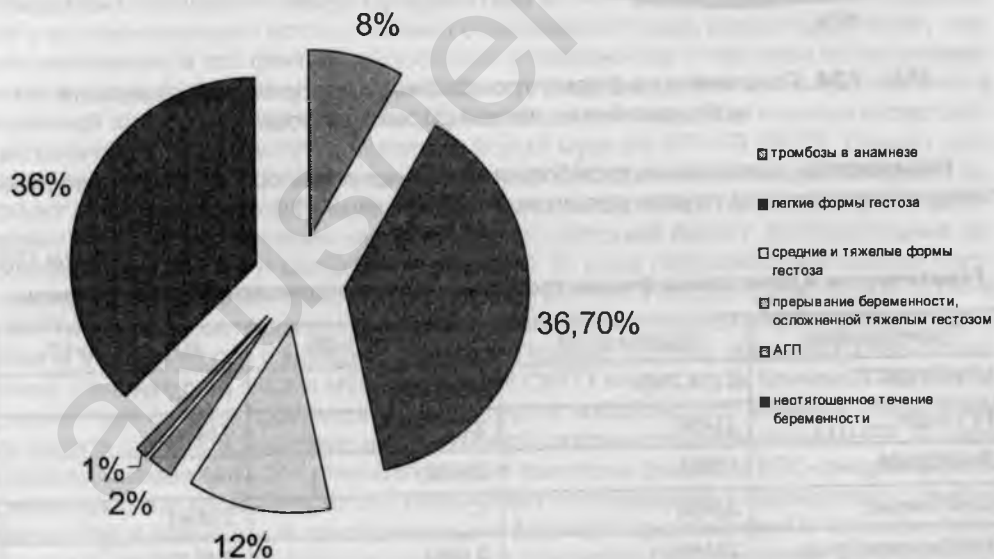
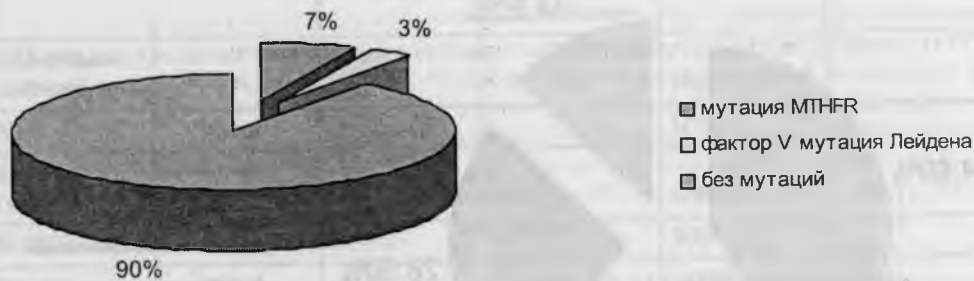


Рис. 133.

балось от 160 до 390%. Среднее значение антигена ФВ составило $306,8 \pm 5,5$ и колебалось в пределах 184—428%. Значения ФН у беременных с гестозом колебалось от 234 до 472%. Т.е. выявлено значительное увеличение как уровня плазменного фибронектина, так и ристомицин-кофакторной активности ФВ и антигена ФВ у беременных с гестозом, по сравнению с группой здоровых беременных женщин.

Генетические формы тромбофилии у здоровых беременных



Генетические формы тромбофилии у беременных с легкой формой гестоза

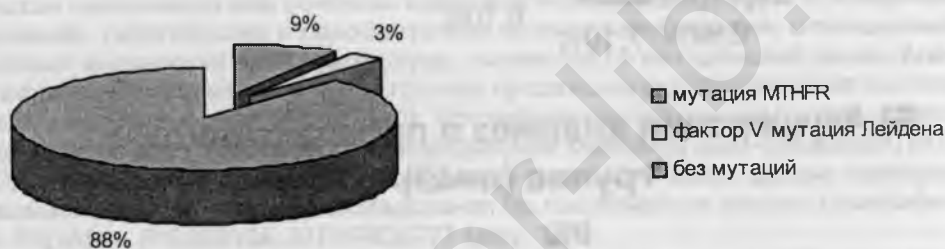


Рис. 134. Генетические формы тромбофилии у здоровых беременных и беременных с легкой формой гестоза.

Взаимосвязь выявленных тромбофилий и акушерских осложнений в проспективно обследованной группе представлена в таблице 133.

Таблица 133.

Генетические и сочетанные формы тромбофилий в проспективном исследовании.

Тромбофилии	I группа n=19	II группа n=20	III группа n=10
MTHFR C677T	7 (14,2%)	8 (16,3%)	6 (12,2%)
FV Leiden	2 (4%)	3 (6,1%)	2 (4%)
Pt G20210A	1(2%)	2 (4%)	—
Сочетанные	2 (4%)	—	2 (4%)
Комбинированные	2 (4%)	2 (4%)	3 (6,1%)

Результаты проведенной работы позволяют обсуждать весьма важную роль как приобретенных, так и генетически обусловленных форм тромбофилии в патогенезе гестозов. В настоящее время уже не вызывает сомнений, что будучи самой распространенной причиной тромбофилии и тромботических осложнений, АФС является фактором риска не только синдрома потери плода, но и развития гестоза. В нашем исследовании циркуляция АФА обнаруживалась у 10% беременных с гестозом и невынашиванием в проспективном исследовании и у

16% — в ретроспективном. Патогенез эндотелиопатии, как одной из основных причин возникновения гестоза, в результате циркуляции АФА включает, в первую очередь, снижение естественной противотромботической активности эндотелия, при этом нарушается высвобождение ее естественных ингибиторов свертывания и антиагрегантов — протеина С, ингибитора внешнего пути свертывания крови (TFPI), простациклина, снижается гликозаминогликан-зависимая активация АТIII на эндотелии. Наличие, кроме того, иммуно-обусловленной активации тромбоцитов еще более может усугублять существующую тромбофилию и дополнительно способствовать прогрессированию повреждения эндотелия. Риск возникновения гестозов возрастает при сочетании приобретенной тромбофилии с генетически обусловленной. Это вполне объяснимо, если учесть, что наиболее распространенные генетические дефекты гемостаза, как мутации FV Leiden и мутация гена MTHFR C677T, также сопровождается повреждением эндотелия, что определяет в таких случаях многофакторную природу эндотелиопатии: мутация FV Leiden вызывает состояние резистентности фактора V(APC-R), мутации MTHFR C677T (в особенности гомозиготные формы) сопровождается повышением уровня гомоцистеина в плазме, который в свою очередь, является причиной «оксидативного стресса» и как следствие повреждения эндотелия с истощением эндогенных запасов естественных антикоагулянтов и вазодилаторов (закиси азота). Сочетание АФС и генетически обусловленной тромбофилии согласно нашим данным, обнаруживается у 10% беременных с гестозами, комбинированные генетические дефекты — у 15%. Изолированные генетические дефекты у 59% (у 44% — MTHFR C677T, у 13% — FV Leiden, у 2% — PtG20210A). Обращает на себя внимание высокая частота MTHFR C677T у беременных с гестозами — 44%, в то время как в контрольных группах здоровых беременных и беременных с легкими формами гестоза эта мутация обнаруживается соответственно у 7% и 9%. О существовании взаимосвязи между мутацией гена MTHFR C677T, гипергомоцистеинемией и возникновением гестоза, помимо обнаруженной нами корреляции, может свидетельствовать и тот факт, что морфологи у беременных с гестозом обнаруживают атероз сосудов, в то же время известно, что гипергомоцистеинемия также является причиной атероза и атеросклероза. Причиной легкой и средней степени гипергомоцистеинемии, является гетерозиготная форма мутации MTHFR C677T. Однако если одновременно присутствуют и приобретенные факторы гипергомоцистеинемии (дефицит витаминов группы В, в том числе фолиевая кислота в результате несбалансированного питания, почечная недостаточность, сахарный диабет, воспалительные заболевания кишечника и мальабсорбция и пр.), то даже гетерозиготные формы могут сопровождаться развитием тяжелых форм гестоза. Гомозиготная форма MTHFR C677T обуславливает преждевременное поражение сосудистой стенки, развитие атероза и атеросклероза в молодом возрасте. Помимо гестоза, привычного невынашивания гомозиготная форма мутации MTHFR C677T может стать причиной нежелезодефицитной анемии и дефекта нервной трубки эмбриона, что является следствием дефицита фолата вследствие недостаточной активности фермента MTHFR. В свою очередь, анемия является дополнительным фактором развития ДВС-синдрома у беременных с гестозом. Результаты клинических исследований у беременных с генетически обусловленными и приобретенными формами тромбофилии и гестозом показывает высокую частоту обнаруженных у них признаков ДВС-синдрома, который отражал степень тяжести гестоза. Почти при одинаковом соотношении доли генетических дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу в проспективной и ретроспективной группах (59 и 60% соответственно), течение и исходы беременности достоверно различаются. Это указывает как на роль патологии гемостаза и, в частности, генетически обусловленной и приобретенной тромбофилии в возникновении гестозов и других форм акушерской патологии (в ретроспективной группе), так и на роль патогенетически оправданной профилактики и терапии гестозов (в проспективной группе). Прежде всего, об этом свидетельствует сравнение степени тяжести гестоз-

зов (больше в ретроспективной группе, где отсутствовала патогенетическая профилактика) и мертворождений (в ретроспективной группе — 28% и 2% — в проспективной).

В свете последних данных о роли тромбофилии, сосудистых и внутрисосудистых расстройств в патогенезе гестоза, с нашей точки зрения существуют определенные резервы в профилактике и терапии гестозов. Учитывая исключительную роль эндотелиопатий в патогенезе гестозов желательна проводить терапию. При этом следует выделять группу риска развития гестозов, в которых необходимо проведение исследования с целью выявления генетических и приобретенных тромбофилий, в первую очередь MTHFR, FV Leiden и АФА.

В группу риска развития гестозов следует включать беременных с:

- отягощенным акушерским анамнезом (гестоз, гипертония в предыдущую беременность, задержка развития плода, отслойка плаценты, перinataльные проблемы);
- аномальными данными доплеровского исследования маточно-плацентарного кровотока при сроке от 18 до 24 недель, индекс резистентности $> 0,58$;
- повышением чувствительности к ангиотензину II с 28 недели; хронической гипертензией или почечной недостаточностью; инсулин-зависимым диабетом; АФС;
- генетическими формами тромбофилии: FV мутация Leiden, мутация Pт G20210A, MTHFR C677T;
- нарушениями обмена веществ, в том числе жирового обмена, гиперхолестеринемией, а так же приобретенной гипергомоцистеинемией в результате дефицита витаминов группы В;
- многоплодной беременностью; отягощенным семейным акушерским анамнезом (гестозы, эклампсия по материнской линии).

Успех профилактики и терапии гестозов, легкой, средней степени тяжести зависит от своевременного начатого лечения, с учетом известных механизмов патогенеза.

Учитывая одну из основополагающих теорий возникновения гестоза вследствие недостаточной инвазии трофобласта и неполноценной плацентации, необходимо, по возможности, обеспечить полноценную инвазию трофобласта и плацентацию. А поскольку эти процессы во многом зависят от гормонального статуса, состояния эндотелия, а также состояния системы гемостаза, важны своевременная коррекция гормональных нарушений, лечения воспалительных заболеваний и гемостазиологических нарушений еще до наступления беременности. Так, например, назначение антикоагулянтной и/или антиагрегантной терапии у женщин с генетическими формами тромбофилии или с АФС уже в фертильном цикле, согласно нашим данным улучшает прогноз во время беременности.

Согласно нашим данным, назначение низкомолекулярного гепарина фраксипарина при легких формах гестоза уже через 10 дней устраняло признаки активации внутрисосудистого свертывания крови и улучшало маточно-плацентарный кровоток. Учитывая, что гестоз характеризуется вазоспазмом, дисфункцией эндотелиальных клеток и активацией внутрисосудистого свертывания крови, вполне логично назначение антитромботических средств. В мировой практике существует опыт применения низких доз аспирина (50—81 мг/день). В таких дозах аспирин эффективно ингибирует синтез тромбоцитами тромбоксана А2 с минимальным эффектом на синтез простаглицлина. Кроме того, было обнаружено, что низкие дозы аспирина снижают чувствительность к ангиотензину II во время беременности. Таким образом, профилактическое применение антитромботических препаратов у беременных с высоким риском развития гестоза патогенетически оправдано. Если же учесть, что уже разработаны и совершенствуются тесты для доклинической диагностики гестозов (маркеры повреждения эндотелия, как тромбомодулин, клеточный фибронектин и пр.), это открывает широкие возможности для своевременной терапии начинающегося гестоза.

В настоящее время разрабатываются новые антитромботические препараты, более эффективные и безопасные для матери и плода, чем предыдущие поколения.

ния. Так, НМГ фраксипарин, который мы применяли у беременных с легкой и средней тяжестью гестозами помимо антикоагулянтного, проявлял и антиагрегантные эффекты. Появились новые антиагреганты, селективно воздействующие на отдельные тромбоцитарные рецепторы, как, например тиклопидин и пр., которые, по данным ряда исследований более эффективны и безопасны по сравнению с аспирином.

В целях профилактики гестоза традиционно назначают бессолевую диету. Ответственно у женщин с хронической гипертензией, риск развития гестоза у которых высок, необходимо использовать антигипертензивные препараты. В то же время, назначение диуретиков вместе с бессолевой диетой во время беременности в большинстве случаев (по данным 9 рандомизированных трайлов, охвативших более чем 7000 женщин, получавших диуретики во время беременности) снижает риск возникновения отеков и гипертензии во время беременности, но не гестоза. Кроме того, диуретики могут усугублять течение ДВС-синдрома при гестозе.

Разнообразные пищевые добавки, как рыбий жир, эйкозапентаеновая кислота, которые ингибируют продукцию тромбоцитами тромбоксана А₂, по последним данным, тем не менее, не снижают риск развития гестоза. Как показали большие Европейские мультицентровые трайлы, частота возникновения гестоза у беременных, получавших рыбий жир и оливковое масло, практически одинаково.

Несмотря на противоречивые результаты применения антиоксидантов у беременных с гестозом, наши исследования свидетельствуют, что применение антиоксидантов наряду с базисной терапией низкомолекулярным гепарином в фертильном цикле и с ранних сроков беременности позволяет оптимизировать ведение беременных с высоким риском развития гестоза. Так, назначение антиоксиданта нового поколения — микрогидрина (2 капсулы в сутки) — позволило значительно снизить уровень маркеров тромбофилии у беременных с циркуляцией АФА и ранними признаками гестоза. Применение же микрогидрина у беременных в группах высокого риска с ранних сроков позволило предотвратить развитие тяжелых форм гестоза.

Вероятно, неэффективность антиоксидантов в ряде случаев связана:

А) с поздним началом применения антиоксидантов, когда гестоз уже развился и «порочный» круг уже сформировался;

Б) типом применяемых антиоксидантов;

В) неоправданные надежды как на «терапевтическое» средство.

В случае наличия генетических предпосылок тромбофилии или АФС антиоксиданты могут лишь оптимизировать терапию, в особенности при состояниях, сопровождающихся оксидативным стрессом. Кроме того, они эффективны в качестве профилактического средства и, с нашей точки зрения, должны назначаться всем беременным наряду с витаминами для беременных.

Список литературы

1. Аббаси Хайсам. Значение дородового выявления различных форм патологических изменений в системе гемостаза для предупреждения тромбоземболических осложнений в акушерской практике. // Дисс...канд. мед. наук. — М., 1995, — 12 с.
2. Адамова Л.Р. Клиническое значение исследований системы гемостаза у беременных с гестозами. // Автореф. дисс...канд.мед.наук. — М., 1992. — 25 с.
3. Александров Б.Д. Исследование системы гемостаза и обоснование противотромботической терапии низкомолекулярным гепарином (Фраксипарином) у беременных с гестозом. // Автореф. дисс...канд.мед.наук., М., 2000, — 22 с.
4. Аляутдина О.С. Клиническое значение оценки адаптивных изменений системы гемостаза при беременности, родах и послеродовом периоде. // Автореф. дисс... канд.мед.наук — М., 1998. — 20 с.
5. Ариас Ф. Беременность и роды высокого риска: Пер. с англ. — М.: Медицина, 1989. — С. 338—346.

6. Баймурадова С.М. Особенности течения и ведения беременности с гестозами и генетическими формами тромбофилии. // Дис. ... канд. мед. наук, 2002 г. — 143 с.
7. Баймурадова С.М., Бицадзе В.О., Маров С.В., Матвеева Т.В., Аляутдина О.С., Патрушев Л.И., Макацария А.Д. Роль антифосфолипидного синдрома и генетических форм тромбофилии в патогенезе гестозов у беременных. // Тромбоз, гемостаз, реология, 2002. — №4. — с. 69—74.
8. Балуда В.П. Внутрисосудистое свертывание крови — компонент патогенеза различных заболеваний. // Патол. физиол. и экспер. терапия. — 1977. — вып. 2. — с. 3—13.
9. Балуда В.П., Балуда М.В., Деянов Н.И., Тлепщук И.К. Физиология системы гемостаза. — М.: Медицина, 1995. — 243 с.
10. Баркаган З.С. Очерки антитромботической профилактики и терапии. М., 2000. — 141 с.
11. Баркаган З.С., Цывкина Л.П., Матаев А.Н., Цеймах И.Я. Предварительные данные о частоте тромбофилии, обусловленной резистентностью к активированному протеину С, в российской популяции региона Сибири. // III Всерос. Конф. «Тромбозы и геморрагии, ДВС-синдром. Проблемы и лечение», Москва, 1997. — с. 16—17.
12. Бицадзе В.О., Макацария А.Д. Патофизиологическое обоснование и возможности применения низкомолекулярных гепаринов в акушерской практике. // Акуш. и гинек. — 1999. — №3 — С. 37—40.
13. Брагинская С.Г. Принципы ведения беременности, родов, и послеродового периода у больных с врожденными и наследственными дефектами гемостаза. // Автореф. дисс... канд. мед. наук., М, 1990. — 22 с.
14. Валленберг Х.С. Профилактика преэклампсии: возможно ли это? // Акуш. и гинекол., 1998. — № 5 — с. 52—54.
15. Громыко Г.А. Роль антифосфолипидного синдрома в развитии акушерских осложнений (обзор литературы). // Проблемы репродукции, 1997. — №4. — С. 13—17.
16. Ельцова-Стрелкова Л.И., Мищенко А.Л., Шенгелая М.Г. Состояние системы гемостаза при физиологическом течении беременности, родов и послеродового периода. // Акуш. и гин., 1987. — № 12. — 3—5 с.
17. Калашникова Л.А. Нарушение мозгового кровообращения и другие неврологические проявления антифосфолипидного синдрома. // Жур. Неврологии и Психиатрии им. Корсакова. — 1997. — т. 97, № 10, с. 63 —73.
18. Капанадзе М.Ю. Принципы дифференцированной профилактики тромбоэмболических осложнений после операции кесарево сечение в группах высокого риска. // Дисс ... канд.мед.наук.. — М., 1998, 156 с.
19. Кошелева Н.М. Системная красная волчанка и беременность. Мониторинг активности заболевания и антифосфолипидного синдрома. // Дисс. ... канд. мед. наук. — М., 1994. — 177 с.
20. Линников В. И. Состояние системы гемостаза при физиологически протекающем гестационном процессе: // Автореф. ... дис. канд. мед. наук. — М., 1982. — 24 с.
21. Ломая П. В. Клиническое значение динамического контроля за системой гемостаза у больных с неразвивающейся беременностью I—II триместрах. Автореф. ... дисс. канд. мед. наук. — М., 1987. — 22 с.
22. Макаров О.В., Озолина Л.А. Венозные тромбозы в акушерстве и гинекологии. — М. 1998. — 43—55 с.

23. Макацария А.Д. Тромбофилии и беременность. // Росс. вестник ассоциации акуш.-гинеколог. — 1994. — № 1. — С. 76—85.
24. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Вопросы патогенеза тромбофилии и тромбозов у больных с антифосфолипидным синдромом. // Акушерство и гинекология, №2, 1999, с. 13—17.
25. Макацария А.Д., Бицадзе В.О., Гениевская М.Г., Долгушина Н.В. Роль антифосфолипидного синдрома в акушерской практике. // Материалы научного форума «Новые технологии в акушерстве и гинекологии». 1999г.
26. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. — М., 2001. — 499—544 с.
27. Маннучи П.М. Клинические проявления наследственных тромбофилий. // Вестн.Рос.АМН, 1997. — № 1 — с. 29—31.
28. Мачабели М.С. Коагулопатические синдромы. // М., Медицина, 1970. — 304 с.
29. Мухитдинова Т.К. Патогенез и профилактика коагулопатических кровотечений в родах. // Автореф. дисс... докт. мед. наук, 1992. — 43 с.
30. Накимова З.А. Этиология, клиника, система гемостаза и лечение послеперинатальных септических заболеваний. // Автореф. дисс. канд. мед. наук. — М., 1986. — 23 с.
31. Просвирякова И.Г. Ведение беременности, родов и послеродового периода у женщин с тромботическими осложнениями в анамнезе. // Автореф. дисс... канд. мед. наук. — М., 1988. — 23 с.
32. Савельева Г.М. Гемореология в акушерстве. — М.: Медицина, 1986. — 222 с.
33. Серов В. П., Маркин С.А., Лубнин А.Ю. Эклампсия. — М.: Москва, 2002.
34. Серов В.Н., Макацария А.Д. Тромботические и геморрагические осложнения в акушерстве. — М.: Медицина, 1987. — 288 с.
35. Серов В.Н., Стрижаков А.Н., Маркин С.А.. Руководство по практическому акушерству. — М., 1997. — 106—150 с.
36. Сидорова И.С. Поздний гестоз. М., 1996. — 201 с.
37. Сидорова И.С., Макаров И.О. Фетоплацентарная недостаточность. Клинико-диагностические аспекты. — М., 2000. 9—15 с.
38. Стрижаков А.Н. и др. Избранные лекции по акушерству и гинекологии. — М., 1996. 50—66 с.
39. Сухих Г.Т., Пономарева И.В., Городничева Т.А. Валько Л.В. Спектр антифосфолипидных антител у беременных с гестозом. // Акуш.и гинеколог. — 1998. — №5 — с. 22—26.
40. Шифман Е.М. Преэклампсия, эклампсия, HELLP-синдром.— М.: Петрозаводск, 2002.
41. Яковлев В.М., Новиков А.И.. Сосудистый эндотелий и хламидийная инфекция. — М., 2000. — 59—66 с.
42. Dekker G.A., Sibai B.M. Etiology and pathophysiology of preeclampsia: current concepts. AJOG Review. // Am. J. Obstet. Gynecol., 1998; 179: 1359—1375.
43. Dekker G.A., van Geijn H.P.. Endothelial dysfunction in preeclampsia. Part i: Primary prevention. Therapeutic perspectives. // J. Perinat. Med., 1996; 24: 99—117.
44. Dizon-Townson D.S., Nelson L.M., Easton K., Ward K. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe pre-eclampsia. // Am. J. Obstet. Gynecol., 1996; 75: 902—905.
45. Grandone E., Margaglione M., Colaizzo D., et al. Factor V Leiden, C → T MTHFR polymorphism and genetic susceptibility to pre-eclampsia. // Thromb. Haemost., 1997; 77: 1052—1054.

46. Halligan A., Bonnar J., Sheppard B., Darling M., Walshe J. Haemostatic, fibrinolytic, and endothelial variables in normal pregnancies and preeclampsia. // *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 1994; 01: 488—492.
47. Kupferminc M.J., Fait G., Many A., Gordon D., Eldor A., Lessing J.B. Severe pre-eclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. // *Obstet. Gynecol.* 2000; 96: 45—49.
48. Leeda M., Riyazi N., de Vries J.I., Jakobs C., van Geijn H.P., Dekker G.A. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1998; 79: 135—134.
49. Lindoff C., Ingemarsson I., Martinsson G., Segelmark M., Thysell H., Astedt B. Pre-eclampsia is associated with reduced response to activated protein C. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1997; 176: 457—460.
50. McKay D.G. DIG: an intermediary mechanism of disease. // New York: Harper-Hoeber, 1965: 493.
51. McKay D.G. Intravascular coagulation acute and chronic, disseminated and local. // *Proc. Inst. Med. Chic.*, 1972; 29: 159.
52. Mello G., Parretti E., Martini E. et al. Usefulness of screening for congenital or acquired hemostatic abnormalities in women with previous complicated pregnancies. // *Haemostasis*, 1999; 29: 197—203.
53. Nagy B., Toth T., Rigo J.J.R., Karadi I., Romics L., Papp Z. Detection of factor V Leiden in severe preeclamptic Hungarian women. // *Clin. Genet.*, 1998; 53: 47—81.
54. O'Shaughnessy K.M., Fu B., Ferraro F., Lewis I., Downing S., Morris N.H. Factor V Leiden and thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase gene variants in an East Anglian pre-eclampsia cohort. // *Hypertension*, 1999; 33: 1338—1341.
55. Powers R.W., Minich L.A., Lykins D.L., Ness R.B., Crombleholme W.R., Roberts J.M. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, folate, and susceptibility to pre-eclampsia. // *Soc. Gynecol. Invest.*, 1999; 6: 74—79.
56. Rajah S.B., Moodley J., Pudifin D., Duursma J. Anticardiolipin antibodies in hypertensive emergencies. // *Clin. Exp. Hipertens. Pregnancy*, 1990; B9: 267—271.
57. Rajkovic A., Catlano P.M., Malinow M.R. Elevated homocysteine levels with pre-eclampsia. // *Obstet. Gynecol.*, 1997; 90: 168—171.
58. Rigo J.Jr., Nagy B., Fintor L., et al. Maternal and neonatal outcome of preeclamptic pregnancies: the potential roles of factor V Leiden mutation and 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase. // *Hypertens. Pregnancy*, 2000; 9: 163—172.
59. Roberts J.M., Taylor R.N., Musici T.J., Rodgers G.M., Hubel C.A., McLaughlin M.K. Pre-eclampsia: an endothelial cell disorder. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1989; 161: 1200—1204.
60. Salafia C.M., Pezzulo J.C., Lopez-Zeno J.A., Minior V.K., Vintzileos A.M. Placental pathologic features of preterm pre-eclampsia. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1995; 173: 1079—1105.
61. Sohda S., Arinami T., Hamada H.M., Yamada N., Hamaguchi H., Kubo T. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and pre-eclampsia. // *J. Med. Genet.*, 1997; 34: 525—526.

Глава XXIII.

Преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты и тромбофилии

Роль тромбофилии в этиопатогенезе

Несмотря на то, что до конца XVI века не было единого представления о происхождении кровотечений у беременных и рожениц, опасность их для матери и плода была уже тогда очевидна.

Об угрожающих жизни кровотечениях, зависящих от преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты в результате травмы или рвоты, упоминался еще в 1634 году. В 1694 году Reu описывал полную или частичную отслойку последа «до выхождения младенца» и видел ее причины в травме живота. В 1728 году Maugiseau подробно описал клиническую картину преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты и сопутствующих ей осложнений. Тогда же были даны рекомендации по врачебной тактике, из которых наиболее рациональным он считал быстрое опорожнение матки. Для быстрого родоразрешения при ПОНРП предлагали проводить пальцевое расширение шейки матки, амниотомию с последующим внутренним поворотом плода и извлечением его за ножку. Однако отсутствие четких представлений о причинах родовых кровотечений приводило к тому, что нередко предлагались нерациональные методы лечения, например, тампонада влагалища. И только в 1775 году E. Rigby четко дифференцировал отслойку нормально расположенной плаценты от ее предлежания. Он же указал и на 2 типа ПОНРП, отличающихся по клинической картине и требующих различной терапии.

Edward Rigby родился в Ланкашире (Англия) 27 декабря 1747 г. В 14 лет его определили на обучение к хирургу Martineau, затем он продолжил медицинское образование в Лондоне, в Гейдельберге учился акушерству у знаменитого германского акушера Негеле. В возрасте 25 лет он опубликовал свое эссе «Маточные кровотечения».

В 1796 году известный французский акушер Boudeloeque дал классическое описание ПОНРП. Как указывает Гентер, «он первый с большой ясностью установил два вида маточного кровотечения — одно наружное, другое скрытое, внутреннее». Boudeloeque был сторонником форсированного родоразрешения, которое видел в расширении шейки матки, повороте плода на ножку, а при фиксированной головке — наложении акушерских щипцов. Однако, не все его современники признавали возможность только внутреннего кровотечения. Такой взгляд, например, не разделяли акушерки Voivin и Lachapelle, которые считали невозможным отделение последа до рождения ребенка.

Неоспоримые доказательства возможности чисто внутреннего кровотечения были представлены в 1832 году Delaaforterie, который тотчас после смерти роженицы произвел кесарево сечение и убедился, что между плацентой и стенкой матки имелась гематома. Ему удалось извлечь даже живого ребенка, так как отслойка плаценты была частичной и по краю она оставалась прикрепленной.

В 1880 г. Braxton-Hicks обобщил данные литературы о 13 случаях ПОНРП, а в 1870 году Goodell посвятил этой теме большую работу, охватившую 106 случаев. Эта работа, как считает Г.Г.Гентер, послужила основой для всех его последующих исследований.

Родиной учения о ПОНРП является Франция, где изучением этой грозной патологии занимались крупнейшие акушеры того времени. Лишь во второй половине XIX века этим вопросом стали заниматься в других странах.

Если клиника ПОНРП была подробно описана уже в 19 веке, то в начале 20 века внимание ученых сосредоточилось на вопросах этиологии этого заболевания. Winter (1885) у 70% больных установил связь ПОНРП с заболеванием почек, а Hofmeier (1904) — у 57%.

По мнению А.А.Шевалдышева (1908), Р.В.Кипарского (1912), заболевания почек приводят к нарушению питания эндометрия и дегенеративным изменениям отпадающей оболочки, что способствует отслойке плаценты. Г.Г.Гентер (1913), О.И.Китнер (1916), Neum (1952) рассматривают ПОНРП как проявление эклампсии. Панков (1929) полагает, что в развитии этой патологии имеют значение те же факторы, что и при токсикозе 2-й половины беременности. Кувелер (1911) впервые выдвинул учение о маточно-плацентарной апоплексии, которая, по его мнению, свидетельствует о токсемии беременных. Представленное им описание матки, имбибированной кровью, стало классическим — «матка Кувелера».

Нельзя не остановиться подробнее на имени этого выдающегося французского врача и ученого, который внес огромный вклад в развитие акушерства. Александр Кувелер родился в Бурге (Франция) в 1873 году в семье профессора. На этапе раннего профессионального становления большое влияние на него оказал выдающийся акушер того времени Варнье, позже он был принят в должность ассистента к Пинарду. У Варнье он почерпнул научные подходы и методики, в то время как у Пинарда — социальные, гуманитарные аспекты здоровья населения.

В 1901 году Кувелер возглавлял Клинику Boudeloeque и руководил ею вплоть до 1 октября 1943 года.

В 1914 году он стал профессором Парижского университета, а несколько позже был избран президентом Общества акушеров и гинекологов Франции.

Помимо его изысканий в проблеме преждевременной отслойки нормально расположенной плаценты, вместе с Марселем Пинардом он открыл специальные отделения для беременных с туберкулезом в акушерской клинике. Особую известность Кувелер приобрел как блестящий хирург. В 1913 году он опубликовал великолепно иллюстрированную книгу «Основы хирургии матки во время беременности», в которой описал свою хирургическую технику в акушерстве. Помимо того, что Кувелер стоял на позиции радикальной хирургии при тотальной преждевременной отслойке нормально расположенной плаценты, он был одним из пионеров, ратовавших за кесарево сечение при некоторых формах предлежания плаценты.

Хотя до Кувелера на аутопсии женщин с преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты также обнаруживались субсерозные экхимозы в матке, Кувелер первым описал катастрофические массивные геморрагии в ткани миометрия, яичников, широких связок, тазовую брюшину в 1911 году у 26-летней первобеременной. У данной пациентки с «токсемией беременных» на 8-м месяце произошло ретроплацентарное кровотечение, и развился шок. Хотя сердцебиение плода уже не прослушивалось, Кувелер произвел операцию кесарева сечения. Он обнаружил тотальную отслойку плаценты, при которой полость матки была заполнена кровью. При этом были обнаружены не только субсерозные геморрагии, но и имбиция кровью миометрия, широких связок и придатков. В связи с этим обстоятельством Кувелер произвел гистерэктомию и двустороннюю сальпингоофорэктомию. Пациентку удалось спасти.

Кувелер подробно описал макропрепарат и дал определение маточно-плацентарной апоплексии: сегодня эти изменения в матке называются «маткой Кувелера».

Исходя из своего опыта, Кувелер дает в своем труде следующие рекомендации:

1. Уже только анатомическое состояние стенки матки может потребовать гистерэктомию.

2. Сохранение репродуктивной функции не должно само по себе быть аргументом в пользу консервативной (органосохраняющей) хирургии.

3. Хирургическое вмешательство должно быть немедленным с максимальным количеством ассистентов с целью обеспечения быстрого и полноценного гемостаза во время и после операции.

В большинстве случаев маточно-плацентарной апоплексии необходим абдоминальный путь родоразрешения: наиболее оправдана операция Порро, которая абсолютным показана в случае инфильтрации стенки матки кровью.

Спустя четыре десятилетия со времени рекомендация Кувелера, благодаря прогрессу в области гемостазиологии и появлению возможности инфузии компонентов крови, взгляды на радикальное оперативное вмешательство претерпели изменения. Однако следует отметить, что в случае «матки Кувелера» рекомендации Кувелера по сей день остаются в силе.

Интересно, что почти 40 лет спустя история открытия и изучения общебиологического неспецифического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС) связана с рядом тяжелых акушерских осложнений и, прежде всего, с ПОНРП.

ПОНРП является классическим акушерским осложнением, при котором развивается острая форма синдрома ДВС с возникновением массивного акушерского кровотечения, циркуляторных расстройств, вплоть до полиорганной недостаточности. Частота ПОНРП по обобщенным данным мировой литературы колеблется в пределах 0,5—1% по отношению ко всем родам.

Впервые описавший массивное акушерское кровотечение при ПОНРП в 1901 г. De Lee называл это состояние «временной гемофилией», поскольку другие причины кровоточивости (особенно приобретенные формы) еще не были открыты.

В 1936 году Dieckmann обратил внимание, что у 25% беременных с ПОНРП имеет место снижение концентрации фибриногена ниже 100 мг/мл и при этом развивается массивное кровотечение.

Jackson и Pitchard в 1955 году обнаружили, что помимо гипофибриногемии у этих беременных развивается тромбоцитопения и отмечается снижение других факторов свертывания крови.

Патогенез гипофибриногемии при ПОНРП впервые был предложен Schneider (1955), Seegers (1952), Weiner (1950) и Page et al (1951). Согласно их гипотезе, основой патофизиологических изменений при ПОНРП было попадание плацентарных тканей в материнский кровоток. То, что плацентарные экстракты обладают тромбопластическими свойствами, было доказано Chargaff (1945). Эта гипотеза объясняла экспериментальные данные Obata, который еще в 1919 году в эксперименте при внутреннем введении экстракта плацентарной ткани обнаружил выраженную гипофибриногемию у всех животных. Характерно, что после ПОНРП в матке обнаруживаются большие количества фибрина (9 г и более), что косвенно подтверждает выраженную гипофибриногемию при ПОНРП.

Факторами, предрасполагающими к отслойке плаценты, являются гестозы, гипертоническая болезнь, заболевания почек, инфекционно-аллергические васкулиты и другие заболевания, протекающие с нарушениями в системе гемостаза, в том числе с хроническими формами ДВС, а также с патологическими изменениями сосудистой стенки. Кроме того, согласно последним исследованиям Brenner et al., которые согласуются и с нашими данными, генетические дефекты гемостаза, предрасполагающие к тромбозам (мутация фактора V Leiden, дефицит АТ III, дефицит протеина С, мутация протромбина и пр.) являются причиной не только тромбозов и тромбоэмболических нарушений, но и ряда акушерских осложнений, в том числе и ПОНРП.

Чаще ПОНРП наблюдается у повторнобеременных, а также в возрасте старше 35 лет. Механическая травма также может содействовать ПОНРП — это прямая травма (удар) матки, неудачный наружный поворот при тазовом предлежании и пр., хотя они являются редкой причиной ПОНРП. Несколько случаев отслойки плаценты опи-

сано в результате спинальной анестезии во втором периоде родов. Характер клинических проявлений и их тяжесть при ПОНРП зависят от степени отслойки.

ПОНРП ассоциируется также с курением, злоупотреблением алкоголем и кокаином. Субмукозные фиброидные узлы также могут стать причиной аномальной плацентации и, если плацента имплантируется проксимально к узлу, риск отслойки плаценты может значительно повышаться. Быстрая декомпрессия матки (особенно перерастянутой вследствие многоплодной беременности, крупного плода или многоводия) может предрасполагать к отслойке плаценты (после разрыва плодного пузыря или рождения первого ребенка из двойни).

В последние годы, как уже указывалось, внимание исследователей сконцентрировано на каузальной роли тромбофилии в возникновении ПОНРП. Если учесть, что тромбофилия способствует неполноценной инвазии трофобласта и дефектам плацентации, то ПОНРП — как следствие тромбофилии (АФС или генетические обусловленной) вполне объяснима.

Весьма интересны обобщенные данные относительно рецидива отслойки плаценты. Частота этих случаев составляет в среднем 15%. Если же у пациентки отслойка была во время 2-х беременностей, риск рецидива возрастает до 25%. Можно предположить, что у женщин с «рецидивирующей ПОНРП» присутствует постоянный фактор, предопределяющий развитие ПОНРП. Таким постоянным фактором, безусловно, может быть генетически обусловленная тромбофилия и/или АФС, который имеет тенденцию к затяжному течению, а потому по своим эффектам может в ряде случаев приравниваться к генетическим формам тромбофилии.

Так, по данным van der Molen et al., которые исследовали аномалии естественных ингибиторов свертывания и метаболизм гомоцистеина в качестве факторов риска плацентарной васкулопатии (отслойка плаценты или инфаркты плаценты), из 101 женщин у 22 также имела место гипертензия во время беременности. Активность протеина С была значительно ниже в исследуемой группе по сравнению с контрольной группой здоровых беременных. Кроме того, значительно чаще выявлялось и мутация МТНFR С677Т и FV Leiden в исследуемой группе. В то же время уровни протеинов S и C, АТ III в двух группах достоверно не отличались. Таким образом, факторы, обуславливающие тромбофилию (гипергомоцистеинемия, APC-R, снижение активности протеина С, мутация МТНFR или комбинированные дефекты).

Wiener-Megnagi et al. обследовали 27 женщин с ПОНРП. У 63% пациенток было выявлено состояние APC-R (APC-отношение меньше или равно 2,5) по сравнению с 17% в контрольной группе. При этом у 29,6% была выявлена мутация FV Leiden, в то время как в контрольной группе у 3,4% (1 пациентка с гетерозиготной мутацией FV Leiden).

Goddjin-Wessel et al. обнаружили гипергомоцистеинемию у 31% женщин с ПОНРП по сравнению с 9% в контрольной группе ($p < 0,05$). Kupferminc et al. у 70% женщин с ПОНРП обнаружили то или иную форму тромбофилии. При этом у 60% были выявлены тромбофилические мутации и у 10% — дефицит АТ-III или АФС.

Нами было обследовано 28 женщин с ПОНРП. Контрольную группу составили 25 соматически здоровых беременных с неотягощенным течением гестационного процесса. Состояние APC-R было выявлено у 25% (в контрольной группе у 14%), при этом изолированная мутация FV Leiden у 14% (в контрольной группе у 3,5%), мутация МТНFR С677Т — у 32% (в контрольной группе у 14%), при этом гипергомоцистеинемия имела место у 7% (в контрольной группе у 3,5%), комбинация МТНFR + ВА была выявлена у 7% (0% в контрольной группе), FV Leiden+ВА — у 3,5% (0% в контрольной группе). Таким образом, среди обследованных женщин с ПОНРП тромбофилия того или иного генеза была выявлена у 67,5%. Следует отметить, что из 28 женщин у 11 ПОНРП произошла на фоне гестоза. В настоящее время исследования по изучению структуры тромбофилии в патогенезе отдельных акушерских осложнений продолжаются.

Выше мы указывали, что риск рецидива ПОНРП достаточно высок. Возникает естественный вопрос: можно ли спровоцировать развитие ПОНРП в следующую

беременность? По сей день эти вопросы оставались без ответа. Однако мы считаем, что в большинстве случаев можно спрогнозировать рецидив ПОНРП, если учесть нашу гипотезу о наличии перманентного фактора, обуславливающего ПОНРП. С нашей точки зрения таким фактором является тромбофилия. Поэтому абсолютно необходимо у женщин с ПОНРП в анамнезе еще на этапе планирования последующей беременности проводить скрининг на наличие генетически обусловленной тромбофилии (в первую очередь, наиболее распространенных мутаций FV Leiden, MTHFR C677T, PtG20210A, полиморфизм гена PAI-1 4g/4g) и АФА. При обнаружении скрытой тромбофилии можно с большой степенью вероятности прогнозировать ПОНРП в последующие беременности: это ответ на первый вопрос.

Ответ на второй вопрос проистекает из первого ответа: при наличии генетической или приобретенной тромбофилии показана антикоагулянтная профилактика в течение всей беременности, что позволяет предупредить не только ПОНРП, но и, согласно нашему опыту, другие осложнения беременности, характерные для тромбофилии (гестоз, привычное невынашивание и пр.). Кроме того, применение противотромботической терапии не только во время беременности, но и в послеродовом периоде, позволяет предотвратить и возможные тромбофилические осложнения.

Хотя часто в качестве антикоагулянта в мире используется гепарин в низких дозах (5 тысяч ЕД в сутки 2 раза) в силу его относительной дешевизны, наши исследования свидетельствуют, что препаратом выбора является НМГ. В ряде случаев (АФС, синдром «липких» тромбоцитов и пр.) может быть необходима дополнительная терапия аспирином (в зависимости от агрегационной активности тромбоцитов).

Что касается терапии произошедшей ПОНРП, то она хорошо описана и подразумевает применение свежезамороженной плазмы (СЗП), как в процессе операции кесарева сечения или (реже) родов вследствие развития острого ДВС-синдрома, так и в послеродовом периоде. В условиях открытой раневой поверхности в процессе операции и клинически некупированного кровотечения антикоагулянты противопоказаны. В то же время при купировании кровотечения и при условии трансфузии СЗП в послеоперационном/послеродовом периоде необходима антикоагулянтная профилактика. Хотя тромбозы и тромбоэмболические осложнения после кесарева сечения в связи с отслойкой не так часты (что мы связываем с интенсивной терапией с использованием СЗП и растворов, улучшающих реологию крови и микроциркуляцию и купированием острого ДВС), тем не менее, риск тромбоэмболизма, в том числе и полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде, присутствует. Если у пациентки имеет место циркуляция АФА, то развитие полиорганной недостаточности в послеоперационном периоде, которую раньше объясняли только синдромом ДВС, может быть обусловлен катастрофической формой АФС. Поэтому мы считаем абсолютно необходимой антикоагулянтную профилактику в течение не менее 10 дней после кесарева сечения в связи с ПОНРП.

Наш опыт использования НМГ Фраксипарина у больных с шоками и шокopodobными состояниями, полиорганной недостаточностью свидетельствует о высочайшей его эффективности в купировании этих симптомов и успешной реабилитации больных.

В заключение хотелось бы еще раз подчеркнуть, что хотя скрининг на генетическую тромбофилию и циркуляцию АФА не всегда и не везде возможен, в идеале все женщины с отягощенным акушерским анамнезом (ПОНРП, синдром потери плода, гестоз) должны его проходить. Только тогда возможен рациональный подход к ведению беременности и успешный ее исход.

Список литературы

1. Beller F.K., Epstein M.D. Traumatic placental abruption. // *Obstet. Gynecol.*, 1966; 27: 484.

2. Bieber G.F. Review of 353 cases of premature separation of the placenta. // *Ant. J. Obstet. Gynecol.*, 1953; 65: 257.
3. Bonnar J. Blood coagulation and fibrinolysis in obstetrics. // *Clin. Lab. Haematol.*, 1973; 2: 213.
4. Bonnar J., Davidson J.F., Pidgeon C.F., et al. FDP in normal and abnormal pregnancy and parturition. // *BMJ*, 1969; 3: 137.
5. Brozman M. Hemorrhagic disorders following amniotic fluid embolism. // *Clin. Obstet. Gynecol.*, 1964; 7: 361.
6. Couvelaire A. Deux nouvelles observation d'apoplexie utero-placentaire (hemorragies retro-placentaires avec infiltration sanguine de la paroi musculaire de l'uterus). // *Ann. De Gynec.*, 1913; 9: 486—495.
7. Couvelaire A. Traitement chirurgical des hemorragies utero-placentaires avec decollement du placenta normalement insere. // *Ann. De Gynec.*, 1911; 8: 591—608.
8. deLee J.B. A case of fatal hemorrhagic diathesis, with premature detachment of the placenta. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1971; 44: 785.
9. Greer I. A. Thrombosis in pregnancy: maternal and fetal issues. // *Lancet*, 1999; 353: 1258.
10. Kleiner G.J., Merskey C., Johnson A.J., et al. Defibrination in normal and abnormal parturition. // *Br. J. Haematol.*, 1970; 19: 159.
11. Lasch H.-G., Heene D.L., Hum K., Sandritter W. Pathophysiology, clinical manifestations and therapy of consumption-coagulopathy («Verbrauchskoagulopathie»). // *Am. J. Cardiol.*, 1967; 20: 381—391.
12. Lepage F. Alexandre Couvelaire (1873—1948). // *Gynec. et Obst.*, 1948; 47: 603—612.
13. Marder V.J., Martin S.E., Francis C.V., Colman R.W. Consumptive thrombohemorrhagic disorders. In: Colman R.W., Hirsh J., Marder V.J., Salzman E.W. (eds). *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott, 1987; 975—1015.
14. Muller-Berghaus G., Blomback M., ten Gate J.W. Attempts to define disseminated intravascular coagulation. In: Muller-Berghaus G., Madlener K/, Blomback M., ten Gate J.W. (eds). *DIC: Pathogenesis, Diagnosis and Therapy of Disseminated Intravascular Fibrin Formation*. Amsterdam: Elsevier, 1993; 3—8.
15. Muller-Berghaus G. Pathophysiology of generalized intravascular coagulation. // *Semin. Thromb. Hemost.*, 1977; 3: 209—246.
16. Nilsen P.A. The mechanism of hypofibrinogenemia in premature separation of the normally implanted placenta. // *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.*, 1963; 42(2): 96.
17. Page E.W., Fulton L.D., Glendening M.B. The cause of the blood coagulation defect following abruptio placentae. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1951; 61: 1116.
18. Price T.M., Baker V.V., Cefalo R.C. Amniotic fluid embolism: three case reports with a review of the literature. // *Obstet. Gynecol. Sum.*, 1985; 40: 462.
19. Pritchard J.A., Brekken A.L. Clinical and laboratory studies on severe abruptio placentae. // *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1967; 97: 681.
20. Ratnoff O.D., Conley C.L. Studies on afibrinogenemia. II. The defibrinating effect on dog blood of intravenous injection of thromboplasmin material. // *Bull. Johns Hopk. Hosp.*, 1951; 88: 414—424.
21. Schneider C.L. Thromboplastin complications of late pregnancy. In: *Toxemias of Pregnancy. Human and Veterinary. (A Cuba Foundation Symposium.)* Philadelphia: Blakiston, 1950; 163—181.

22. Schneider CL. «Fibrin embolism» (disseminated intravascular coagulation) with defibrination as one of the end results during placenta abruptio. // Surg. Gynecol. Obstet., 1951; 92: 27—34.
23. Selye I.I. Thrombohemorrhagic Phenomena. Springfield. П.: Charles C. Thomas, 1966.
24. Van der Meer J., Sluyter A.M.J., Vreeken J. Early manifestations of clotting in cases of abruptio placentae: clinical and hematological aspects. In: de Neef J.C., den Ottolander G.J.H., eds. Coagulation disorders in obstetrics. Amsterdam, the Netherlands: Excerpta Medica, 1966: 25.
25. Weiner C. P. The obstetric patient and disseminated intravascular coagulation. // Clin. Perinatol., 1986; 13: 705—717.

akusher-lib.ru

Глава XXIV.

Низкомолекулярные гепарины в терапии эндотелиальных повреждений у беременных с герпесвирусными инфекциями

На сегодняшний день заболевания, вызванные герпесвирусами (ГВ) — (ВПГ-1, ВПГ-2, ЦМВ, ВВЗ), повсеместно распространены и играют важную роль в патологии беременности и структуре перинатальной смертности. Так, частота встречаемости генитального герпеса (ГГ) среди женщин репродуктивного возраста составляет приблизительно 25% и неуклонно растет с каждым годом. ВПГ является вторым по частоте после вируса краснухи тератогенным вирусным агентом, способствующим развитию различной внутриутробной патологии и неонатальной инфекции. Велика роль ВПГ (30—50%) в генезе самопроизвольных выкидышей, неразвивающихся беременностей, преждевременных родов и внутриутробной гибели плода. Кроме того, ВПГ, благодаря своей способности встраиваться в клеточный геном человека, пожизненно персистировать в нейрочитах и поражать клетки-иммуноциты, вызывает развитие онкологических заболеваний гениталий, иммунодефицитных состояний, и, как стало ясно в последнее время, аутоиммунных состояний и тромбозомболических осложнений. Исследования последних лет доказали этиологическую роль ВПГ в генезе развития таких загадочных заболеваний как болезнь Альцгеймера, реакции «трансплантат против хозяина», иммуноглобулиновой нефропатии (вызванной гиперпродукцией IgA), атеросклероза. Проблема заключается в том, что уровень современной медицины не позволяет окончательно справиться с ВПГ и элиминировать эту инфекцию из организма. Современные противовирусные и иммуностимулирующие средства помогают лишь затормозить развитие герпеса при его активации или предотвратить рецидив инфекции. Кроме того, резистентность ВПГ к самым современным антигерпетическим препаратам также неуклонно растет с каждым годом.

Учитывая все это, а также появившиеся недавно данные о способности ВПГ встраиваться в генетический код человека по Менделевским законам генетики, делает проблему герпеса поистине всеобъемлющей и позволяет назвать герпетическую инфекцию эпидемией нашего времени.

ЦМВ относится к так называемым оппортунистическим инфекциям, клиническое проявление которых становится возможным на фоне развития того или иного иммунодефицита. Большое значение этого вируса заключается в его повсеместном распространении. Так, он выявляется у 50—60% детей до 5 лет и фактически у 90% взрослого населения. Внимание к ЦМВ обусловлено его способностью к трансплацентарному и постнатальному распространению, участию в реакциях отторжения трансплантата и развитию атеросклероза, а также возможной ролью в патогенезе болезней пищеварительного тракта и ряда злокачественных лимфопролиферативных заболеваний.

Вирус варицелла зостер (ВВЗ) вызывает ветряную оспу при первичном инфицировании и опоясывающий герпес при активации латентного вируса. В последнее время отмечается увеличение частоты заболеваемости опоясывающим герпесом, который, как известно, является болезнью иммунокомпроментированных лиц и

ассоциируется с иммуносупрессией и ухудшением общего состояния здоровья. ВВЗ встречается также у беременных и редко является причиной патологии в случае опоясывающего герпеса. При первичном же проявлении инфекции (ветряная оспа) ВВЗ может быть причиной развития пороков развития плода, так называемого «ветряночного синдрома» плода, а также гибели плода/новорожденного.

Итак, герпесвирусные инфекции (ГВИ) являются опасными для матери и плода при возникновении во время беременности. С каждым годом процент инфицированных неуклонно растет, причем в основном за счет популяции молодых половозрелых людей, значительную часть которых составляют беременные или потенциально беременные женщины. Помимо прямого цитотоксического действия на ткани плода и плаценты, ВПГ, а также ЦМВ способны выражено угнетать иммунную систему, тем самым, нарушая сложившийся гомеостаз в организме беременной. При этом взаимосвязь вируса с иммуноцитами столь сложна, что не всегда удается выявить тот или иной дефект системы иммунитета. Кроме того, беременность сама по себе является супрессивным фактором, способствующим распространению и прогрессированию герпесвирусной инфекции. Сегодня диагностика ВПГ и ЦМВ инфекции не представляет особых сложностей. В лабораторную практику внедрены различные технологии, позволяющие диагностировать инфекцию на различных этапах ее развития. Это особенно важно еще до наступления гестационного процесса, что позволяет подготовить иммунную систему будущей матери к борьбе с вирусом во время беременности и сохранить здоровье будущему ребенку. Ошибочно представление о том, что рецидивирующая ВПГ-инфекция и латентная ЦМВ-инфекция мало опасна для плода. В виду того, что вирус способен вызывать поражение плаценты с ранних сроков беременности, как непосредственное влияние вируса на плод, так и опосредованное его влияние с развитием различных осложнений беременности является весьма очевидным. Уровень противовирусных антител, имеющих в большом количестве при рецидивирующей инфекции, играет лишь частичную роль в защите плода, т.к. основная принадлежит клеточным факторам иммунной системы. Кроме того, в последнее время стало возможным исследовать влияние вирусной инфекции и на другие системы организма и обосновать основной механизм поражения фето-плацентарного комплекса при ГВИ, о чем пойдет речь ниже.

Роль герпесвирусов в генезе развития эндотелиальных повреждений. Герпесвирусы как этиологический фактор развития антифосфолипидного синдрома. Основы патогенеза

В настоящее время в связи с высокой инфицированностью населения различными вирусными инфекциями, их роль в развитии аутоагрессии является лидирующей. Антифосфолипидный синдром (АФС) при хронической вирусной инфекции встречается в 20—51,5% наблюдений. В патогенезе этого задействованы два механизма, приводящие к срыву иммунологической толерантности к тканям собственного организма и поддержания аутореактивного процесса. Ими являются феномен молекулярной мимикрии и избыточная активация аутореактивных лимфоцитов.

В инициации процесса основную роль играет молекулярная мимикрия антигенов вируса, общих с антигенами тканей хозяина. Примером тому является доказанный феномен мимикрии ЦМВ и специфичного поверхностного клеточного протеина CD13 (аминопептидаза N). CD13 присутствует на всех ЦМВ-чувствительных клетках, и патогенез подавления вирусной инфекции заключается как раз в выработке специфичных антител к этому белку. Во время сборки нуклеокапсидов вируса в комплексе Гольджи CD13 встраивается в его поверхностные структуры. Т.о. антитела, направленные против поверхностных вирусных гликопротеинов, становящиеся аутоантителами к собственному поверхностному белку организма. Это подтверждает предложенную в 1985 году Fujinami & Oldstone модель молекулярной мимикрии вирусов и специфичных аутоантигенов для развития

аутоиммунитета. Иммуный ответ на эти антигены может разрушать иммунорегуляторный процесс, в норме предотвращающий аутореактивные ответы.

При развитии АФС выработка антифосфолипидных антител (АФА) также может быть спровоцирована $\beta 2$ -гликопротеин I ($\beta 2$ -ГП I) подобными-фосфолипид-связывающими продуктами многих известных вирусов и бактерий. Некоторые вирусы (например, ЦМВ, ВПГ) способны напрямую поражать эндотелиоциты, что приводит к развитию васкулитов, тромбозов, тромбоцитопении и, возможно, является пусковым моментом развития атеросклероза.

В поддержании же аутоиммунного состояния основная функция отводится цитокинам, синтезируемым в избыточном количестве в очаге воспаления, и приводящим к потере толерантности к собственным аутоантигенам и деструктивной активации аутореактивных клеток. Кроме того доказана роль некоторых цитокинов (ИЛ-10) в сверхстимуляции В-клеточного клона лимфоцитов с выработкой аллоиммунных АФА. Повышенная выработка ИЛ-1 и ФНО- α неизбежно ведет к усиленному апоптозу эндотелиоцитов и выставлению на мембранах анионных фосфолипидов (фосфатидилсерин — (ФС)) с последующей выработкой на них аутоиммунных антител (анти-ФС).

Существует также гипотеза, что в генезе АФС при хронической вирусной инфекции центральную регулирующую роль играют гликопротеины, кодирующие главный комплекс гистосовместимости (ГК ГС) — локусы DR3 и DR4, поэтому и существует связь между этими патологическими процессами.

В последние годы появились сведения о роли вакцинотерапии, например герпетической инфекции, в сверхстимуляции антителогенеза, следствием чего является развитие аутоиммунных состояний.

Интересным является изучение типа и кофакторной активности продуцируемых АФА у больных различными вирусными инфекциями, а также их роли в развитии тромботических и акушерских осложнений. Считается, что в сыворотке больных инфекционными заболеваниями присутствуют главным образом антитела, реагирующие с ФЛ в отсутствие кофактора ($\beta 2$ -ГП I), поэтому они как бы не имеют тромбогенного значения, и их роль остается пока неразгаданной. Также не была выявлена кофакторная связь АФА у больных с инфекционными заболеваниями с протромбином, аполипопротеином A1 или аннексином V.

Способность вирусов вызывать апоптоз клеток с возникновением на поврежденных мембранах очагов, богатых анионными ФЛ (ФС), обеспечивает связь с ними различных кофакторов с образованием антигенных мишеней. При этом если эту роль не выполняют наиболее распространенные из них — $\beta 2$ -ГП I, протромбин или аннексин V, то ими вполне могут служить и другие белки, такие как протеин C, протеин S, тромбомодулин, фосфолипаза A2 или кининоген. При этом больные могут иметь антитела как к одному, так и к нескольким белкам плазмы крови. Кроме того, при соприкосновении экспрессированных ФС поврежденных мембран, возможен непосредственный запуск ими внутрисосудистого свертывания без участия АФА. Способность вирусов вызывать изменение конформации некоторых ФЛ с ламеллярной на гексагональную обеспечивает связь с ними волчаночного антикоагулянта (ВА), имеющих тропность к гексагональным ФЛ без присутствия кофактора. И хотя гексагональные ФЛ не были обнаружены в мембранах живых клеток, возможно, что некоторые из них (фосфатидилэтаноламин (ФЭ)) под влиянием вирусной инфекции приобретают эту форму до возникновения апоптоза, в частности при активации эндотелия тромбоцитами.

При изучении спектра АФА на фоне инфекционных заболеваний наблюдается преобладание антител к отрицательно заряженным ФЛ (кардиолипин (КЛ), ФС) по сравнению с нейтральными ФЛ (ФЭ, фосфатидилхолин (ФХ)) всех трех представленных классов (IgG, IgM, IgA). Некоторые авторы подчеркивают роль именно IgM АКЛ в генезе развития тромбозов у больных различными инфекциями, активность которых не является кофакторо-зависимой.

Т.о. при АФС, развивающимся на фоне вирусной инфекции, встречаются 2 вида антител. Антитела первой группы напрямую реагируют с ФЛ в гексагональной фазе. Другая группа антител взаимодействует с фосфолипидсвязывающими кофакторами плазмы, такими как протеин С, протеин S, гепарин-кофактор II и, возможно В2-ГП I, протромбин и аннексин V. Им и отводится первостепенная роль в этиологии тромбозов при АФС.

АФС чаще развивается на фоне длительной (более 3 лет) по сравнению с непродолжительной (менее 1 года) или бессимптомной инфекцией, тогда как у больных с герпесом без АФС чаще определяется бессимптомное вирусноносительство или герпетическая инфекция продолжительностью менее 1 года. Также на частоту развития АФС влияет тяжесть течения герпетической инфекции: при тяжелом течении инфекции АФС выявляется в 64,7%, при легком течении — в 8,8—10% случаев.

Влияние герпесвирусов на систему гемостаза и их роль в развитии тромбофилических состояний

Механизм тромбообразования на фоне хронической вирусной инфекции объясняется следующим образом. Доказано, что некоторые вирусы (в частности ВПГ, ЦМВ, ВВЗ) могут повреждать естественную тромборезистентность эндотелиоцитов 3 способами.

Во-первых, герпесвирусы ингибируют антикоагулянтные/ антитромботические свойства сосудистого эндотелия. В норме эндотелиоциты синтезируют и экспрессируют на своей поверхности сложный комплекс гепаран-сульфат-протеогликана (ГСПГ), играющего важную роль в связывании и активации антитромбина-III (АТ-III), отвечающего за инактивацию нескольких факторов свертывания (тромбин и активированные факторы IX, X, XI и XII). ВПГ-инфекция уменьшает синтез и экспрессию ГСПГ эндотелием. Герпесвирусы также снижают экспрессию эндотелиоцитами тромбомодулина, что ведет к уменьшению тромбомодулин-зависимой активации протеина С, и способствует повышенному тромбинообразованию.

Во-вторых, герпесвирусы способны индуцировать прокоагулянтные/ протромботические свойства эндотелия. Это связано с изменением пространственной конфигурации фосфолипидов мембран под прямым влиянием вирусов. Так, ВПГ-инфицированные эндотелиальные клетки в присутствии очищенного протромбина, факторов Va и Xa, продуцируют в 2—3 раза больше тромбина, чем неинфицированные эндотелиоциты. Увеличение тромбинообразования в свою очередь приводит к повышению агрегации тромбоцитов и снижению простаглицинсинтетической функции эндотелия. Также была предположена роль ВПГ в транзитном повышении экспрессии тканевого фактора на поверхности эндотелиоцитов, который в норме не синтезируется этими клетками, но может быть индуцирован эндотоксинами или цитокинами. Так, в ВПГ-инфицированных клетках по сравнению с интактными его экспрессия повышается в 3—4 раза, причем она не зависит от активности вируса и в равной степени встречается и при наличии вирусов с нарушением репликации. Некоторые вирусы, например ЦМВ, способны запускать коагуляционный каскад на своей поверхности, т.к. содержат необходимые прокоагулянтные фосфолипиды в составе своих мембран.

И, в-третьих, герпесвирусная инфекция эндотелия способна вызывать нарушение экспрессии молекул адгезии, приводящее к увеличенному связыванию эндотелиоцитами различных клеток — эфферторов воспаления, которые путем секреции цитокинов приводят к «переключению» антикоагулянтных свойств эндотелия на прокоагулянтные.

Еще одним возможным механизмом тромбообразования при герпесвирусной инфекции является ее способность снижать синтез тканевого активатора плазминогена (t-PA) и ингибитора активатора плазминогена 1 типа (PAI-1) пораженным эндотелием.

Т.о. исследование системы гемостаза у беременных с герпетической инфекцией имеет исключительное значение для выявления и профилактики тромбофилических осложнений. У больных с рецидивирующей герпетической инфекцией и АФС с ранних сроков беременности выявляется гиперактивность тромбоцитов, гиперкоагуляция крови, не соответствующая сроку гестации, снижение антикоагулянтной и фибринолитической активности с развитием начальных этапов синдрома внутрисосудистого свертывания с выявлением в большинстве случаев только ранних маркеров тромбофилии (ТАТ и F1+2)). Это свидетельствует о наличии глубоких нарушений гемостаза по сравнению со здоровыми беременными и является основанием для раннего назначения патогенетической терапии в этой группе больных даже при отсутствии каких-либо значимых изменений в системе гемостаза, т.к. на фоне АФС гиперкоагуляция крови и развитие тромбофилии без адекватного лечения быстро прогрессируют с развитием беременности. АФС у наших больных по классификации R.L. Vick (1997) относился к 5 типу: ВА с хроническим невынашиванием беременности. Последние исследования показали, что даже у больных 6 типа (ВА без сопутствующих заболеваний) в отсутствие антикоагулянтной терапии риск тромбоза составляет 40%, и повышается при присоединении таких триггеров как рецидивирующая вирусная инфекция и беременность с ее тенденцией к развитию физиологической гиперкоагуляции.

Особенностью течения ДВС синдрома у больных АФС является мозаичность микротромбоза внутренних органов. В условиях беременности наибольшему поражению подвергается развивающаяся плацента. Поэтому отсутствие явных клинических проявлений ДВС-синдрома в виде тромбоземболических осложнений не исключает скрытой и постепенно развивающейся тромбофилии.

Течение беременности и родов у больных с герпесвирусной инфекцией. Влияние герпетической инфекции на течение и исход беременности

Обычной формой герпетической инфекции, вызванной ВПГ-2, у беременных является локализованная генитальная. Чаще встречается рецидивирующая форма генитального герпеса (ГГ), которая является наиболее благоприятной в прогнозе беременности и составляет 2—3% от общего числа беременных. Первичное заражение женщины во время беременности, атипичное и бессимптомное течение герпеса ассоциируется с максимальным процентом внутриутробного инфицирования плода. Приблизительно 60—75% антителопозитивных беременных не знают о наличии у себя ГГ. Наиболее неблагоприятным считается первичное инфицирование беременной в поздние сроки беременности, когда защитный уровень антител для плода не успевает сформироваться к родам. Эти женщины имеют 40% риск инфицирования их детей.

Существует три способа проникновения ВПГ к плоду:

- 1) восходящий или трансцервикальный;
- 2) трансплацентарный;
- 3) трансвариальный (из брюшной полости по маточным трубам).

85% плодов поражается трансцервикальным способом во время родов или при преждевременном разрыве плодных оболочек. Внутриутробное инфицирование ВПГ встречается достаточно редко, примерно в 5% случаев. Клиническими симптомами внутриутробной герпетической инфекции являются: поражения кожи, хориоретинит, поражения ЦНС или диссеминированная форма инфекции.

При инфицировании плода на ранних сроках беременности высока вероятность самопроизвольного выкидыша, неразвивающейся беременности или задержки внутриутробного развития плода, что составляет около 15—34%. Также инфицирование плода в I триместре может приводить к поражениям, характерным и для других внутриутробных инфекций: микро- и гидроцефалии, внутричерепному кальцинозу, катаракте и другим порокам развития. Инфицирование во II и III тримест-

рах беременности приводит к гепатоспленомегалии, анемии, желтухе, хориоретиниту, гипотрофии, пневмонии, менингоэнцефалиту, различным кожным поражениям у плодов и новорожденных. И, наконец, 5—10% приходится на постнатальное заражение новорожденных от матери, медицинского персонала или больных родственников. Остается неясным вопрос о возможности инфицирования здорового новорожденного через зараженное материнское молоко. Итак, передача инфекции плоду и развитие неонатального герпеса зависят от следующих факторов:

- 1) уровня материнских нейтрализующих антител;
- 2) длительности безводного промежутка (безводный промежуток более 4 часов следует считать опасным);
- 3) применения различных инструментов при родоразрешении, травмирующих плодный пузырь и головку плода;
- 4) количества влагалитических исследований в родах, способствующих развитию восходящей инфекции.

Заражение ВПГ-1 в основном происходит внутриутробно или также как при ВПГ-2, если ВПГ-1 является этиологическим фактором развития ГГ.

Инфицирование ЦМВ плода возможно тремя путями:

- трансплацентарным;
- интранатально, если вирус содержится в выделениях родового канала;
- через инфицированное материнское молоко.

Трансплацентарная передача может произойти при первичной или реактивации латентной хронической инфекции на любом сроке беременности. Интранатальная и постнатальная передача ЦМВ происходит в 10 раз чаще, чем трансплацентарная.

ЦМВ поражает плод в 1—2% случаев всех беременностей. Риск инфицирования плода выше при первичном инфицировании матери во время беременности (в 30—50% случаев). У 2—4% детей при этом выявляются пороки развития. При реинфекции риск составляет 1—2%, и 99% детей при этом при рождении кажутся здоровыми. Однако, впоследствии у них зачастую выявляются задержка развития речи и трудности в обучении, связанные с различными нарушениями слуха вплоть до глухоты. При латентной инфекции внутриутробного инфицирования, как правило, не наблюдается. Если нет пороков развития, то проявления внутриутробного инфицирования проявляются через 2 недели после рождения в 85% случаев.

Трансплацентарное инфицирование в I триместре приводит к порокам развития плода:

- Пороки ЦНС — микроцефалия, гидроцефалия
- Хориоретиниты
- На более поздних сроках — к прогрессирующей желтухе новорожденных, геморрагическому синдрому, гепатоспленомегалии
- Кальцинаты в головном мозге
- Умственная отсталость
- Блокада проводящих путей сердца
- Петехии
- Деформация ушных раковин
- Высокое небо

Внутриутробное инфицирование при ветряной оспе происходит в 5% в I триместре и в 24% в III триместре беременности. При опоясывающем лишае внутриутробное инфицирование исключается. У инфицированных детей увеличен риск развития лейкоза. Наблюдаются следующие пороки развития, которые чаще всего развиваются при первичном инфицировании женщины в I триместре беременности:

- Шрамы на коже
- Везикулярные и геморрагические высыпания, если инфицирование произошло в последние 3 недели гестации
- Односторонняя гипоплазия верхних и нижних конечностей, и грудной клетки

- Рудиментарные пальцы
- Косолапость
- Пороки развития ЦНС (микроцефалия, атрофия коры головного мозга и мозжечка, кальцификаты в головном мозге), а также судороги, задержка психомоторного развития, энурез, дисфагия и др.
- Пороки органа зрения (микрофтальмия, атрофия зрительного нерва, катаракта и хориоретинит)

При инфицировании на 4 месяце беременности у плода развивается так называемый «ветряночный синдром», включающий в себя: дистрофию; гипоплазию конечностей; пороки развития глаз; рубцовые изменения кожи и замедленное психомоторное развитие.

Роль эндотелиальных повреждений в развитии осложнений беременности

Синдром потери плода — это новый термин, появившийся в последнее время и включающий в себя:

- Один или более самопроизвольных выкидыша (с/в) или неразвивающихся беременностей на сроке 10 и более недель;
- 3 и более с/в до 8 недель эмбрионального развития;
- Хотя бы одну внутриутробную гибель плода и/или мертворождение;

Риск поражения плода или прерывания беременности в результате герпетической инфекции связан с изменениями, происходящими в плаценте при герпетическом ее поражении. При этом в плаценте возникают изменения, характеризующиеся как продуктивно-некротический плацентит, что клинически выражается в хронической плацентарной недостаточности. При УЗИ наблюдается утолщение, кальциноз и преждевременное старение плаценты, уменьшение количества околоплодных вод. При доплерометрии отмечается нарушение маточно-плацентарного и фетоплацентарного кровотока, изменение периферического сопротивления сосудов плаценты. Патологическое изменение плаценты приводит к изменению содержания плацентарных белков и гормонов в материнском кровотоке, что также может быть ценным диагностическим критерием для выявления поражения плаценты при герпетической инфекции.

Распространению герпетической инфекции во время беременности способствуют также определенные иммунные изменения в организме беременных женщин. Сама беременность вследствие своего иммуносупрессивного влияния (высокий уровень половых гормонов, угнетение клеточного иммунитета, наличие супрессивных факторов в плазме) может препятствовать естественной противовирусной резистентности. Для беременных с рецидивирующим ГГ характерно снижение абсолютного содержания CD3+-лимфоцитов за счет значительного уменьшения CD4+-субпопуляции, а также снижение NK-клеток (CD16+) при нормальном уровне В-лимфоцитов (CD19+). Подавление Т-системы иммунитета во время беременности имеет отчасти защитное действие для предотвращения отторжения плода. С этой же целью трофобластом плаценты вырабатываются местные иммунодепрессанты, и уменьшается количество антигенов гистосовместимости 1 и 2 классов.

Т.о. большое значение для прогноза инфицирования плода играет состояние специфического протективного иммунитета беременной, срока беременности и длительности контакта инфекции с плодом, а также степени повреждения физических (трофобласт плаценты) и функциональных (уровень и репертуар протективных антител) барьеров, которые имеют место при развитии аутоиммунных и тромбофилических осложнений беременности.

Повышенное образование ИЛ-1 и ФНО-L, наблюдаемое при ГВИ, неизбежно ведет к усиленному апоптозу эндотелиоцитов и выставлению на мембранах анионных фосфолипидов (ФС) с последующей выработкой на них аутоиммунных антител (а-ФС). Фосфатидилсерины в норме располагаются во внутреннем слое плазма-

тической мембраны клетки. Экстернализация их происходит в стареющих клетках, подвергающихся апоптозу (эритроцитах, лимфоцитах и др.); на миобластах при формировании миотубул, что предшествует межклеточному слиянию их; при активации тромбоцитов, создавая тем самым матрицу для активации протромбиназы и запуска каскада свертывания крови. При этом процесс выставления ФС происходит очень быстро и заканчивается либо гибелью клетки (апоптоз) или последующей реинтернализацией ФС. Трофобласт при дифференциации и инвазии в экстрацеллюлярный матрикс также экспонирует на своей поверхности ФС. Т.к. слияние клеток и рост синцития продолжается почти всю беременность, клетки трофобласта являются единственными в организме человека, которые экспонируют на своей поверхности анионные ФЛ столь длительно. Синтезируемые в ответ на это АФА влияют на процесс имплантации и ранние эмбриональные стадии напрямую и опосредованно:

- АФА повышают экспрессию ингибитора активатора плазминогена 1 (PAI-1) и тканевого фактора (TF), что усиливает протромботические механизмы и снижает активность фибринолиза, что ведет к дефектам имплантации и снижению глубины децидуальной инвазии трофобласта.

- Интересными являются сообщения о том, что причиной невынашивания беременности у больных АФС при наличии инфекционной патологии являются антитела к ФС и ФЭ класса М, которые, обладая способностью к адгезии, препятствуют слиянию клеток, и превращению цитотрофобласта в синцитиотрофобласт.

- АКА в эксперименте ингибируют выделение ХГ плацентой.

- АФА могут изменять поверхностные характеристики предимплантационного эмбриона (заряд и конфигурация поверхностных гликопротеидов), обеспечивающих ему способность к адгезии.

- АФА и ВПГ снижают уровень ИЛ-3, который является активным фактором роста трофобласта, способствуя имплантации и развитию плаценты, и синтезируется активированными CD4-лимфоцитами. ИЛ-3 также способствует активации урокиназы, катализирующей превращение плазминогена в плазмин, и тем самым способствует фибринолитическим процессам в миометрии.

Причиной невынашивания на более поздних сроках при прогрессировании АФС является развитие тромботической васкулопатии спиральных артерий плаценты. Доказана роль аннексина V (плацентарного антикоагулянтного протеина — I) в генезе синдрома потери плода у больных АФС, снижение которого на поверхности ворсин приводит к развитию тромбозов и инфарктов плаценты.

Аннексин V является кальций-зависимым ФЛ-связывающим протеином, представленным в большом количестве в эндотелиоцитах. Его антикоагулянтная роль заключается в способности связываться с прокоагулянтными ФЛ, тем самым, предотвращая их прокоагулянтную функцию. Сродство аннексина V к ФС в 1000 раз выше, чем протромбина или фактора Ха. Он покрывает ФС по типу ковра, оказывая местный антикоагулянтный эффект. Поэтому во время физиологической беременности, несмотря на длительную экстернализацию анионных ФС на поверхности трофобласта, не происходит постоянного тромбообразования. У больных АФС, в том числе на фоне инфекционного процесса, возможна выработка аутоантител к этому белку, что вызывает апоптоз в культуре эндотелиальных клеток *in vitro*. При этом некоторые антитела к аннексину V обладают ВА-активностью. Они вытесняют аннексин V с поверхности эндотелиоцитов и клеток трофобласта, что приводит к гиперкоагуляции и потери беременности. Кроме того, АФА могут блокировать транспорт аннексина V на поверхность апикальной мембраны трофобласта. АФА нарушают межмолекулярные связи аннексина V и удаляют его с гораздо большей поверхности, чем способны покрыть сами, из-за способности аннексина V образовывать сложные межмолекулярные комплексы по типу «ковра», оставляя при этом места для связывания ФЛ с протромбином. По мере прогрессирования беременности процессы тромбообразования в сосудах плаценты становятся все более значимыми.

Т.о. патология плаценты у больных с АФС включает в себя инфаркты и некрозы плаценты, скопления фибриноидных масс в межворсинчатом пространстве, атероз и тромбоз спиральных артерий, а также недостаточную трофобластическую конверсию (незавершенное эндovasкулярное разрушение трофобластом мышечных и соединительнотканых компонентов децидуальных спиральных артерий). Присоединяющиеся к этому нарушения в развитии плаценты, характерные для ВПГ-инфекции, (дистрофические изменения синцития, фиброз стромы и изменение сосудистой сети ворсин с утолщением стенок, характеризующиеся как продуктивно-некротический плацентит) обуславливают удвоенный риск развития плацентарной недостаточности и различной патологии в развитии плода.

Т.о. благодаря развитию гемостазиологии в последнее время стало возможным исследовать и диагностировать различные нарушения системы гемостаза. Роль патологии гемостаза во время беременности нельзя недооценивать. Исполдволь развивающиеся тромбозы в системе микроциркуляции фетоплацентарного комплекса в конечном итоге приводят к выраженному тромбированию плаценты, потери беременности, различным осложнениям гестационного процесса (в/у гипоксия и задержка внутриутробного развития плода, гестозы и др.). При этом роль хронической вирусной инфекции чрезвычайно велика. Хроническая ГВИ вызывает развитие тромбофилических состояний как путем непосредственного влияния на гемостаз, так и опосредованно — через развитие аутоиммунных состояний, в т.ч. — антифосфолипидного синдрома. Это значительно облегчило понимание проблемы патологии беременности при герпетической инфекции и помогло обосновать патогенез синдрома потери плода при герпесе. Вызываемый вирусной инфекцией тромбоз сосудов плаценты способствует ее более легкому распространению, а изменения иммунной системы приводят к развитию аутоиммунного состояния в организме беременной, и, как следствие, к тромбозу. Это составляет основу порочного круга патогенеза синдрома потери плода у беременных с рецидивирующей ГВИ. Кроме того, тромбофилия угрожает и непосредственно жизни и здоровью беременных, рожениц и родильниц с ГВИ, у которых велик риск развития тромбозов различных локализаций. Поэтому в сохранении беременности и профилактике материнской заболеваемости и смертности у больных герпетической инфекцией огромную роль имеет проводимая во время беременности антитромботическая и противовирусная терапии (см. ниже).

Основные принципы ведения беременности и родов у больных с герпес-вирусными инфекциями и тромбофилиями.

Особенности ведения беременности у больных с герпесом и тромбофилиями

АФС у беременных с ГГ в еще большей степени осложняет течение беременности вследствие патогенетического действия АФА на сосуды плаценты с развитием тромбозов и нарушением плацентарного кровотока, поэтому такие больные представляют группу двойного риска по невынашиванию беременности и перинатальным потерям. Известно, что тромбоз и ишемия сосудов плаценты у беременных с наличием АФА начинается с ранних сроков беременности, поэтому лечение и профилактика плацентарной недостаточности должны проводиться с I триместра беременности. Риск акушерских осложнений в отсутствие терапии, как было указано выше, составляет приблизительно 90%. Наряду с характерными и хорошо изученными изменениями в системе гемостаза у беременных с ГГ и АФС развиваются изменения в иммунной системе, отражающие как наличие герпетической инфекции, так и активного аутоиммунного процесса, изучение которых непосредственно обосновывает выбор вида терапии АФС у больных ГГ. Дело в том, что для терапии АФС во время беременности используются стандартные схемы ведения, включающие антикоагулянты и антиагреганты на фоне иммуносупрессивной глюкокортикоидной (ГК) тера-

пии. Но, при наличии рецидивирующей вирусной инфекции, в условиях развивающегося иммунодефицита, назначение ГК противопоказано, т.к. приводит к усилению репликации ВПГ и, как следствие, к активации АФС. Поэтому препаратами выбора у беременных с ГГ и АФС являются антикоагулянты, позволяющие стабилизировать параметры гемостаза без отрицательного влияния на иммунную систему.

Ретроспективная оценка роли интенсивной гормональной терапии, применяемой у беременных с ГГ, показала значительность этого фактора в развитии внутриутробной герпетической инфекции. Гормональная иммуносупрессивная терапия, проводимая до и во время беременности, снижает уровень гуморального противовирусного иммунитета у беременных с герпесом. Следствием этого является более низкий уровень трансплацентарно переданных антител у новорожденных. Кроме того, отрицательная роль глюкокортикоидов у беременных с герпесом проявляется в высокой частоте преждевременного разрыва плодного пузыря вследствие нарушения процесса коллагенообразования и, т.о., повышенной частоте передачи вируса плоду трансцервикальным путем. Более того, считается, что назначение глюкокортикоидов для снижения титра АФА не оправдано, т.к. в малых дозах для этой цели они неэффективны (метипред — 4 мг, преднизолон — 5 мг/сутки), а в больших дозах чреваты в отношении развития побочных эффектов у матери (синдром Кушинга, артериальная гипертензия, диабет беременных, гестоз, преждевременные роды, подавление гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси с нарушением стрессорной адаптации, остеопороз, катаракта, депрессии, бессонница, кожные проявления — стрии и аллопеция, язвы ЖКТ) и у плода (гипофункция коры надпочечников, задержка в/у развития, склонность к агрессивному поведению, нарушение адаптации в раннем неонатальном периоде и на более отдаленных этапах развития).

Отрицательное влияние ГК на систему гемостаза у больных ГГ и АФС подтверждается нарастанием патологических изменений с прогрессированием гестационного процесса при получении ГК-терапии на протяжении всей беременности. У этих больных отмечалось увеличение ИТП на 30,6%, усиление T_{MA} при стимуляции $ADP \cdot 10^{-3} M$ на 13%, увеличение частоты выявления патологических агрегатограмм — на 30%, снижение активности АТ-III на 19,1%, протеина С — на 33,9% и плазминогена — на 27,1%, что привело к нарастанию концентрации ТАТ в крови на 62%, а F1+2 — на 43,7% в III по сравнению с I триместром беременности. В иммунной системе отмечается снижение количества Т-хелперов и повышение клеток с цитотоксической активностью.

Проводимая иммуноглобулинотерапия у беременных с ВПГ и АФС производит противоположный эффект. При внутривенном введении иммуноглобулина (в/в Ig) в дозе 25 мл внутривенно 3 раза через день после каждого курса лечения выявляется тенденция к увеличению Т-лимфоцитов за счет CD4+-субпопуляции, а также повышение уровней IgG и IgM. Выявляется также незначительное снижение уровня CD8+. Доказано, что внутривенный иммуноглобулин снимает симптомы угрозы прерывания беременности, улучшает общее состояние. Положительное влияние внутривенного иммуноглобулина на течение беременности у больных АФС, которое проявляется в улучшении параметров гемостазиограммы и снижении уровня АФА на длительный период времени, связано с содержащимися в препарате антиидиотипическими антителами, связывающими АФА, что тем самым ускоряет их выведение из организма с помощью ретикулоэндотелиальной системы. По сходному механизму (идиотипическое-антиидиотипическое взаимодействие) нарушается функция Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов и их способность синтезировать антитела. Кроме того, в/в Ig оказывает модулирующий эффект на продукцию цитокинов и активацию системы комплемента. Т.о. назначение в/в Ig беременным с герпесом и АФС является целесообразным, позволяя одновременно воздействовать и на вирус, и на АФА. Побочные эффекты Ig чрезвычайно редки. Не было зарегистрировано ни одного осложнения или тератогенного влияния на плод. У беременных побочные эффекты возникают в 1—5%

случаев и включают боль за грудиной, тошноту, лихорадку, ознобы, приливы, головную боль и общее недомогание во время проведения инфузий. Противопоказаниями к проведению Ig-терапии являются предшествующие случаи анафилактических реакций на введение Ig и избирательный дефицит IgA.

На фоне применения в/в Ig выявляется снижение коагуляции в группе беременных с ГГ и АФС по данным ТЭГ, уменьшение гиперагрегации тромбоцитов (T_{MA}) с различными индукторами. Важным является также увеличение активности антикоагулянтной и фибринолитической систем, что на фоне снижения гиперкоагуляции крови приводит к значительному снижению маркеров тромбофилии, выявляемых у этих больных до применения Ig. При исследовании иммунной системы у беременных с ГГ и АФС непосредственно после проведения курсов Ig-терапии выявляются значительные изменения в виде нормализации клеточного звена системы иммунитета. На фоне активного аутоиммунного процесса происходит снижение исходно повышенного содержания фракций CD3+, CD4+ и CD8+-лимфоцитов, что ведет к нормализации иммунорегуляторного показателя до нормальных значений. Также после введения Ig отмечается нормализация количества клеток с цитотоксической активностью (CD57+) и увеличение количества В-лимфоцитов.

После курса Ig отмечается достоверно значимое выраженное снижение титра антител к ВПГ, что свидетельствует о подавлении герпетической инфекции, проявляющейся в снижении частоты и тяжести рецидивов ГГ у наблюдаемых больных.

В качестве антиагрегантов чаще всего назначается аспирин в дозе 100—150 мг/сутки (или реже) длительно, начиная с 6—8 недель гестации. Аспирин угнетает активность циклооксигеназы, и т.о. подавляет синтез тромбоксана A2 и простаглицлина одновременно. Но тромбоциты не способны ресинтезировать циклооксигеназу, а клетки эндотелия и трофобласта наоборот быстро восстанавливают синтез простаглицлина, поэтому при приеме малых доз аспирина преимущественно подавляется продукция тромбоксана при сохранении продукции простаглицлина. Также аспирин является мощным индуктором синтеза цитокинов (например, ИЛ-3), усиливающих имплантацию и развитие эмбриона.

Из антиагрегантов рекомендуется также использование курантила в дозе 150—225 мг/сутки, теоникола в дозе 0,1—0,7 мг 3 раза в сутки. Дипиридамол (курантил) ингибирует фосфодиэстеразу, метаболизирующую цАМФ; потенцирует антиагрегантную активность простаглицлина; блокирует поступление аденозина в клетки эндотелия, увеличивая его плазменную концентрацию. Аденозин в свою очередь ингибирует функцию тромбоцитов за счет стимуляции аденилатциклазы. Следует обязательно оценивать общую интенсивность агрегации тромбоцитов (АДФ, коллаген, адреналин-агрегации), которая не должна превышать 30—45%. При повышении агрегации более 50% показано применение аспирина, необратимо связывающегося с циклооксигеназой тромбоцитов. При назначении аспирина следует ориентироваться на снижение коллаген и арахидон-агрегации, которая должна составлять не более 30%. При наличии стойкой гиперактивности, тромборезистентности к антиагрегантам рекомендуется вводить реополиглюкин внутривенно капельно 400,0 мл курсами 3—5 раз. Контроль гемостаза должен проводиться 1 раз в 2 недели.

Гиперкоагуляция в сочетании с признаками ДВС-синдрома является прямым показанием для назначения гепаринотерапии — главного способа терапии у беременных с АФС. Препараты гепарина отменяются перед родами (за 8—12 часов или с началом родовой деятельности) и возобновляются в послеродовом периоде на протяжении 10—20 дней с оценкой гемостаза на 3—5 сутки после родов, затем 1 раз в 10 дней путем определения АЧТВ или, реже, антиХа-активности. Основной антикоагулянтный эффект гепарина обусловлен выраженной способностью связываться с AT-III, изменяя его конфигурацию и тем самым усиливать его способность инактивировать тромбин, фактор Ха и фактор IXa. При АФС гепарин предотвращает тромбоз и децидуальную васкулопатию, снижает способность АФА связываться с отрицательно заряженными ФЛ, связывает некоторые белки плазмы (витронектин, фибронектин, фибри-

ноген) и белки, высвобождаемые из тромбоцитов (фактор 4, низкомолекулярная субъединица vWF) и эндотелия (высокомолекулярная единица vWF).

Сейчас, благодаря успехам в области клинической фармакологии, появилась возможность применения новых, более эффективных антикоагулянтов — низкомолекулярных гепаринов (НМГ), практически лишенных побочных эффектов гепарина и обладающие большей по сравнению с нефракционированным гепарином противотромботической активностью.

В нашем исследовании мы применяли НМГ — фраксипарин (надропарин) (Sanofi, Франция). Он выпускается в шприцах со специальной подкожной иглой, что делает его введение безболезненным и не вызывает развитие синяков. Введение и контроль фраксипарина очень удобны, потому что не требуется систематического контроля доз, а лишь оценка его эффективности по уровню ТАТ, F1+2, ПДФ и количеству Д-Д-димера вследствие того, что противотромботический эффект фраксипарина достигается без гипокоагуляции в отличие от гепарина. Исчезновение или снижение этих маркеров свидетельствует об эффективности проводимой терапии. Контроль возможен 1 раз в 14 дней или даже реже. При необходимости же проведения контроля доз наиболее точным методом становится не АЧТВ (как у гепарина), а анти-Ха активность.

Введение фраксипарина возможно на протяжении всей беременности или курсами по 10—14 дней несколько раз в триместр в зависимости от тяжести тромботического процесса, параметров гемостазиограммы и клинических симптомов. Отменяется фраксипарин непосредственно перед родами естественными или оперативными с последующим возобновлением терапии в послеродовом периоде.

Изменения в системе гемостаза у беременных с ГГ и АФС без назначения антикоагулянтной терапии, как отмечалось выше, прогрессируют с течением беременности и соответствуют хронической форме ДВС-синдрома на фоне снижения антикоагулянтного и фибринолитического потенциала крови. По сравнению с этим при назначении фраксипарина с ранних сроков беременности выше описанные патологические изменения гемостаза не развиваются вообще, а при назначении в более поздние сроки (с конца I триместра) не прогрессируют на фоне введения препарата. Применение НМГ, по данным исследований гемостаза, доказали 100% эффективность применения НМГ в купировании патологической активации и тромбофилического состояния крови у беременных с ГГ и АФС.

Также на фоне введения НМГ, не оказывающего непосредственного влияния на параметры иммунитета, наблюдается постепенная нормализация повышенного содержания Т-хелперов, Т-супрессоров и клеток с цитотоксической активностью. В условиях сопутствующей герпетической инфекции, для которой характерно подавление клеток — естественных киллеров, и, как следствие, бесконтрольной репликации ВПГ, НМГ, улучшая сосудистый кровоток и, тем самым, снижая застойные процессы в тканях организма, способствует подавлению размножения и распространения вируса и косвенно влияет на состояние иммунной системы при герпетической инфекции. Более раннее начало применения НМГ является максимально эффективным в нормализации параметров системы иммунитета у наблюдаемых больных.

Из других методов терапии, используемых при АФС, сообщается об эффективности плазмафереза, препаратов простациклина, фибринолитических препаратов, препаратов рыбьего жира у женщин с акушерской патологией. Также используется симптоматическая терапия, направленная на лечение плацентарной недостаточности у этой группы больных. Применяются: левамин внутривенно капельно, альвезин 400,0 мл через 2 дня 3—5 раз, курсы метаболической терапии, актовегин внутривенно в дозе 5 мл в 250,0—400,0 мл физраствора, всего 5 вливаний. Целесообразно применение эссенциале внутривенно или в капсулах, троксевазина в таблетках или внутривенно.

Методы специфического лечения герпетической инфекции у беременных весьма ограничены. Наиболее принятым на сегодняшний день способом ведения таких

больных во время беременности является принцип невмешательства. В отечественной практике рекомендуется лишь применение иммуноглобулинотерапии курсами в виде трехкратного внутривенного введения препарата по 25 мл через день (см. выше).

Помимо Ig-терапии в зарубежной литературе беременным с герпесом предлагается использовать специфическую химиотерапию (препараты ацикловира). Наряду со специфической терапией беременным с ГГ рекомендуется также проведение общеукрепляющей и симптоматической терапии (витамины — С, Е, В1, В12). При существенных изменениях иммунитета возможно применение некоторых иммуностимуляторов (спленина по 1 мл внутримышечно на курс — 10 инъекций или дибазола по 1 таблетке 2 раза в день по 4 дня с 3-хдневными перерывами — всего 4 курса).

В отечественной литературе к применению ацикловира во время беременности в основном относятся отрицательно, ссылаясь на токсичность и недостаточную изученность применения препарата у беременных и влияния его на плод. Однако в последние годы появились сообщения и в отечественной литературе о целесообразности назначения препарата перед родами (в дозе 200 мг 4 раза в день в течение 2-ух недель) беременным с наличием активных элементов в области родовых путей, а также беременным с бессимптомным выделением вируса, что снижает инфицированность ВПГ в 10 раз, предотвращает развитие неонатального герпеса и позволяет отказаться от операции кесарева сечения, если она выполняется по одному только этому показанию. Применение ацикловира показано также при преждевременных родах и длительном безводном промежутке (более 6 часов).

Особенности ведения родов и послеродового периода у больных с ГВИ и тромбофилиями

Что касается акушерской тактики при ГГ, то большинство авторов рекомендуют проводить кесарево сечение всем беременным, у которых ВПГ выделяется из половых путей или имеются активные элементы герпеса в области половых путей в последние недели беременности и накануне родов, при условии, что время после разрыва плодного пузыря, если такое произошло, не превысил 4—6 часов. Одни авторы ограничивают показания к кесареву сечению, другие — расширяют их. Все зависит от степени трансмиссии вируса от матери к плоду, а это связано со стадией герпетического процесса. Так, первичное инфицирование герпесом во время беременности, особенно на поздних сроках, представляет высочайший риск инфицирования плода, и, по всей видимости, должно служить абсолютным показанием для родоразрешения путем кесарева сечения. Также высок риск неонатального заражения герпесом при проявлении клинических симптомов герпеса впервые на последнем месяце беременности, даже если это и не истинно первичная форма инфекции, а эпизод рецидивирующего герпеса, ранее протекавшего латентно. Родоразрешение в этом случае следует проводить путем операции кесарева сечения и, если возможно, до разрыва плодных оболочек. Если же проведение кесарева сечения по каким-либо причинам невозможно или имеется длительный безводный промежуток, то необходимо назначить ацикловир. Некоторые авторы считают, что применение ацикловира у беременных даже с первичным заражением ГГ во время беременности позволяет избежать операции кесарева сечения.

При рецидивирующем герпесе риск развития неонатальной инфекции составляет 0,01—5%. В этом случае вопрос о кесаревом сечении может стоять лишь при наличии высыпаний герпеса на последней неделе беременности и во время родов. Известно, что почти 70% случаев инфицирования новорожденных происходит от матерей с бессимптомным выделением вируса. Поэтому выше описанное применение ацикловира перед родами можно считать оптимальным, что снижает частоту осложнений и оперативных родоразрешений. Рекомендуется избегать применения травмирующих кожу плода манипуляций в родах и проводить обработку половых путей раствором полудана во время влагалищных исследований.

Внутриутробное инфицирование ВПГ-инфекцией происходит чаще при развитии АФС (10% по сравнению с 0,4—8% у беременных с ГГ без АФС), что, по-видимому, связано с усилением репликации и облегчением трансплацентарной трансмиссии вируса на фоне повышенного тромбообразования и стаза крови в условиях АФС.

Ведение послеродового периода у больных ГГ и АФС сводится к следующему.

1. Обязательное исследование гемостаза накануне родов и на 2—3 сутки после родов с целью раннего выявления тромбофилии и ДВС-синдрома.

2. Назначение гепаринотерапии в профилактических дозах всем родильницам с ГГ и АФС даже на фоне умеренных или незначительных изменений гемостаза и в лечебных дозах родильницам с развитием тромбофилии, ДВС-синдрома или тромбозов различной локализации как минимум в течение 10—14 дней послеродового периода.

3. С целью профилактики инфекционно-воспалительных осложнений в послеродовом периоде на фоне высокого инфекционного индекса и характерной для герпетической инфекции иммуносупрессии, а также характерного для АФС повышенного тромбообразования назначение антибиотиков широкого спектра действия в профилактических дозах в течение 3—5—7 дней послеродового периода.

Особенности ухода за новорожденными от матерей с ГВИ и тромбофилиями

Герпетическая инфекция новорожденных клинически может проявляться в следующем:

- Поражения кожи и слизистых оболочек, являющаяся наиболее частой и легкой протекающей формой заболевания;
- Поражение ЦНС с развитием герпетического энцефалита, для которого характерны судороги, снижение аппетита, вялость, лихорадка. Летальность в отсутствие лечения достигает 50%;
- Развитие диссеминированных форм инфекции с поражением паренхиматозных органов, легких, надпочечников, кожи. Летальность в отсутствие терапии достигает 90%.

Тяжесть проявлений внутриутробной герпетической инфекции у новорожденного зависит от проведения иммуностимулирующей и специфической противовирусной терапии во время беременности у матери, направленной на увеличение иммунного ответа у плода и снижение репликации вируса, а также терапии, направленной на снижение тромбообразования и улучшения реологических свойств крови (антикоагулянты и антиагреганты), о чем свидетельствует отсутствие тяжелых и диссеминированных форм герпеса у инфицированных новорожденных от матерей с ГГ и АФС, получавших выше указанную терапию во время беременности.

Мы проводили наблюдение за новорожденными в течение 6 месяцев после родов (инкубационный период интранатальной герпетической инфекции длится до 3—4 недель). Однако в нашем наблюдении не было диагностировано ни одного случая интранатального инфицирования, что связано с применением ацикловира в родах у всех больных ГГ, за исключением родивших преждевременно. Важным явилось также сокращение к минимуму влагилицных исследований с использованием раствора полудана, исключение травмирующих кожу плода манипуляций в родах и расширение показаний к кесареву сечению в случае преждевременного излития вод у беременных с ГГ.

Сразу после рождения необходимо взять пуповинную кровь плода для исследования на антиген и антитела к ВПГ и сравнить с таковым титром у матери. Повышенный титр IgG к ВПГ у плода по сравнению с матерью, или выявление IgM к ВПГ, свидетельствует о в/у инфицировании плода. С целью исключения интранатального инфицирования необходимо исследовать слюну и слезную жидкость на антиген ВПГ спустя 2—3 суток после родов и повторить анализ с дополнительным

исследованием мочи и, по-возможности крови, через 2—3 недели при отрицательном его результате.

Дальнейшее наблюдение за новорожденными с признаками инфицирования и без таковых является чрезвычайно важным для предотвращения дальнейших осложнений ВПГ-инфекции. В комплекс обязательных диагностических мероприятий входит нейросонография головного мозга в динамике, УЗИ внутренних органов, консультации невропатолога и окулиста.

При появлении симптомов ВПГ-инфекции в позднем послеродовом периоде (которые могут появиться и спустя несколько месяцев после родов, но чаще в первые 2 недели постнатального периода), к которым помимо характерных кожных проявлений, относятся нервно-мышечные нарушения, повышенная сонливость или гипервозбудимость ребенка, отказ от еды, повышение температуры тела, необходимо немедленное исследование крови на антиген и антитела к ВПГ и параллельное назначение ацикловира внутривенно в дозе 5 мг/кг 3 раза в сутки в течение 5/10 дней или per os в дозе 100 мг (1/2 таблетки) 5 раз в день в течение 5 дней в зависимости от тяжести заболевания. При в/в введении ампулу с препаратом (250 мг) разводят в 50 мл изотонического раствора натрия хлорида и вводят капельно медленно.

Особенно важным является грудное вскармливание новорожденных с признаками или риском развития неонатальной герпетической инфекции. Исключение составляют родильницы с высыпаниями герпеса в области сосков, и, по-видимому, родильницы с первичной герпетической инфекцией во время беременности незадолго до родов и интактности новорожденного, вследствие того, что такие женщины не успевают сформировать специфический противовирусный иммунитет и передать плоду достаточное количество противогерпетических антител (IgG) к моменту родов. Поэтому для них остается возможным инфицировать новорожденного через грудное молоко, хотя этот вопрос еще требует дальнейшего исследования.

Клиническая фармакология препаратов, применяемых у беременных с ГВИ и тромбофилиями

НМГ (фраксипарин (Sanofi, Франция), фрагмин, клексан) в настоящее время является препаратом выбора при лечении различных тромбозмобических осложнений АФС, в том числе и во время беременности. Фраксипарин (надропарин), хоть и является НМГ (молекулярная масса=4855 Дальтон), не проникает через плаценту и, т.о., не влияет на плод. Кроме того, он практически лишен многих побочных эффектов гепарина, таких как кровотечение, тромбоцитопения вследствие внутрисосудистой агрегации тромбоцитов, «рикошетные» тромбозы, остеопороз, повышение печеночных ферментов в сыворотке крови, гипоальдостеронизм, аллергические реакции, гепарининдуцированные некрозы кожи вследствие несколько иного механизма действия:

1. При взаимодействии с АТ-III он характеризуется выраженной активностью в отношении фактора Ха и слабой активностью в инаktivации тромбина. Анти-Ха активность НМГ более выражена, чем их влияние на АЧТВ, что отличает их от стандартного гепарина. Уровень анти-Ха/IIa у фраксипарина=3,2:1. Это связано с тем, что молекулы гепарина, содержащие менее 18 сахаридов, не способны связываться одновременно и с тромбином, и с АТ-III и, как результат, не способны катализировать процесс ингибирования тромбина. Т.о. НМГ не вызывают гипокоагуляции.

2. НМГ меньше связывается с различными белками плазмы, что обеспечивает их более предсказуемый антикоагулянтный ответ и высокую биодоступность (более 90% при подкожном введении).

3. Кроме того, НМГ действуют на ингибитор тканевого пути свертывания (TFPI), способствуя его высвобождению, т.е. воздействуют и на внешний путь свертывания крови, что обеспечивает 70% его активности. Наряду со способностью незначительно связываться с макрофагами и клетками эндотелия это обеспечивает больший период выведения и пролонгированное действие.

4. НМГ способствуют активации фибринолиза путем высвобождения из эндотелия тканевого активатора плазминогена (t-PA).

5. Как и гепарин НМГ связываются с гепарин-кофактором II (непосредственное воздействие на тромбин) и подавляют прокоагулянтную активность лейкоцитов, что значительно усиливает его антикоагулянтное действие.

6. НМГ оказывает ингибирующий эффект на АДФ-, коллаген- и ристомидин-агрегацию тромбоцитов вследствие воздействия на эндотелий.

Все это объясняет более высокую эффективность НМГ по сравнению с нефракционированным гепарином (НФГ).

7. НМГ практически не взаимодействуют с F4 тромбоцитов, что объясняет низкую частоту иммунной тромбоцитопении — самого опасного осложнения гепаринотерапии, развивающегося, как правило, на 3—5 день лечения. Это приводит к необратимой агрегации тромбоцитов, следствием чего является тромбоцитопения и тромбозы.

8. Меньшая связывающая способность НМГ с vWF объясняет более низкий процент кровотечений, не связанных с тромбоцитической тромбоцитопенией.

9. НМГ меньше связываются с остеобластами, меньше активируют остеокласты и, поэтому, не вызывают остеопороза.

10. Фраксипарин вводится 1 раз в сутки и обладает пролонгированным действием. Доза его в 3 раза меньше, чем гепарина, поэтому нет опасности снижения уровня АТ-III, т.е. нет опасности рикошетной гиперкоагуляции вследствие быстрого удаления из циркуляции комплексов ТАТ (тромбин-антитромбин).

Т.к. во время беременности, послеродовом и послеоперационном периодах, при инфекционной патологии, гнойно-септических заболеваниях, АФС при развитии тромбоза огромную роль играет, а иногда и преобладает, активация внешнего пути свертывания крови (через выделение TF), то преимущественное воздействие НМГ на этот путь через активацию TFPI обеспечивает его терапевтический эффект на развивающиеся при этих состояниях эндотелиальные повреждения и делают его препаратом выбора при лечении больных с герпетической инфекцией и АФС. Вообще при АФС НМГ влияют именно на те пути нарушения системы гемостаза, которые характерны для этого синдрома и связаны с повреждением эндотелия, а именно на нарушение активации и действия протеина С, высвобождения АТ-III, TFPI, простациклина и т.д.

Противопоказаниями к применению фраксипарина являются повышенная чувствительность к препарату в виде аллергических реакций, тромбоцитопения с положительным тестом агрегации *in vitro* в присутствии фраксипарина, острый бактериальный эндокардит, кровоизлияние в головной мозг, органические заболевания с потенциальной возможностью развития кровотечения, прогрессирующая дуоденальная язва. Не рекомендуется сочетание фраксипарина с аспирином и другими антиагрегантами, декстранами и непрямыми антикоагулянтами вследствие потенцирования действия фраксипарина.

Ацикловир (коммерческое название — зовиракс, виroleкс, лизавир) — синтетический ациклический аналог гуанозина (ациклогуанозин) был синтезирован на британской фирме Wellcom Foundation (Великобритания) в 1974 году и с тех пор является препаратом первостепенной важности в лечении герпетической инфекции человека. Дело в том, что гуанозин является одним из самых частых концевых и внутренних нуклеозидов ДНК герпесвирусов. При попадании ацикловира в инфицированный ВПГ организм происходит следующее:

1. Ацикловир вследствие своей повышенной тропности к ферментам герпесвирусов в большой концентрации попадает именно в инфицированные клетки, и в минимальной концентрации — в другие клетки организма, что обуславливает его низкую токсичность мутагенность и тератогенность.

2. После попадания в клетку происходит связывание тимидинкиназы ВПГ (гуанилаткиназа) с ацикловиром с образованием фосфорилированной формы ацикловира. Для сравнения: в неинфицированной клетке содержание его составляет менее 1%.

3. Далее происходит дальнейшее фосфорилирование ацикловира путем связывания с клеточной тимидинкиназой.

4. Вирусная ДНК-полимераза заканчивает процесс, встраивая этот псевдонуклеозид в цепи вновь строящихся ДНК дочерних вирусных частиц.

5. Применение ацикловира эффективно на любом этапе развития инфекционного процесса. В связи с тем, что ацикловир не имеет в своем составе 3-гидроксильной группы, свойственной для его аналога — гуанозина, и необходимой для присоединения к нему последующего нуклеозида для сборки цепи вириона, этот процесс обрывается в самом начале: сборка цепи останавливается, и дочерние ДНК не синтезируются. Если же поступление ацикловира в организм происходит не в самом начале развития инфекции (первые 2 суток от начала заболевания или рецидива его), он встраивается в состав в состав других фрагментов ДНК дочерних герпесвирусов. При этом формируются неполноценные вирионы, не способные к самостоятельной репликации.

Эффективность применения ацикловира чрезвычайно высока. Для инфекции, вызванной ВПГ, она составляет 75—90%. Применяется препарат как перорально, так и внутривенно. Рекомендуемые дозы *per os* в случае острой инфекции составляют 200 мг (1 таблетка) 5 раз в день на протяжении 5 дней. Внутривенно препарат применяется при тяжелых инфекциях и у больных с нарушениями в системе иммунитета в дозе 5—10 мг/кг 3 раза в сутки на протяжении 5—10 дней. Далее возможен прием поддерживающих доз: по 1 таблетке от 2 до 4 раз в день в зависимости от тяжести инфекции и длительности предполагаемой терапии. Беременным перед родами рекомендуется профилактический прием препарата в дозе 200 мг 3—4 раза в день за 10—14 дней до предполагаемого срока родоразрешения. В случае развития острой инфекции дозы соответствуют таковым у небеременных. При тяжелых формах инфекции с наличием сопутствующего иммунодефицита возможен парентеральный путь введения ацикловира.

Побочные эффекты при применении ацикловира чрезвычайно редки и заключаются в появлении гастроинтестинальных нарушений, головной боли, кожных аллергических реакций, повышенной утомляемости, а при в/в применении, кроме того, в увеличении содержания мочевины, креатинина и билирубина в сыворотке крови, повышении активности ферментов печени. Противопоказанием к применению служит индивидуальная непереносимость препарата.

В последние годы увеличивается количество больных, резистентных к приему ацикловира (около 5—10% популяции), что может быть объяснено 3 способами:

1. генетической мутацией тимидинкиназы некоторых штаммов герпесвирусов;
2. недостаточной выработкой тимидинкиназы герпесвирусами, которая встречается наиболее часто;
3. мутацией ДНК-полимеразы некоторых штаммов герпесвирусов.

Поэтому с целью повышения биодоступности были созданы новые препараты на основе ацикловира, среди которых безусловным лидером является валацикловир (валтрекс) (Wellcom Foundation, Великобритания) — L-валиловый эфир ацикловира. Биодоступность этого препарата увеличена в несколько раз в результате наличия эфировой надстройки в его составе, обеспечивающей ему высокий уровень всасываемости при приеме *per os*. Механизм действия валтрекса отличается от ацикловира только на 1 этапе, когда происходит его гидролиз под действием валацикловир-гидролазы кишечника с превращением в ацикловир. Валтрекс применяется 2 раза в день *per os* в дозе 500 мг (1 таблетка) в течение 5 дней. Поддерживающие дозы составляют 500 мг в день однократно длительно. Беременным женщинам прием валтрекса противопоказан в связи с отсутствием рандомизированных исследований по применению препарата с оценкой его безопасности и атоксичности. Однако уже существует опыт его применения у беременных, резистентных к действию ацикловира, накануне родов с целью предотвращения интранатального инфицирования плода. При этом рекомендуются поддерживающие дозы по 500 мг 1 раз в сутки за 10 дней до предполагаемого срока родоразрешения.

Еще одним важным препаратом, используемом при лечении беременных с герпетической инфекцией и АФС, как указывалось выше, является иммуноглобулин для в/в введения. Проведенные исследования показали его высокую эффективность в подавлении тяжести герпетической инфекции и активности АФС у наблюдаемых больных. Препарат вводится от 3 до 6 раз за беременность (1—2 раза в триместр) курсами по 3 в/в капельных введения через день в дозе 25 мл. Увеличение числа курсов до 6 раз рекомендуется больным с тяжелым течением ГГ на фоне диагностированной иммуносупрессии, а также больным, получавшим ГК-терапию на протяжении всей беременности. После проведения курса Ig-терапии у большинства больных отмечается улучшение общего состояния, исчезновение угрозы прерывания беременности, нормализация показателей ФПК. Это связано со стимулирующим влиянием Ig на компенсаторно-приспособительные возможности плаценты в результате частичной нейтрализации цитопатогенной вирусной активности. Известно, что Ig способен вызывать агглютинацию и преципитацию патогенных возбудителей, нейтрализовать токсины, усиливать фагоцитарную активность макрофагов, что было подтверждено морфологическим исследованием последов от родильниц с ГГ, леченых и не леченых препаратами Ig. Отсутствие проведенной Ig-терапии приводило к более развернутой морфологической картине поражения последа, что оказало неблагоприятное влияние на течение беременности и состояние плода. Другим важным свойством в/в Ig является способность связывать аутоантитела, содержащиеся в крови беременных с АФС. Многочисленные исследования в этой области подтвердили роль в/в Ig в купировании симптомов ФПН у беременных с АФС.

Помимо Ig-терапии мы проводили иммуностимулирующую терапию у пациенток с частыми и тяжелыми обострениями ГГ на фоне лабораторно диагностированного иммунодефицита. Мы использовали спленин по 1 мл внутримышечно в течение 10—14 дней, дибазол по 1/2 таблетки 2 раза в день курсами по 4 дня с трехдневным перерывом в течение 4 недель, ректальные свечи с реафероном или вифероном по 1 свече 500 тыс. ЕД на ночь в течение 20—30 дней или по 1 свече по 500 тыс. ЕД 2 раза в день в течение 10 дней, влагалищные тампоны с раствором полудана по 1 тампону на ночь в течение 10—20 дней, КИП — по 1 свече на ночь per vaginam в течение 20 дней. Как правило, иммуностимуляторы назначались в комплексе с метаболической терапией: аскорбиновая кислота 5% 5 мл внутримышечно 1 раз в сутки № 10, витамин Е по 1 капсуле 2 раза в день — 10 дней, эссенциале по 1 капсуле 3 раза в день 10—14 дней и метионин по 1 драже 3 раза в день — 10 дней. Интересным и перспективным является использование энзимотерапии у беременных с ГГ и АФС.

Полудан — является синтетическим индуктором ИФН. Он давно применяется в клинике глазных болезней в виде глазных капель и инъекций в подконъюнктивальный мешок при лечении офтальмогерпеса и других вирусных заболеваний глаз. Сейчас доказана его высокая эффективность и при применении в случае других форм герпетической инфекции. Мы рекомендовали его применение в родах в виде орошений и обработки рук акушеров при влагалищных осмотрах. Для приготовления раствора необходимо растворить препарат в следующей пропорции: 400 мкг (2 флакона) в 10 мл дистиллированной воды.

За последние годы в отечественной и зарубежной литературе появились данные о положительном влиянии вобэнзима на течение как хронической вирусной инфекции, так и различных аутоиммунных нарушений в связи с его противовоспалительным, иммуномодулирующим и фибринолитическим действием, а также способностью расщеплять и элиминировать из организма патологические иммунные комплексы. При развитии тромбофилических состояний препарат вобэнзим способен растворять фибриноидные наложения на стенках сосудов и восстанавливать периферический кровоток. При назначении вобэнзима на фоне основной проводимой терапии наблюдаемым больным на любом сроке беременности в дозе 5 драже 3 раза в день (за 1 час до еды) в течение 2—3 недель нами было отмечено снижение тяжести и частоты рецидивов ГГ на 30—35%, улучшение параметров

иммунограмм в виде нормализации иммунорегуляторного индекса и гемостазиограмм в виде уменьшения гиперкоагуляции и снижения концентрации маркеров тромбофилии в сыворотке крови по сравнению с беременными, не получавшими этот препарат.

Практические рекомендации

1. Всем беременным или планирующим беременность больным герпетической инфекцией показано обязательное обследование на выявление ВА и/или АФА в виду высокой угрозы развития у них АФС.

2. Беременных с герпетической инфекцией следует относить к группе высокого риска по перинатальным потерям, развитию различных осложнений гестационного процесса, родов, послеродового периода и в/у инфицированию плода ВПГ-инфекцией, поэтому при выявлении у них АФС, а также при его отсутствии на данный момент времени (отрицательные значения ВА и АФЛ-АТ) вне зависимости от наличия клинической картины АФС в анамнезе или в настоящей беременности рекомендуется проводить динамическое наблюдение за беременной с исследованием системы гемостаза с повторным определением ВА, системы иммунитета с повторным обследованием на наличие АФЛ-АТ (при их отсутствии при первом обращении) и состояния ФПК, включающее контроль гормонопродуцирующей функции плаценты, УЗИ-, доплер- и КТГ-контроль.

3. Беременным с ГГ и АФС следует назначать патогенетическую терапию с самых ранних сроков беременности, даже при отсутствии у них клинической картины АФС, которая в зависимости от состояния системы гемостаза должна включать:

а) фраксипарин, который в зависимости от степени выраженности тромбофилического состояния, назначается постоянно или курсами по 10—14 инъекций 1—3 раза в триместр. Профилактические дозы фраксипарина в зависимости от массы тела женщины составляют: 0,3 мл — при весе до 50 кг; 0,4 мл — при весе от 50 до 70 кг; 0,6 мл — при весе более 70 кг. Фраксипарин вводится 1 раз в сутки подкожно в окологруничную область. Контроль эффективности его введения осуществлялся 1 раз в 3—4 недели, или после курса его применения. Терапия считается эффективной при исчезновении всех исследуемых маркеров тромбофилии.

б) антиагреганты вне применения фраксипарина и при выраженной агрегации тромбоцитов: аспирин 81 мг 1 раз в 24—48 часов; трентал 0,1 г 3 раза в сутки; курантил 150—250 мг в сутки; теоникол 0,1—0,7 мг 3 раза в сутки; реополиглюкин 400,0 в/в капельно через 24—48 часов 3—5 раз. Терапию следует начинать с 6—8 недель беременности под контролем функции тромбоцитов 1 раз в неделю. Терапия считается эффективной при снижении агрегации тромбоцитов до 30—40%.

в) переливания свежезамороженной плазмы 400,0 в/в с последующим введением низких доз гепарина или профилактических доз НМГ при прогрессировании ДВС-синдрома с развитием коагулопатии потребления.

4. ГК-терапия должна быть относительно противопоказана беременным с герпетической инфекцией и АФС и назначаться лишь при наличии строгих показаний к ее применению: системных и тяжелых аутоиммунных заболеваний (СКВ, ревматоидный артрит).

5. Терапия герпетической инфекции у больных с ГГ и АФС во время беременности должна обязательно включать в себя:

а) назначение в/в Ig в дозе 25 мл через день №3 на 1 курс, всего — минимально 3 курса за беременность;

б) иммуностимулирующую терапию при частых рецидивах ГГ на фоне имеющегося иммунодефицита, включающую: спленин 1мл в/м — 10 дней, дибазол 0,02 г 2 раза/сутки по 4 дня с 3ех дневным перерывом в течение 4 недель, свечи с реафероном или вифероном per rectum по 1 свече 2 раза/сутки в течение 10 дней после 16 недель беременности; метаболическую терапию с применением

аскорбиновой кислоты 10% 5 мл в/м 1 раз/сутки, эссенциале по 1 капсуле 3 раза в сутки, витамина Е по 1 капсуле 3 раза/сутки в течение 7—10 дней и вобэнзим по 3 драже 3 раза в сутки в течение 2—3 недель на 1 курс;

в) препараты ацикловира (виroleкс, лизавир) в дозе 200 мг 4 раза/сутки за 10—14 дней до срока родоразрешения, а также в случае преждевременного разрыва плодного пузыря и подтекания околоплодных вод;

г) местное лечение в области высыпания ГГ в виде аппликаций 5% крема виroleкс 4—5 раз/сутки и раствора полудана 1 раз/сутки № 10;

6. При развитии ФПН показано применение симптоматических средств, улучшающих маточно-плацентарный кровоток, включающих альвезин 400,0 в\в капельно 1 раз в 3 дня №3—5, но-шпу 2,0 в/м 2—3 раза/сутки — 7—10 дней, эуфиллин 0,15 г 2—3 раза/сутки — 7—10 дней.

7. Родоразрешение больных с рецидивирующим ГГ и АФС следует проводить через естественные родовые пути при отсутствии противопоказаний на фоне приема профилактических доз ацикловира и обработки родовых путей раствором полудана. Специфическими показаниями к операции кесарева сечения у таких больных являются наличие активных герпетических высыпаний в области родовых путей во время или непосредственно накануне родов и преждевременный разрыв плодного пузыря с отсутствием регулярной родовой деятельности в течение более 6 часов после его разрыва на фоне выявления ВПГ в мазках или указания на рецидивы ГГ в конце беременности. В родах необходимо избегать травмирующих кожу плода манипуляций. При прогрессировании ДВС-синдрома с развитием коагулопатии потреблению больным с ГГ и АФС в родах следует применять свежемороженную плазму, реополиглюкин и гепарин. После родов необходимо проводить исследование пуповинной крови плода на наличие герпетической инфекции (в/у инфицирования) с определением титра специфических противогерпетических антител и сравнить с таковыми у родильницы. Послеродово рекомендуется подвергать специальному морфовирусологическому исследованию с целью составления прогноза о возможности в/у инфицирования плода.

8. В послеродовом периоде всем без исключения больным ГГ и АФС рекомендуется назначение профилактических доз НМГ в течение 10—14 дней после родов под контролем гемостаза. Целесообразным следует также считать профилактическое назначение антибиотиков широкого спектра действия в течение 5—7 дней послеродового периода. Состояние новорожденного следует контролировать в течение 5—6 недель после родов (времени инкубационного периода возможного интранатального ВПГ-инфицирования) с обязательной консультацией невропатолога и проведением нейросонографии головного мозга плода.

Итак, благодаря развитию гемостазиологии в последнее время стало возможным исследовать и диагностировать различные нарушения системы гемостаза. Роль патологии гемостаза во время беременности нельзя недооценивать. Исполволь развивающиеся тромбозы в системе микроциркуляции фетоплацентарного комплекса в конечном итоге приводят к выраженному тромбированию плаценты, потери беременности, различным осложнениям гестационного процесса (в/у гипоксия и синдром задержки развития плода, гестозы и др.). При этом роль хронической вирусной инфекции чрезвычайно велика. Проведя многочисленные исследования, мы доказали, что рецидивирующий герпес вызывает развитие тромбофилических состояний как путем непосредственного влияния на гемостаз, так и опосредованно — через развитие аутоиммунных состояний, в т.ч. — антифосфолипидного синдрома. Это значительно облегчило понимание проблемы патологии беременности при герпетической инфекции и помогло обосновать патогенез синдрома потери плода при герпесе. Вызываемый вирусной инфекцией тромбоз сосудов плаценты способствует ее более легкому распространению, а изменения иммунной системы приводят к развитию аутоиммунного состояния в организме беременной, и, как следствие, к тромбозу. Это составляет основу порочного круга патогенеза синдрома потери плода у беременных с рецидивирующей герпети-

ческой инфекцией. Кроме того, тромбофилия угрожает и непосредственно жизни и здоровью беременных, рожениц и родильниц с ГВИ, у которых велик риск развития тромбозов различных локализаций. Поэтому в сохранении беременности и профилактике материнской заболеваемости и смертности у больных герпетической инфекцией огромную роль имеет проводимая во время беременности антитромботическая и противовирусная терапия.

При ведении беременности у больных генитальным герпесом мы рекомендуем использовать алгоритм обследования и лечения, разработанный на кафедре акушерства и гинекологии МПФ ММА. Помимо контроля за развитием герпетической инфекцией важным является исследование системы гемостаза сразу при взятии беременной на учет и в дальнейшем неоднократно на протяжении беременности. Другими важными методами исследования состояния ФПК являются УЗ-контроль, доплерометрия сосудов плаценты, КТГ плода на поздних сроках беременности, а также исследование параметров иммунной системы и определение титра противогерпетических антител, отражающих течение ВПГ-инфекции.

В качестве противотромботической терапии при выявлении нарушений в системе гемостаза и состоянии ФПК препаратом выбора являются низкомолекулярные гепарины (например, фраксипарин), хорошо зарекомендовавшие себя при назначении беременным с патологией гемостаза. Благодаря их применению сегодня стало возможным сохранение беременности и рождение здоровых детей без признаков ВПГ-инфекции у 100% больных, получающих его во время беременности. Безопасность для плода, удобство в применении и контроле, отсутствие побочных эффектов — вот неполный список достоинств этих препаратов.

В заключение приводим 2 клинических примера.

Пример 1.

Беременная С., 25 лет.

Диагноз при поступлении: Беременность 5–6 недель. Рецидивирующий ГГ в стадии ремиссии. Отягощенный акушерский анамнез (1 самопроизвольный выкидыш, 1 неразвивающаяся беременность).

Из анамнеза: детские инфекции, ОРВИ, пневмония, цистит, аллергическая реакция в виде полиноза на различные растения.

Наследственность отягощена по линии матери артериальной гипертонией и варикозным расширением вен, по линии отца — раком матки у бабушки и сахарным диабетом у деда.

Акушерско-гинекологический анамнез:

Menses с 12 лет, установились сразу, через 30, по 5 дней, безболезненные, умеренные. Перенесенные гинекологические заболевания — аменорея в течение 1 года на фоне длительного голодания в 1992 году, микоплазменная инфекция в 1995 году. Беременностей было 2: I — закончилась с/в на сроке 8–9 недель в 1995 году, II — неразвивающаяся беременность на сроке 7–8 недель в 1997 году.

От настоящей беременности предохранялась тризистоном в течение 1 года. Беременность наступила через 3 месяца после отмены контрацептива. Дата последней менструации — 8.10.1998 года.

Генитальным герпесом страдает 5 лет, у супруга — ГГ в течение 7 лет. Первые 3 года отмечала рецидивы на фоне менструации (ежемесячно). Последнее время рецидивы стали реже — 3–4 раза в год, длительностью 4–5 дней. Вид проявления — типичная форма ГГ без системных проявлений. После II неудачной беременности больной была проведена комплексная терапия, направленная на подавление активности герпетической инфекции, включая 1 курс противогерпетической вакцинации в августе 1998 года.

С момента обращения к нам больной было проведено полное клинико-лабораторное обследование. При общем клинико-лабораторном обследовании отклонений от нормы в работе внутренних органов, а также в данных лабораторных исследований выявлено не было. При проведении ДНК-диагностики ВПГ и ЦМВ-

инфекции в соскобах в из половых путей был обнаружен ВПГ II типа, а в осадке мочи — ЦМВ методом ГЦР. При этом титр противовирусных антител класса IgG в крови, определяемый с помощью ИФА, составлял 1:3200 к ВПГ и ЦМВ, антитела класса IgM отсутствовали. Исследование иммунного статуса беременной при первичном обращении выявило отклонения от нормы в виде увеличения уровня CD3+-клеток до 77% ($1,8 \times 10^9/\text{л}$), CD4+-клеток — до 50% ($1,2 \times 10^9/\text{л}$), СВ8+-лимфоцитов — до 29% ($0,7 \times 10^9/\text{л}$), что привело к снижению иммунорегуляторного индекса до 1,8 и соответствовало нижней границе нормы. Уровень МК-клеток и В-лимфоцитов также был невысок — 10% ($0,2 \times 10^9/\text{л}$) и 7% ($0,15 \times 10^9/\text{л}$), что соответствует нижней границе нормы. При этом количество продуцируемых IgG и IgM было высоким — 2030 мг% и 190 мг% соответственно. Нами было проведено обследование больной на наличие АФС. Методом ELISA были обнаружены АТ класса IgG ко всему спектру ФЛ в количественном определении «положительно» и класса IgM в количественном определении «слабоположительно».

При первичном исследовании гемостаза параметры гемостазиограммы были следующими:

ABP=70 сек, AЧТВ=30 сек, ПИ=100%, ТЭГ= 16мм/ 56мм/ 25у.е., количество тромбоцитов= $230 \times 10^9/\text{л}$, максимальная агрегация тромбоцитов с АДФ $1 \times 10^{-3} \text{M}=50\%$ с АДФ $1 \times 10^{-5} \text{M}=47\%$, с коллагеном=49%, с адреналином=53%, с ристомицином=44%, концентрация АТ-III=0,316 г/л, активность АТ-III=82%, активность протеина С=92%, активность плазминогена=110%, время лизиса эуглобулинового сгустка=275 мин, содержание L2-МТ=2,9 г/л, ПДФ определялись в количестве до 2×10^{-3} г/л, Д-димер был отрицательный, концентрации ТАТ и F1+2 соответственно составили $7,0 \times 10^{-6}$ г/л и 1,4 нмоль/л, ВА был слабopоложительным при определении методами АВР и dRRТ с подтверждающей и коррекционной пробами.

Исследование гормоносинтетической функции плаценты не выявило каких-либо отклонений от нормы. Уровень 17-КС также был нормальным, анти-ХГЧ-АТ не определялись. При УЗИ был обнаружен выраженный гипертонус миометрия с незначительной деформацией плодного яйца. Размеры плодного яйца соответствовали сроку гестации, СБ+.

Таким образом, на фоне хронической рецидивирующей инфекции длительностью 5 лет у больной, не страдающей какими-либо другими хроническими и системными заболеваниями внутренних и половых органов, развился АФС, подтвержденный лабораторными исследованиями и данными анамнеза. Исследование гемостаза указывало на наличие гиперкоагуляции, не соответствующей гестационному сроку (ИТП=25 у.е.), повышенной активности тромбоцитов (агрегация на верхней границе нормы), некоторое снижение активности антикоагулянтной (АТ-III=82% и протеин С=92%) и фибринолитической систем (время лизиса эуглобулинового сгустка=275 минут) и незначительную активацию внутрисосудистого свертывания крови (ТАТ= $7,0 \times 10^{-6}$ г/л), а исследование иммунной системы — на наличие изменений, характерных для аутоиммунного процесса в виде повышения CD4+ и CD8+-субпопуляций лимфоцитов, что привело к потерям беременностей в анамнезе и развитию угрозы прерывания настоящей беременности. В виду отсутствия противопоказаний к гепаринотерапии, больной было назначено введение фраксипарина на курсами по 15 инъекций в дозе 0,3 мл п/к с 6 недель гестации. Всего за беременность было проведено 8 таких курсов гепаринопрофилактики тромбофилического состояния под контролем гемостаза. Последний курс фраксипарина был закончен в 36 недель беременности. Помимо этого больной был назначен в/в Ig в дозе 25 мл №3 на курс, всего — 3 курса за беременность. На фоне назначенного лечения беременность протекала без серьезных осложнений, что было подтверждено исследованием гормоносинтетической функции плаценты, УЗИ-, доплер- и КТГ-контролем. Во II триместре при УЗИ было зарегистрировано увеличение толщины плаценты до 4 см, которая уменьшилась после очередного курса введения НМГ и в/в Ig, и, поэтому, было расценено нами как развитие защитно-приспо-

собоительного отека плаценты на фоне рецидива ГГ на этом сроке беременности. В конце III триместра при УЗИ было выявлено умеренное маловодие. За время беременности больная отметила лишь 1 рецидив ГГ в 22 недели. Самочувствие больной оставалось хорошим, побочных реакций и осложнений на введение лекарственных препаратов она не отмечала. После последнего курса НМГ нами также было проведено исследование гемостаза и иммунной системы и получены следующие показатели: АВР=73 сек, А4ТВ=34 сек, ПИ=103%, ТЭГ= 19 мм/ 53 мм/ 22 у.е., количество тромбоцитов=315x10⁹/л, агрегация тромбоцитов в пределах 35–40% со всеми предложенными индукторами, концентрация АТ- III =0,340 г/л, активность АТ- III =100%, активность протеина С=125%, время лизиса эуглобулинового сгустка=220 минут, ВА отрицательный, маркеры тромбофилии не определялись. Количество CD3+=65%, CD4+=40%, CD8+=23%, CD4+/CD8+=1,7, CD57+=5,2%, CD16+=12%, CD19-H=11%, IgG=1600Mr%, IgM=110Mr%, IgA=180Mr%, т.е. отклонений от нормы выявлено не было. Учитывая отрицательные результаты исследования мазков на ВПГ, на фоне приема ацикловира в дозе 200 мг 4 раза/сутки больная была родоразрешена через естественные родовые пути на 40 неделе беременности. Родился живой доношенный мальчик весом 3300 г, ростом 53 см, оцененный по шкале Ангар на 8–9 баллов без каких-либо пороков развития и признаков в/у инфицирования герпетической инфекцией. Исследование крови плода на предмет инфицирования ВПГ и ЦМВ было отрицательным. Роды и послеродовый период протекали без осложнений. В послеродовом периоде больной было проведено исследование гемостаза, и в связи с наличием гиперкоагуляции и гиперагрегации крови был назначен профилактический курс фраксипарина № 10 с 3 суток после родов. Также было проведено морфовирусологическое исследование последа. При макроскопическом исследовании послед был нормальной величины и цвета, с центральным прикреплением пуповины, с хорошо выраженными контиледонами. При микроскопическом исследовании была отмечена достаточная зрелость сосудов ворсин, хорошая васкуляризация. Широкое межворсинчатое пространство с немногочисленными синцитиокапиллярными узелками и незначительным отложением фибриноида. В краевых зонах были найдены небольшие участки тромбозов и инфарктов значительной давности. При иммуногистохимическом исследовании признаков вирусного поражения последа обнаружено не было.

Пример 2.

Беременная А., 26 лет.

Диагноз при поступлении: Беременность 10–11 недель. Угроза с/в. Рецидивирующий ГГ, типичная форма, в стадии обострения. Рецидивирующий лабиальный герпес в стадии ремиссии. Привычное невынашивание беременности (3 с/в в анамнезе).

Из анамнеза: детские инфекции, ОРВИ, ВСД по гипотоническому типу, острый пиелонефрит и острый цистит хламидийной этиологии в 1994 году. Хроническими заболеваниями внутренних органов и аллергическими реакциями не страдает.

Наследственность: отягощена по линии матери раком молочной железы у бабушки, по линии отца — инфарктом миокарда у деда и тромбоэмболией легочной артерии у дяди.

Акушерско-гинекологический анамнез: Menses с 12 лет, установились сразу, через 30 по 6 дней, обильные, болезненные. Нарушений менструальной функции с момента менархе не отмечала. Перенесенные гинекологические заболевания: эрозия шейки матки, хламидиоз в 1994 году. Беременностей было 3 в 1996, 1997 и 1998 годах. Все закончились с/в на сроках 6–7 и 8–9 недель. От беременности не предохраняется. Последняя менструация — 8.11.1998 года.

Генитальным герпесом страдает 4 года. Лабиальным герпесом больна с детства. Рецидивы ГГ до 5–6 раз в год, длительностью 3–4 дня, лабиального герпеса — 1–2 раза в год, на фоне простудных заболеваний. Проходила 2 курса терапии герпетической инфекции с включением герпетической вакцины.

До обращения к нам наблюдалась в консультации по месту жительства, где в связи с симптомами угрозы прерывания беременности ей была назначена гормональная терапия, включающая дюфастон в дозе 10 мг/сутки и преднизолон в дозе 5 мг/сутки. Нами было проведено полное клинико-лабораторное обследование больной. При осмотре обращала на себя внимание выраженная мраморность кожных покровов и варикозное расширение вен нижних конечностей. При ДНК-диагностике вирусной инфекции был обнаружен ВПГ II типа в соскобе из цервикального канала методом ПЦР. Титр противогерпетических АТ класса IgG составлял 1:6400, IgM не определялись. При изучении системы иммунитета были получены следующие показатели: CD3+=65% ($1,2 \times 10^9/\text{л}$), CD4+=42% ($0,7 \times 10^9/\text{л}$), CD8+=27% ($0,6 \times 10^9/\text{л}$), CD4+/CD8+=1,5, CD57+=5,5%, CD16+=9% ($0,18 \times 10^9/\text{л}$), CD19+=10% ($0,2 \times 10^9/\text{л}$), IgG=2115 мг%, IgM=195мг%, IgA=100мг%. Мы провели исследования, направленные на выявление АФС. При этой методикой ELISA были обнаружены АТ класса IgG и IgM ко всему спектру ФЛ, а методами АБР и dRRT с проведением коррекционной и подтверждающей проб был выявлен ВА. Параметры гемостаза при его исследовании были следующие: АБР=75 сек, АЧТВ=37 сек, ПИ=104%, ТЭГ=4 мм/61 мм/38 у.е., количество тромбоцитов= $210 \times 10^9/\text{л}$, максимальная агрегация тромбоцитов с АДФ $1 \times 10^{-3} \text{M}$ =59%, с АДФ $1 \times 10^{-5} \text{M}$ =52%, АДФ $1 \times 10^{-7} \text{M}$ =35%, с коллагеном=57%, с адреналином=60% и с ристомидином=46%, концентрация АТ-III=0,300 г/л, активность АТ-III=75%, активность протеина С=89%, время лизиса зуглобулинового сгустка=283 минуты, ГДФ определялись в количестве $(2-10) \times 10^{-3} \text{г/л}$, Д-димер в концентрации 0,2 мг/мл, ТАТ — $12 \times 10^{-6} \text{г/л}$, F1+2 — 1,4 нмоль/л. При изучении гормоно-синтетической функции плаценты значения всех исследуемых гормонов соответствовали нижней границе нормы. При УЗИ был выявлен выраженный гипертонус миометрия по передней и задней стенке матки с деформацией плодного яйца и наличием ретроплацентарной гематомы размерами 0,8х0,3 см. Размеры эмбриона соответствовали сроку гестации, СБ+.

Т.о. на основании данных выше приведенных исследований и данных анамнеза (3 с/в) мы сделали заключение о наличии у больной АФС, который на момент обращения уже протекал с осложнениями со стороны свертывающей системы крови в виде развития тромбофилического состояния. В системе иммунитета также произошло угнетение ее клеточного звена со снижением иммунорегуляторного показателя до 1,5 и количества НК-клеток ниже нормы, что является патогномичным для рецидивирующей герпетической инфекции. На момент обращения к нам больная уже перенесла 2 рецидива ГГ за время настоящей беременности. При этом уровень цитотоксических клеток был высок, что характерно для развившегося на фоне инфекции АФС. Учитывая выраженную гиперагрегацию тромбоцитов и наличие рецидива ГГ в момент обращения, мы начали терапию больной с назначения аспирина в дозе 81 мг 1 раз в 2 дня под контролем гемостаза и в/в введения Ig в дозе 25 мл №3. Дополнительно был назначен постельный режим, витаминотерапия, свечи с вифероном 150 тыс ЕД ректально №10, вобэнзим по 3 драже 3 раза в день и спазмолитики. Такая схема лечения была продолжена до 13 недель беременности, когда после контрольного исследования гемостаза и положительной динамики по данным УЗИ (организация ретроплацентарной гематомы), больной был отменен аспирин и назначен фраксипарин в дозе 0,6 мл п/к (вес беременной составлял 75 кг) курсами по 20 инъекций. Прием преднизолона был продолжен до 20 недель беременности с постепенным снижением дозы препарата. На фоне предложенного лечения беременность протекала удовлетворительно, не было отмечено каких-либо побочных реакций на введение лекарственных средств. Самочувствие больной было хорошее. Осложнениями беременности, выявленными при УЗИ, явилась угроза ее прерывания до 23 недель, плацентит в 20 недель, в/у гипотрофия плода I степени в 23 недели, которые исчезли после отмены ПС к 26—27 неделям, созревание плаценты и развитие маловодия в 34 недели беременности. Допплер- и КТГ-контроль не выявили каких-либо осложнений в состоянии ФПК в

течение беременности. За все время гестационного процесса больная перенесла 3 рецидива ГГ и 1 рецидив лабиального герпеса. Начиная с 36–37 недель беременности, нами было диагностировано развитие нефропатии на основании появления следов белка в моче, повышения АД до 90 мм рт.ст. и развития отеков конечностей. Всего за беременность было проведено 6 курсов НМГ и 3 курса в/в Ig. Последний курс НМГ был закончен в 36 недель беременности, после чего мы провели контрольное исследование систем гемостаза и иммунитета, а также оценили состояние работы ФПК и получили следующие данные:

ABP=77 сек, АЧТВ=35 сек, ТЭГ=16 мм/55 мм/28 у.е., агрегация и количество тромбоцитов в пределах нормы, активность АТ- III =95%, протеина С=98%, ПДФ и Д-димер отрицательные, концентрация ТАТ=4,5x10⁻⁶г/л, F1+2=1,1 нмоль/л, что указывало на нормальную гиперкоагуляцию крови, соответствующую сроку гестации без наличия тромбофилии; параметры системы иммунитета были в пределах нормы; УЗИ выявило наличие задержки в/у развития плода на 1 неделю, преждевременное созревание плаценты с единичными кальцинатами и умеренное маловодие. При доплер-исследовании и КТГ-контроле отклонений от нормы выявлено не было. Однако, начиная с 37 недель беременности, при КТГ плода ПСП был равен 1.1–1,4, что указывало на начавшуюся в/у гипоксию плода. Учитывая отсутствия ДНК ВПГ в контрольных мазках из половых путей накануне родов и профилактический прием ацикловира в дозе 200 мг 4 раза в сутки за 10 дней до срока родоразрешения, роды рекомендовано было вести естественным путем с расширением показаний к КС в случае преждевременного излития вод в отсутствии регулярной родовой деятельности в течение 6 часов. Роды произошли самопроизвольно на 39 неделе беременности и осложнились преждевременным излитием вод. Родилась живая доношенная девочка ростом 49 см, весом 3000 кг, оцененная по шкале Ангар на 7–8 баллов, с явлениями асфиксии, без каких-либо пороков развития и признаков в/у инфицирования ВПГ-инфекцией, что было подтверждено лабораторно. Послеродовый период протекал без осложнений. Было проведено исследование гемостаза на 3 сутки после родов и в связи с наличием тромбофилического состояния крови (уровень ТАТ=9,3x10⁻⁶г/л), назначено введение фраксипарина в дозе 0,6 мл п/к №20. Также было проведено мопфовирусологическое исследование последа, в котором были выявлены изменения, характеризующиеся как продуктивный плацентит с хорошо выраженными защитно-приспособительными изменениями в виде гиперваскуляризации ворсин, с обнаружением антигена и гистологического изменения в эпителиальных клетках, характерного для ВПГ-инфекции в базальной части децидуальной оболочки.

Список литературы

1. Александровский А.В. Клинико-иммунологическая характеристика новорожденных с герпесвирусной инфекцией. //Дисс. ... канд. мед. наук, 1996, Москва.
2. Атаева Г.Б. Особенности течения беременности и родов у женщин с генитальным герпесом.// Дисс. ... канд. мед. наук, 1992, Москва.
3. Гребенюк В.Н. Рецидивирующий генитальный герпес. Клиника, особенности иммунореактивности, лечения. //Дисс. ... докт. мед. наук, 1993, Москва.
4. Долгушина Н.В. Ведение беременности и родов у больных генитальным герпесом и антифосфолипидным синдромом. //Дисс. ... канд. мед. наук, 2000, Москва. — 197 с.
5. Зуева Э.А. Влияние ВПГ-инфекции на течение беременности и состояние плода. Метод комплексного лечения рецидивирующей ВПГ-инфекции. Дисс. ... канд. мед. наук, 1996, Санкт-Петербург.

6. Кидралиева А.С. Тактика ведения женщин с привычным невынашиванием беременности и АФС. // Дисс. ... канд. мед. наук, 1994, Москва.
7. Коломиец А.Г., Вотяков В.И. и др. Моделирование и специфическая химиопрофилактика неблагоприятного влияния острой герпетической инфекции на течение беременности, плод и новорожденного (экспериментальное исследование). // Акушерство и гинекология, 1990; №5: 68—70.
8. Никонов А.П. Генитальный герпес и беременность. // ЗППП, 1995; №3: 12—15.
9. Селиванов Е.В. Иммунные нарушения и особенности лабораторной диагностики АФС. // Дисс. ... канд. мед. наук, 1998, Москва.
10. Ashley R. Laboratory techniques in the diagnosis of herpes simplex infection. *Genitourin Med.*, 1993; 64: 174—183.
11. Boda Z., Laszlo P., et al. LMWH in the prevention of thromboembolism in pregnant thrombophilic patients. // *Orv. Hetil.*, 1996; 137(4): 183—185.
12. Boshkov L.K., Warkentin T.E., Hayward C.P.M., et al. Heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis: Clinical and laboratory studies. // *Br. J. Haematol.*, 1993; 84: 322—328.
13. Chaouat G., Imakawa K., King A., et al. Early embryo development, uterus preparation and role of cytokines in implantation and labour. // *Lyon*, 1994; 67—115.
14. Chong B.H., Burgess J., Ismail F. The clinical usefulness of the platelet aggregation test for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. // *Thromb. Haemost.*, 1993; 69: 344—350.
15. Collington F., Frydman A., Caplain H., et al. Comparison of the pharmacokinetic profiles of three LMWHs — dalteparin, enoxaparin and nadro parin administered subcutaneously in healthy volunteers (doses for prevention of thromboembolism). // *Thromb. Haemost.*, 1995; 73: 630—640.
16. Cone R.W., Hobson A.C., Brown Z.A., et al. Frequent detection of genital HSV DNA by PCR among pregnant women. // *JAMA*, 1994; 272: 792—796.
17. Crestochowska E. Thromboembolism prophylaxis in pregnancy and labor. // *Gynekol. Pol.*, 1996; 67(11): 548—551.
18. Dahlman T. Osteoporotic fractures and the recurrence of thromboembolism during pregnancy and the puerperium in 184 women undergoing thromboprophylaxis with heparin. // *Am. J. Obst. Gynec.*, 1993; 168: 1265—1270.
19. Dahlman T., Sjoberg H.E., Ringertz H. Bone mineral density during long-term prophylaxis with heparin in pregnancy. // *Am. J. Obst. Gynec.*, 1994; 170: 1315—1320.
20. Fraser N.W., Valyi-Nagy T. Viral, neuronal and immune factors which can influence HSV latency and reactivation. // *Microb. Pathog.*, 1993; 15: 83—91.
21. Gurfinkel E.P., Manos E.J., et al. LMWH versus heparin or aspirin in the treatment of unstable angina and silent ischemia. // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1995; 26: 313—318.
22. Hirsh J. LMWH for the treatment of venous thromboembolism. // *Am. Heart. J.*, 1998; 135(6Pt3Su): S336—S342.
23. Kelton J.C., Sheridan D., Santos A., et al. Heparin-induced thrombocytopenia: Laboratory studies. // *Blood*, 1988; 72: 925—930.
24. Khiatti M., Menezes J. The effect of indometacin, prostaglandin E2 and interferon on the multiplication of HSV type 1 in human lymphoid cells. // *Antiviral Res.*, 1990; 14: 161—172.
25. Koutsky L.A., Stevens C.E., et al. Underdiagnosis of genital herpes by current Clinical and viral isolation procedures. // *N. Engl. J. Med.* 1992; 326: 1533—1539.

26. Paradowska E., Bach-Olszewska Z., et al. Antiviral nonspecific immunity of human placenta at term: possible role of endogenous tumor necrosis factors and interferons. // J. Interferon Cytokine Res., 1996; 16(11): 941—948.
27. Pereira F.A. Herpes simplex: Evolving, concepts. // J. Am. Acad. Dermatol., 1996; 35(4): 503—520.
28. Roisman B., Sears A.E. HSVs and their replication. In: Fields B.N., Knipe D.M., editors. Virology. N.Y.:Raven Press, 1990; 1795—1841.
29. Scott L.L., Sacher P.J., et al. Acyclovir suppression to prevent cesarean delivery after first episode genital herpes. // Obst. Gynec. 1996; 87: 69—73.
30. Wald A., Zeh J., et al. Suppression of subclinical shedding of HSV 2 with acyclovir. / Ann. Intern. Med., 1996; 125: 776—779 and 124: 8—15.
31. Wald A., Corey L., Cone R., et al. Frequent genital HSV 2 shedding in immunocompetent women: effect of acyclovir treatment. // J. Clin. Invest., 1997; 99: 1092—1097.
32. Warkentin T.E., Levine M.N., et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with LMWH or unfractionated heparin. // N. Engl. J. Med., 1995; 332: 1330—1335.

Источники представленных рисунков и таблиц

- Рис. 1
Thrombosis and Hemorrhage; edited by J. Loscalzo and A. I. Schafer, 1998: p. 4.
- Рис. 2
Thrombosis and Hemorrhage; edited by J. Loscalzo and A. I. Schafer, 1998: p. 13.
- Рис. 3
Thrombosis and Hemorrhage; edited by J. Loscalzo and A. I. Schafer, 1998: p. 6.
- Рис. 12
Wintrobe's Clinical Hematology, 1999, vol. 1: p. 719.
- Рис. 15
Wintrobe's Clinical Hematology, 1999, vol. 1: p. 664.
- Рис. 16
Wintrobe's Clinical Hematology, 1999, vol. 1: p. 667.
- Рис. 17
Antitrombotics; edited by A.C.G. Uprichard and K.P. Gallagher, 1999, p. 19, 26.
- Рис. 18
Seminars in Thrombosis and Hemostasis, 1999; vol. 25; 3: p. 275.
- Рис. 22
New England Journal of Medicine, 1997; vol. 337; 3: p. 159.
- Рис. 26
Atherosclerosis, 1994; 119: p. 135-138
- Рис. 117.
Cerebral Embolism Task Force, ref.1.
- Рис. 131
Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy; edited by M. D. Lindheimer, i.M. Roberts and F.G. Cunningham, 1999: p. 419.
- Таблица 97
Clin Appl Thrombosis/Hemostasis. 1999; vol.5.No.2.