

Состояние системы гемостаза у беременных с преэклампсией, по данным «глобального» теста низкочастотной пьезотромбоэластографии

Тютрин И.И.¹, Удут В.В.², Клименкова В.Ф.³

¹ — ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет, Томск, 634050, Московский тракт, 2

² — ФГБУ «НИИ фармакологии» СО РАМН, Томск, 634028, пр. Ленина, 3

³ — ОГАУЗ Областной перинатальный центр, Томск, 634063, ул. Ивана Черных, 96/1

В работе с использованием «глобального» теста низкочастотной пьезотромбоэластографии исследован гемостатический потенциал цельной крови беременных с преэклампсией (39—40 недель). Выявлены два типа состояния гемостатического потенциала: с наличием и отсутствием увеличения интенсивности контактной фазы коагуляции. Определено нарушение ключевого звена регуляции гемостаза — прямой взаимосвязи свертывающей и противосвертывающей систем, обеспечивающих адекватную реакцию ГП в условия формирования синдрома общей циркуляторной адаптации организма к беременности и родам.

Ключевые слова: преэклампсия, гемостатический потенциал, низкочастотная пьезотромбоэластография

Введение

Одной из актуальнейших проблем современного акушерства является преэклампсия — осложнение беременности, в основе которого лежат расстройства кровообращения как на микроциркуляторном, так системном уровне [1, 23, 24, 27]. Преэклампсия, встречаясь в 7—16%, стабильно занимает третье место в структуре материнской смертности (12—15%) и является ведущей причиной перинатальной заболеваемости (640—780‰) и смертности (18—30‰) [9, 20].

Подавляющее большинство исследователей на сегодняшний день считают, что в основе развития комплексных проявлений преэклампсии лежит эндотелиальная дисфункция (ЭД), сопровождающаяся тромбо-геморрагическими осложнениями [6, 8, 21, 31—33]. Не углубляясь в причины её развития при преэклампсии, отметим, что под ЭД понимают дисбаланс медиаторов, обеспечивающих в норме оптимальное течение всех эндотелий-зависимых процессов [19, 26, 28]. ЭД при преэклампсии приводит к преобладанию вазоконстрикции, пролиферативных процессов, тромбогенного потенциала и снижению тромборезистентности сосудистой стенки [25, 29, 30]. Очевидно, что генерализованная реакция эндотелия при его дисфункции, в отличие от апо-/паракринной при физиологических условиях, формирует существенные предпосылки для развития «Вирховской триады», инициирующую широкий спектр тромботических, геморрагических и тромбоэмболических осложнений в различных участках сосудистого русла [4].

Вместе с тем, общепринятый тренд диагностики ЭД основан на определении эндотелиальных маркеров, среди множества которых важнейшими являются повышенные уровни: PAI-1, PAI-2, оксида азота, простагландина I₂, протеинов S и C, антитромбина III, т.е. факторов, напрямую принимающих участие в функции гемостаза [7, 8, 9, 22]. Такая диагностика ЭД в отношении получения информации о результирующей функции системы — гемостатическом потенциале (ГП) — интегративной составляющей полного цикла гемокоагуляции, обеспечивающей необходимую текучесть крови и восстановление целост-

ности сосудистой стенки при ее повреждении, фрагментарна и априори не отражает все нюансы изменений/нарушений гемостаза [3, 25, 32]

Нам представляется, что только оценка ГП цельной крови в режиме «point-of-care test» позволяет оценить всю совокупность взаимодействия элементов системы регуляции агрегатного состояния крови (РАСК) в условиях влияния неизбежного стрессора — стандартизированной контактной активации. Действительно, проба цельной крови, содержащая аликвоты продуцентов эндотелия (ряд из которых реализуют эффекты в ограниченном временном интервале от 1×10^{-3} до 30 с), форменные элементы крови и плазменные факторы гемостаза, используемая для оперативного анализа, позволяет получать объективную информацию о «временном срезе» состояния ГП и состоятельности функции эндотелия. В связи с этим системный характер ЭД должен вызывать реакцию ГП на всех этапах формирования поперечно сшитого фибрина (ПСФ), а для оценки ГП должен использоваться чувствительный «глобальный» тест и обязательно в режиме «point-of-care test».

Целью настоящей работы была оценка глубины расстройств ГП у беременных женщин с преэклампсией методом низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ).

Методы исследования

Исследование проведено на базе ОГАУЗ «Областного перинатального центра» г.Томска с участием 76 пациенток с тяжелой преэклампсией на этапе родоразрешения (35—39 недель), средний возраст $27 \pm 4,9$ лет, 130 здоровых небеременных женщин, средний возраст $31 \pm 4,2$ года (контроль), и 64 здоровых беременных женщины перед родами (39—40 недель), средний возраст $29 \pm 6,3$ года, после подписания добровольного информированного согласия. Срочные роды через естественные родовые пути произошли у 61 здоровой беременной (95%), кесарево сечение по сочетанным показаниям произведено трем женщинам (5%), средняя оценка новорожденных по шкале

Апгар составила 8–9 баллов. Все пациентки с тяжелой преэклампсией были родоразрешены путем кесарева сечения, средняя оценка новорожденных по шкале Апгар составила 6–7 баллов, 1 случай антенатальной гибели плода.

Стандартизация этапа пробоподготовки обеспечивалась забором крови из кубитальной вены без наложения жгута (1 мл) в 3-компонентный силиконированный шприц ($V = 2,5$ мл) для разовой кюветы из медицинского пластика ($V = 0,45$ мл) с немедленным (10–12 с) началом исследования.

Функциональное состояние системы гемостаза оценивали методом НПТЭГ на аппаратно-программном комплексе АРП-01М «Меднорд», Россия, регистрационное свидетельство ФРС №2010/09767 [5, 11–18, 25]. Оценку регистрируемых параметров проводили с использованием компьютерной программы ИКС «ГЕМО-3», включающей информацию:

- о начальном этапе коагуляции (инициация/амплификация, ИКК — интенсивность контактной коагуляции);
- тромбиновой активности (КТА — константа тромбиновой активности, ИКД — интенсивность коагуляционного драйва);
- интенсивности полимеризации сгустка (ИПС);
- времени образования поперечно сшитого фибрина (t_5);
- максимальной плотности сгустка (МА);
- коэффициенте суммарной противосвёртывающей активности (КСПА);
- интенсивности ретракции и лизиса сгустка (ИРЛС);
- «точке желирования» (t_3 — время свёртывания крови).

Определение и расчет анализируемых показателей представлен на рис. 1.

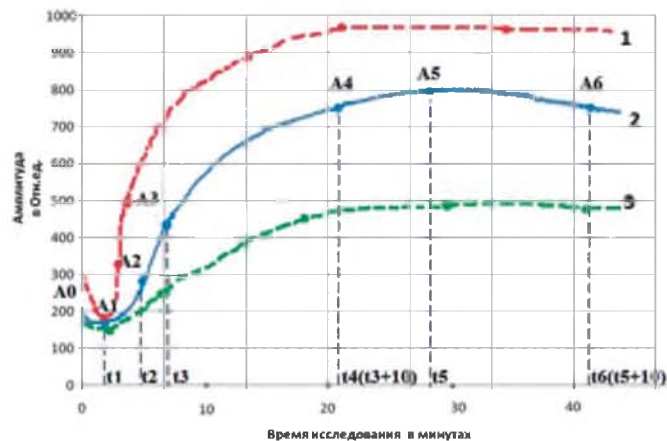


Рис. 1. Алгоритм определения и расчета анализируемых показателей НПТЭГ при «гиперкоагуляционном» (1), «нормокоагуляционном» (2) и «гипокоагуляционном» (3) типе гемостатического потенциала: ИКК = $(A_1 - A_0)/t_1$; КТА = $100/t_2$; ИКД = $(A_3 - A_0)/t_3$; ИПС = $(A_4 - A_3)/t_4(\text{const})$; КСПА = ИКД/ИПС; ИТС = MA/t_5 ; ИРЛС = $[(A_5 - A_6) \times 100]/A_5$.

Рутинные коагуляционные тесты выполняли при помощи автоматизированного анализатора гемостаза Sta-Compact (Roche, Швейцария) с оценкой АЧТВ, тромбинового, протромбинового времени (с автоматическим расчетом МНО, % по Квику), определением антикоагулянтов (в том числе антитромбина III, протеинов С и S), уровня фибриногена по Клауссу.

Полученные данные обработаны в среде Microsoft Excel и SPSS 13.0. Была проверена нормальность распределения количественных показателей с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Затем проведено статистическое описание групп, включенных в исследование с использованием непараметрических методов. Оценивались

Таблица

Основные показатели НПТЭГ здоровых женщин, пациенток с преэклампсией (1-я и 2-я подгруппы) с разным типом реакции ИКК, здоровых беременных женщин, Me [LQ; UQ]

Показатель	Условно здоровые женщины (n = 78)	П Преэклампсия (1-я) И ИКК+ (n = 38)	Преэклампсия (2-я) ИКК- (n = 38)	Условно здоровые беременные (n = 62)
A0	187 [146; 212,5]***^^^	243 [179; 300]***	55 [47; 148]	156 [130; 194]*^^^
A1	148 [109; 177]***	168 [69; 213]***	—	131 [113,5; 157]^^^
T1	0,9 [0,6; 1,3]^^^	1,4 [0,6; 1,8]***	—	0,95 [0,6; 1,5]^^^
ИКК	-27,3 [-36; -16,2]***^^^	-43,3 [-89,4; -33]***	—	-22,65 [-32; -18,1]***^^^
КТА	29,4 [25; 38]*^^	35 [30,3; 45,5]	50 [26,3; 59]	55,5 [44,5; 64,5]***
T3	7,6 [5,9; 9,2]^	7,3 [5,9; 8,4]*	5,7 [4,7; 7,3]	4,9 [4; 5,3]***^^
ИКД	37,6 [32,5; 43,5]**^^	48 [40,7; 61]	59 [44; 71]	66,6 [53,2; 75,5]***
A4	602,5 [572; 631,5]***	722 [656; 782]**	639 [578; 698]	580 [527; 649,5]***^
T4	17,7 [15,95; 19,2]^	17,3 [16; 28,4]	16 [14,7; 17,3]	14,9 [14; 15,3]***^^
ИПС	16,75 [13,65; 19,65]**	20,6 [16,2; 23]	18,4 [16,1; 22,7]	15,75 [12,5; 17,3]***^^
T5	34 [27; 38]***	40,5 [36,4; 50]	37,4 [30; 42]	35,15 [32,1; 39,35]**
МА	503 [466,5; 560,5]***^^^	692 [633; 737]	616 [563; 700]	535 [487; 567,5]***^^^
ИТС	15,6 [14; 18,1]	16,8 [14; 19]	17,6 [14; 19,5]	15,05 [13,35; 16,95]^
КСПА	2,35 [1,9; 2,8]^^	2,4 [2; 2,7]**	2,61 [2,56; 4,1]	4,58 [3,39; 5,85]***^^
ИРЛС	0,9 [0,1; 2,5]	0,5 [0; 1,8]	0,5 [0,1; 1,5]	1 [0,45; 1,5]

Примечание. * — $p_1 < 0,05$; ** — $p_1 < 0,01$; *** — $p_1 < 0,001$ — статистически значимые различия между группой пациенток с преэклампсией ИКК+ и здоровыми небеременными женщинами, группой пациенток с преэклампсией ИКК-, здоровыми беременными; ^ — $p_2 < 0,05$; ^^ — $p_2 < 0,01$; ^^ — $p_2 < 0,001$ — статистически значимые различия между группой пациенток с преэклампсией ИКК- и здоровыми небеременными женщинами, здоровыми беременными

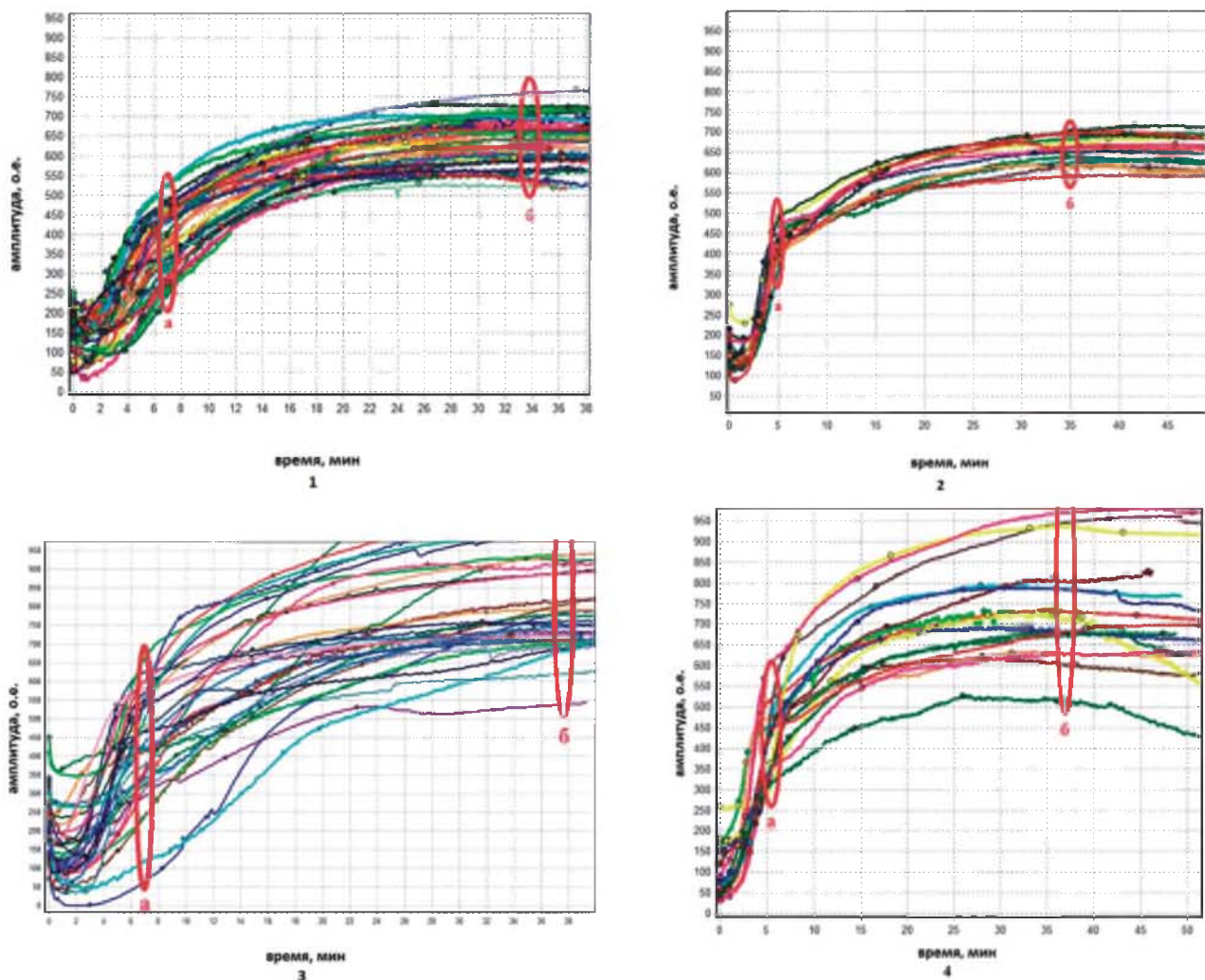


Рис. 2. Референтные НПТЭГ обследуемых: 1 – условно здоровые небеременные женщины; 2 – условно здоровые беременные женщины; 3 – пациентки с преэклампсией ИКК+; 4 – пациентки с преэклампсией ИКК- (а – «точка желирования», б – максимальная плотность сгустка).

количественные данные, представленные в виде $Me [LQ; UQ]$ (где Me – медиана, LQ – нижний квартиль, UQ – верхний квартиль). Для проверки статистических гипотез о различии между исследуемыми группами использовали непараметрический критерий Манна–Уитни (где p – достигнутый уровень значимости).

Результаты и их обсуждение

По результатам оценки ГП в группе с преэклампсией выделено две подгруппы, основными стратификационными признаками разделения которых являются: состояние начального этапа гемокоагуляции (инициация/амплификация, ИКК) и плотность ПСФ – результирующая функциональной активности системы РАСК (МА).

Как видно из данных, представленных в таблице и на рис. 2, 3, ГП обследуемых 1 подгруппы ($n = 38$) характеризуется сдвигом кривой НПТЭГ «влево и вверх». При этом начальный этап коагуляции существенно активирован: ИКК увеличена на 59% ($p < 0,001$) по сравнению с небеременными и на 91% ($p < 0,001$) по сравнению со здоровыми беременными. Этап пропагации, оцениваемый по КТА, t_3 и ИКД, значительно усилен только на пике протеклитической фазы в «точке желирования», КТА увели-

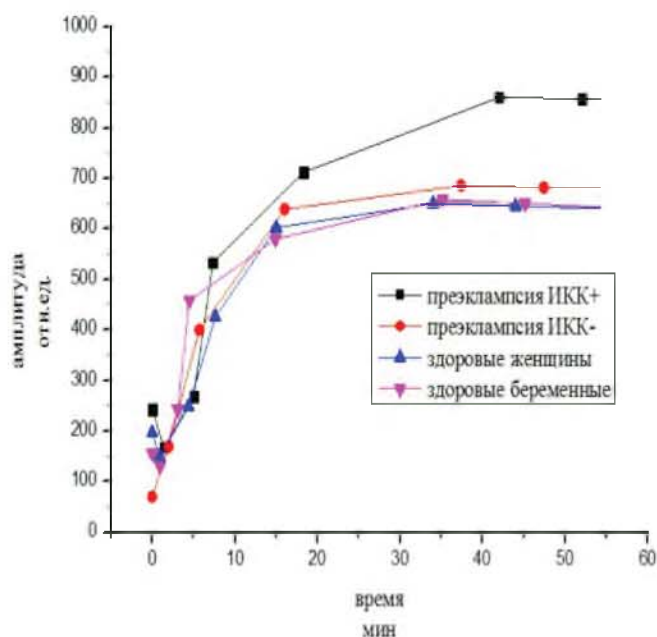


Рис. 3. Интегральные НПТЭГ обследуемых: типы ГП у пациенток с преэклампсией ИКК+ (1 подгруппа) и ИКК- (2 подгруппа), здоровых небеременных женщин и здоровых беременных женщин.

чена на 19% ($p < 0,05$), ИКД на 28% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем, что кардинально отличает его от такового здоровых беременных, где КТА увеличена на 89% ($p < 0,001$), ИКД на 77% ($p < 0,001$), а t_3 уменьшена до 4,9 [4; 5,3] с против 7,6 [5,9; 9,2] с ($p < 0,001$). Отсутствие реакции противосвертывающей системы в этой подгруппе (КСПА = 2,4 [2; 2,7]), свидетельствует о нарушении баланса про- и противосвертывающих звеньев системы РАСК, в отличие от сбалансированной реакции здоровых беременных, где КСПА возрастает на 95% ($p < 0,001$) в сравнении с контролем.

Иная картина отмечается на полимеризационном и стабилизационном этапах образования ПСФ. Если у здоровых беременных и в контроле образование ПСФ характеризуется хронометрической и структурной нормокоагуляцией, то в первой подгруппе с преэклампсией регистрируется структурная гиперкоагуляция (увеличение A_4 на 20%, $p < 0,001$) на фоне хронометрической гипокоагуляции (t_3 увеличена на 19%, $p < 0,001$).

Во второй подгруппе пациенток с преэклампсией ($n = 38$) ГП также характеризуется сдвигом НПТЭГ «влево и вверх», однако, при этом в анализируемой аликвоте цельной крови не регистрируется начальный этап инициации/амплификации, что, по нашему мнению, свидетельствует о внутрисосудистой активации процесса, подтверждаемой регистрируемым статистически значимым усилением этапа проаггации: КТА увеличена на 70% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем, а ИКД на 57% ($p < 0,01$), на фоне 33% сокращения времени достижения «точки желирования» ($p < 0,001$).

Указанные изменения приближают состояние анализируемого этапа коагуляции к таковому физиологической беременности, однако реализуются на фоне структурной гиперкоагуляции (A_4 увеличена на 6%, ($p > 0,05$), а МА на 25% ($p < 0,001$)) на фоне отсутствия реакции противосвертывающей системы (КСПА = 2,61 [2,56; 4,1] секунд против 4,58 [3,39; 5,85] секунд у здоровых беременных).

Отсутствие усиления фибринолитической активности, которая оценивается по данным показателя ИРЛС, в обеих анализируемых подгруппах с преэклампсией, у которых регистрируется структурная гиперкоагуляция, на наш взгляд, подтверждает диссоциацию системы РАСК не только на этапах образования ПСФ, но и на этапе ретракции и лизиса сгустка.

Выводы

Таким образом, можно констатировать, что оценка функционального состояния системы РАСК «глобальным тестом» НПТЭГ по предлагаемой технологии исследования цельной крови позволяет зарегистрировать нарушения на всех этапах процесса гемокоагуляции, вызванные эндотелиальной дисфункцией и реализующиеся в снижении тромборезистентности сосудистой стенки.

Выявленные расстройства свидетельствуют о нарушении ключевого звена регуляции гемостаза — прямой взаимосвязи свертывающей и противосвертывающей систем, обеспечивающих адекватную реакцию ГП в условия формирования синдрома общей циркуляторной адаптации организма к беременности и родам.

Обнаруженная диссоциация регуляторов ГП, по нашему мнению, является основополагающей в формировании двух типов реакций ГП у беременных с преэкламп-

сией, независимо от состояния начального этапа (инициации/амплификации) гемокоагуляции, выражающегося в существенной *in vivo* или *ex vivo* активации.

Список литературы

1. Айламазян Э.К., Мозговая Е.В. Гестоз: теория и практика. — М.: МЕДпресс-информ, 2008. — 207 с.
2. Баркаган З.С. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза: Монография / З.С. Баркаган, А.П. Момот. — М.: Ньюдиамед, 2008. — 292 с.
3. Буланов А.Ю. Гемостаз при острой кровопотере: патогенез изменений, контроль и коррекция // Тольяттинский медицинский консилиум. — 2011. — №3—4. — С. 26—28.
4. Выявление тромбоопасности как раннего маркера гестоза методом низкочастотной пьезотромбоэластографии / Клименкова В.Ф., Бочков Ю.А., Шписман М.Н., Тютрин И.И. // Фундаментальные исследования. — 2012. — №8 (Ч. 2). — С. 330—333.
5. Диагностика, лечение и профилактика тромбозов и тромбоземболий: Сборник статей / Под ред. Каирова Г.Т. — Томск, 2011. — 130 с.
6. Зайнулина М.С., Мозговая Е.В. Дисфункция эндотелия при осложненном течении беременности // Патология микроциркуляции и гемостаза: Сб. науч. раб. — СПб.: Изд-во СПбГМУ, 1998. — С. 389—405.
7. Зайнулина М.С., Петрищев Н.Н. Эндотелиальная дисфункция и ее маркеры при гестозе // Журн. акуш. и жен. бол. — 1997. — 1. — С. 59—61.
8. Макария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилические состояния в акушерской практике. — М., 2001. — 704 с.
9. Мозговая Е.В., Печерина Л.В., Сепиашвили Л.А. Опыт применения антикоагулянтной терапии в акушерстве с целью коррекции эндотелиальной дисфункции при гестозе. — С. 83—97 // Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под ред. Петрищев Н.Н., — СПб.: Изд. СПбГМУ, 2003. — 184 с.
10. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики: Монография. — СПб.: Форма Т, 2006. — 208 с.
11. Пат. №107929. Кювета для исследования крови: Пат. на полезную модель №107929. МПК А 61 В / Ю.А. Овсянников, И.И. Тютрин, опубл. 10.09.2011.
12. Пат. №106518. Устройство для контроля гепаринотерапии: Пат. на полезную модель №107929. МПК А 61 В / Ю.А. Овсянников, И.И. Тютрин, опубл. 20.07.2011.
13. Пат. №98251. Устройство для исследования крови: Пат. на полезную модель №98251, МПК: G 01 N / И.И. Тютрин, Ю.А. Овсянников, А.И. Степенко, опубл. 10.10.2010.
14. Пат. №2413953. Способ экспресс-оценки функционального состояния системы гемостаза: Пат. 2413953 Рос. Федерация: МПК51 G 01 N 33/86 / И.И. Тютрин, А.И. Степенко, В.В. Удуд, С.А. Грибов, Т.А. Семглазова, М.А. Соловьев, Е.В. Бородулина; заявитель и патентообладатель Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт фармакологии Сибирского отделения РАМН. — №2009112890/15; заявл. 08.06.2009.
15. Пат. №86317. Устройство для исследования процесса свертывания в микрообъемах крови: Пат. на полезную модель №86317, заявка №2009114966 от 27.08.2009.
16. Пат. №2282855. Способ оценки функционального состояния системы гемостаза: Пат. 2282855 Рос. Федерация: МПК51 G 01 N 33/49 / И.И. Тютрин, О.В. Сорокожердиев, Ю.А. Овсянников, М.Н. Шписман, В.Е. Шипаков, М.Б. Цыренжапов. — №2004111224/15; заявл. 12.04.2004; опубл. 27.08.2006, Бюл. №24 — 2006.
17. Пат. №40110. Устройство для исследования крови: Пат. на полезную модель №40110 / В.О. Сорокожердиев, И.И. Тютрин, А.И. Степенко, заявка №2004111118 от 27.10.2004. Опубл. 27.08.2004. Бюл. №24.
18. Пат. №2184967. Способ оценки степени активности ревматоидного артрита: Пат. 2184967 Рос. Федерация: МПК G 01 N 33/49 / И.И. Тютрин, М.Н. Шписман, А.А. Куковякин, И.Б. Каблукова; заявл. 01.06.1999; опубл. 10.07.2002.

19. Петрищев Н.Н. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / Под ред. Н.Н. Петрищева. — СПб.: Изд-во СПбГМУ 2003. — 184 с.
20. Савельева Г.М., Шалина Р.И. Гестоз в современном акушерстве // Русский медицинский журнал. — 2006. — №6. — С. 50–53.
21. Салахиева Г.С., Понукалина Е.В. О значении эндотелиальной дисфункции в патогенезе гестоза // Мать и дитя: Материалы VIII Российского форума. — М., 2006. — С. 223.
22. Сидорова И.С., Зарубенко Н.Б., Гурина О.И. Маркеры дисфункции эндотелия при гестозе // Российский вестник акушера-гинеколога. — 2010. — 5. — С. 24–27.
23. Стрижаков А.Н., Давыдов А.И., Мусаев З.М. Гестоз: диагностика, акушерская тактика и интенсивная терапия. — М.: Информед, 2007. — 79 с.
24. Сухих Г.Т., Мурашко Л.Е. Преэклампсия: Руководство. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 576 с.
25. Тютрин И.И. Низкочастотная пьезотромбоэластография в диагностике гемостазиологических расстройств: Метод. руководство для врачей / И.И. Тютрин, В.В. Удут, М.Н. Шписман; Сибирский государственный медицинский университет. — Томск, 2013. — 68 с.
26. Шеманаева Т.В., Сидорова И.С., Гурина О.И. Клинико-диагностическое и практическое значение маркеров эндотелиоза при гестозе: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 2008.
27. Шифман Е.М. Преэклампсия, Эклампсия, HELLP-синдром. — Петрозаводск: ИнтелТек, 2002. — 413 с.
28. Bdolah Y., Karumanchi S.A., Sachs B.P. Recent advances in understanding of preeclampsia // Review Croat Med. J. — 2005. — 46. — 5. — P. 728–736.
29. Bretelle F., Sabatier F. et al. New insight in physiopathology of preeclampsia and intra-uterine growth retardation: role of inflammation // Gynec. Obstet. Fertil. — 2004. — 32. — 6. — P. 482–489.
30. Davison J.M., Homuth V., Jeyabalan A. et al. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia // J. Am. Soc. Nephrol. — 2004. — 15. — P. 2440–2448.
31. Dekker G.A., Sibai B.M. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1998. — Nov. — 179(5). — P. 1359–1375.
32. Johansson P.I. Treatment of massively bleeding patients: introducing real-time monitoring, transfusion packages and thrombelastography // ISBT science series. — 2007. — 2. — P. 159–167.
33. Schuiling G.A., Faas M.M. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts // Am. J. Obstet. Gynecol. — 1999. — Oct. — 181(4). — P. 1036–1037.

Поступила 10.05.2013

State of hemostasis system of pregnant with preeclampsia according to the data of «global» low-frequency piezothromboelastographic test

Tytrin I.I., Udut V.V., Klimenkova V.F.

¹ — Siberian State Medical University, Tomsk, 634050, Moskovskiy trakt, 2

² — Institute of Pharmacology, North Branch of RAMS, Tomsk, 634028, pr. Lenina, 3

³ — Regional Perinatal Center, Tomsk, 634063, ul. Ivana Chernykh, 96/1

«Global» low-frequency piezothromboelastographic test was used to study hemostatic potential of the whole blood of pregnant women with preeclampsia (39–40 weeks). Two types of the hemostatic potential state were revealed: with and without an increase in the intensity of contact phase of coagulation. We also determined a failure of the pivotal element of hemostasis regulation — direct interrelation of the coagulation and anticoagulation systems, which provides the appropriate response of the hemostatic potential during the generation of the syndrome of the total circular adaptation of the organism to pregnancy and delivery.

Key words: preeclampsia, hemostatic potential, low-frequency piezothromboelastography