

К МЕТОДИКЕ ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ ЗА ЭФФЕКТАМИ РЕКОМБИНАНТНОГО ФАКТОРА VIIA

З.С.Баркаган*, А.Н.Мамаев**, Л.П.Цывкина*, И.В.Мамаева***

*Алтайский филиал ГУ Гематологический научный центр РАМН, Барнаул**

*Лаборатория гемостаза МУЗ ГБ№11, Барнаул ***

*Алтайский филиал Онкологического научного центра им.Н.Н.Блохина РАМН,
Барнаул****

Недавно арсенал лекарственных средств, обладающих универсальным гемостатическим действием, пополнился препаратом НовоСэвен, который эффективно обрывает опасные для жизни кровотечения. В основе действия этого препарата лежит стимуляция системы гемостаза активированным рекомбинантным активированным фактором VII [1-19].

Из литературы известно, что пока не отработаны способы лабораторного контроля влияния рекомбинантного фактора VIIa (rVIIa) на систему гемостаза. Нами, совместно с сотрудниками Алтайского филиала онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина, проведено изучение различных параметров системы гемостаза на цельной крови и нормальной плазме, а затем, для уточнения глубины изменений, вызываемых rVIIa, такие же исследования были проведены на образцах крови больных с массивными кровотечениями до и после применения рекомбинантного активированного фактора VII.

Материалы и методы

Препарат НовоСэвен нами был применен у 11 больных с терминальными формами кровоточивости. Одна из этих больных с крайне тяжелой формой ДВС синдрома. Вторая больная поступила под наше наблюдение на терминальном этапе развития промиелоцитарного лейкоза и сопутствующим ДВС в возрасте 23 года. В третьем случае мы применили препарат у пятнадцатилетней пациентки для предупреждения массивной кровопотери после радикальной операции по поводу кифосколиоза. Четвертой больной с глубоким дефицитом фактора VII препарат НовоСэвен применялся с профилактической целью во время родов. Пятой больной (с кровопотерей около 3-х литров) применяли препарат при остром акушерском ДВС-синдроме вследствие эмболии околоплодными водами в фазе полной несвёртываемости крови. Во всех пяти случаях произошло немедленное купирование кровотечения после однократного внутривенного введения препарата в дозе 45-90 мкг/кг.

Кроме того, этот препарат был применён у шести больных с онкологическими заболеваниями, у которых после хирургического лечения развились массивные кровотечения. Объём кровопотери у этих больных был от 1 до 2 литров. Возраст онкобольных от 33 до 68 лет, масса тела от 67 до 105 кг. Локализации и стадии опухоли: рак прямой кишки – 2 больных (T4N1M0, T3N1M0), рак почки – 2 больных (T3N1M0, T3N0M0), ангиомиолипома почки –

1 больной, рак предстательной железы – 1 больной (T2 N0 M0). У 1 больного злокачественная опухоль почки была второй локализацией, т. к. 2 года назад ему была произведена правосторонняя гемиколэктомия по поводу рака слепой кишки (T2N0M0). Диагноз был верифицирован морфологически во всех случаях. После однократного внутривенного введения препарата кровотечения прекратились у 4-х больных, и не было новых геморрагий у этих четырёх. Двукратно препарат был применён у 2 пациентов: экстирпации прямой кишки с кровопотерей 2,5 литра (в дозе 76 мкг/кг веса) и нефруретерэктомии с кровопотерей 2 литра (в дозе 68 мкг/кг веса) для остановки массивного диффузного кровотечения, возникшего после удаления опухоли. Остановка кровотечения отмечена через 30 минут после повторного введения гVIIa.

Задачи нашего исследования включали: характеристику изменений гемостаза после применения препарата НовоСэвен, отбор наиболее эффективных методов контроля влияния этого препарата на систему гемостаза. Для этого были применены у больных следующие методы лабораторной диагностики:

1. Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) бедной тромбоцитами плазме (БТП) по Caen et al. (1968).
2. Активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) крови (модификация включала: использование вместо БТП венозной крови, двукратное уменьшение объёма АПТВ-реагента и хлорида кальция).
3. Каолиновое время свёртывания БТП по Hattersley, 1966.
4. Каолиновое время свёртывания крови по Hattersley, 1966 (модификация включала: использование вместо БТП венозной крови, двукратное уменьшение объёма каолинового реагента и хлорида кальция).
5. Протромбиновое время БТП по Quick (1935) с тромбопластином, стандартизированным по международному индексу чувствительности (МИЧ 1,2).
6. Протромбиновое время крови с тромбопластином, стандартизированным по международному индексу чувствительности (модификация включала: использование вместо БТП венозной крови, двукратное уменьшение объёма тромбопластин-кальциевой смеси).
7. Протромбиновое время БТП с бычьим тромбопластином (в отличие от метода Quick использовали тромбопластин из мозга быка).
8. Протромбиновое время крови с бычьим тромбопластином (модификация включала: использование вместо БТП венозной крови, тромбопластин из мозга быка, двукратное уменьшение объёма тромбопластин-кальциевой смеси).
9. Уровень растворимого фибрина в плазме определяли орто-фенантролиновым тестом по В.А. Елыкомову и А.П. Момоту (1987).
10. Концентрация фибриногена в плазме по Clauss (1957).
11. Количество тромбоцитов в камере Горяева с использованием фазово-контрастной микроскопии по Brecher et al. (1953).

Результаты

Нами были использованы лабораторные методы, которые ранее для контроля действия гVIIa не применялись, в частности, протромбиновый тест с бычьим и обычным тромбопластином, каолиновый тест, АПТВ. Исследование выполняли до введения препарата НовоСэвен, через 30 мин, 3 часа и 24 часа после его внутривенного введения. Средние значения показателей гемостаза у больных, которым применяли этот препарат, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Показания ($\bar{X} \pm m$, n=10) традиционных и специальных коагуляционных тестов до и после применения гVIIa.

| Лабораторные методы | До применения | Через 30 мин | Через 60 мин | Через 180 мин | Через 24 часа | Контроль |
|---|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|-----------|
| Протромбиновое время БТП, с | 13,5±2,3 | 8,0±0,3 | 8,3±0,4 | 9,2±0,6 | 12,8±1,7 | 11,2±0,1 |
| Протромбиновое время крови, с | 14,5±4,1 | 8,0±0,4 | 7,8±0,3 | 8,7±0,6 | 14,4±1,1 | 14,1±1,2 |
| Протромбиновое с бычьим тромбопластином БТП, с | 73,6±19,0 | 21,1±2,5 | 22,5±2,4 | 28,3±2,4 | 76,9±16,8 | 61,1±6,2 |
| Протромбиновое с бычьим тромбопластином крови, с | 68,2±18,9 | 16,8±1,7 | 20,4±1,8 | 23,1±2,5 | 45,0±2,8 | 45,4±2,8 |
| Протромбиновое с разведенным тромбопластином БТП, с | 40,4±2,3 | 31,2±1,5 | 28,3±1,2 | 31,8±2,2 | 38,5±1,3 | 39,8±2,1 |
| Протромбиновое с разведенным тромбопластином крови, с | 33,9±1,8 | 26,0±0,7 | 26,1±1,0 | 27,9±1,2 | 37,6±4,7 | 35,3±2,8 |
| Каолиновое время БТП, с | 75,7±4,3 | 63,9±3,2 | 60,9±3,7 | 60,0±5,5 | 80,7±5,9 | 71,0±3,1 |
| Каолиновое время крови, с | 59,1±12,6 | 54,9±9,4 | 52,6±7,3 | 58,2±3,6 | 75,3±16,9 | 53,1±3,1 |
| АПТВ, с | 57,7±11,1 | 35,2±3,1 | 38,3±1,9 | 35,2±2,7 | 43,5±6,0 | 35,8±1,7 |
| РФМК, мг/% | 9,9±2,9 | 9,3±3,6 | 9,6±3,4 | 11,2±3,1 | 9,8±2,1 | 3,1±0,4 |
| Фибриноген, г/л | 2,5±0,3 | 2,4±0,4 | 2,5±0,3 | 2,5±0,2 | 2,4±0,2 | 2,6±0,1 |
| Тромбоциты, × 10 ⁹ /л | 165,1±22,5 | 176,4±26,8 | 163,5±30,2 | 179,2±32,6 | 175,3±26,4 | 179,3±9,2 |

Как следует из представленной таблицы, применение гVIIa вызывало гиперкоагуляцию в большинстве изучаемых тестов. При этом, гиперкоагуляция была наиболее выражена в коагуляционных тестах, активирующих коагуляцию по внешнему пути свёртывания. Для уточнения глубины сдвигов, вызываемых

изучаемым препаратом, мы вычислили выраженность укорочения в процентах от исходного времени свёртывания. Результаты этих расчетов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Выраженность изменения времени свертывания в процентах от показателя до применения rVIIa (знаки +/- соответствует степени удлинения или укорочения).

| Лабораторные методы | Через 30 мин | Через 60 мин | Через 180 мин | Через 24 часа |
|---|--------------|--------------|---------------|---------------|
| Протромбиновое время БТП, % | -38,5 | -36,2 | -29,2 | -1,5 |
| Протромбиновое время крови, % | -44,8 | -46,2 | -40,0 | -0,7 |
| Протромбиновое с бычьим тромбопластином БТП, % | -71,3 | -69,4 | -61,5 | +4,5 |
| Протромбиновое с бычьим тромбопластином крови, % | -75,4 | -70,1 | -66,1 | -34,0 |
| Протромбиновое с разведенным тромбопластином БТП, % | -22,8 | -30,0 | -21,3 | -4,7 |
| Протромбиновое с разведенным тромбопластином крови, % | -23,3 | -23,0 | -17,7 | +10,9 |
| Каолиновое время БТВ, % | -15,6 | -19,6 | -20,7 | +6,6 |
| Каолиновое время, % | -7,1 | -11,0 | -1,5 | +27,4 |
| АПТВ, % | -39,0 | -33,6 | -39,0 | -24,6 |

Как следует из таблицы 2, для оценки выраженности коагуляционных сдвигов, вызываемых изучаемым препаратом, наиболее информативной является коагуляционная проба с бычьим тромбопластином.

Выводы:

1. Препарат НовоСэвен является мощным гемостатическим средством, обрывающим массивные кровотечения различной этиологии и локализации.
2. Контроль фармакокинетики препарата может осуществляться протромбиновым тестом с бычьим тромбопластином.

Литература

1. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Морозова Л.И., Мамаева И.В. Опыт успешного применения рекомбинантного активированного фактора VII в терапии острого ДВС синдрома. / Омский научн. вестник. – 2005. – 30 (№1). – С. 85-86.
2. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Морозова Л.И. и соавт. Опыт успешного применения рекомбинантного фактора VIIa (НовоСэвен) в терапии терминальных акушерских кровотечений. // Материалы семинара «Новые медицинские технологии в акушерстве, гинекологии и неонатологии». Клинические лекции, тезисы докладов под редакцией профессора Т.А.Фёдоровой. – Москва. – 2005. – С.21-23.
3. Баркаган З.С., Морозова Л.И., Мамаев А.Н., Мамаева И.В. Органосберегающая технология в терапии терминальных акушерских кровотечений. // Трудный пациент. – 2006. – том 4. №2. – С.13-15.
4. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Цыпкина Л.П. и соавт. Опыт использования рекомбинантного фактора VIIa в терапии кровотечений после хирургического лечения онкологических заболеваний. // В кн. «Современные технологии в онкологии: материалы VI Всероссийского съезда онкологов». – Том II. – М. 2005. – С.263.
5. Баркаган З.С., Мамаев А.Н., Ходоренко С.А. и др. Опыт применения препарата НовоСэвен в терапии терминальных кровотечений. // Омский научн. вестник. – 2005. – 30 (№1). – С. 86-87.
6. Плющ О.П., Андреев А.Н., Городецкий В.М. и др. Рекомбинантный активированный фактор VII в клинической практике. Пособие для врачей гематологов. // Пробл. гематол. и переливания крови. – 2004. – 1. – С.5-10.
7. Плющ О.П., Копылов К.Г., Городецкий В.М. и соавт. Новая технология остановки и профилактики кровотечений в клинической практике. // Вопр. гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2003. – Т.2. - №2. – С. 83-87.
8. Румянцев А.Г., Бабкова Н.В., Чернов В.М. Применение рекомбинантного активированного фактора коагуляции VII в клинической практике. Обзор литературы. // Гематол. и трансфузиол. – 2002. – 5. – С. 36-41.
9. Шулутко Е.М., Щербаква О.В., Синауридзе Е.М., Васильев С.А. Возможности применения рекомбинантного фактора VIIa для остановки кровотечений. /В кн.: Новые медицинские технологии в акушерстве, гинекологии и неонатологии. / Клин. лекции, тезисы, докл. – М., 2005. – С. 23-25.
10. Bianchi A. Jackson D., Maitz P., Thanakrishnan G. Treatment of bleeding with factor VIIa in patients with extensive burns. // Thromb. Haemost. – 2004. – 91. –P.203-204.
11. Brown J.B., Emerick K.M., Brown O.L. et al. Recombinant factor VIIa improves coagulopathy caused by liver failure. // JPGN. – 2003. – 37. – P.268-272.
12. Chuansumrit A., Chantrarojanasiri T., Isarangkura P. et al. Recombinant activated factor VII in children with acute bleeding resulting from liver failure and

- disseminated intravascular coagulation. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 2000. – 11(suppl.1). – P.101-103.
13. Friederich P.W., Henny C.P., Messeline E.J. et al. Effect of recombinant activated factor VII on perioperative blood loss in patients undergoing retropubic prostatectomy: a double-blind placebo-controlled trial. // Lancet. – 2003. – 361. – P.201-205.
14. Hedner U. Recombinant activated factor VII as universal hemostatic agent. // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1998. – 9. – P.147-152.
15. Kenet G., Walden R., Eldad A. et al. Threatment of traumatic bleeding with recombinant factor VIIa. // Lancet. – 1999. – 354. – P.1879.
16. Kenet G. rFVIIa for profuse bleeding in surgical patients. // Bloodline Rev. – 2001. – 1. – P.12-13.
17. Mathew P. The use of rFVIIa in non-hemophilia bleeding conditions in paediatrics. // Thromb. Haemost. – 2004. – 92. –P.738-746.
18. Moscardo F., Perez F., Rubia J. et al. Successsful treatment of severe intraabdominal bleeding associated with disseminated intravascular coagulation using recombinant activated factor VII. // Br.J.Haematol. – 2001. – 113. – P.174-176.
19. White B., McHale G., Ravi N. et al. Successful use of recombinant factor VIIa in the management of post-surgical intra-abdominal haemorrhage. // Br.J.Haematol. – 1999. – 107(3). – P.677-678.

Директор Алтайского филиала ГУ
Гематологический научный центр РАМН,
Барнаул, член-корр. РАМН, д.м.н., проф.

З.С.Баркаган

Зав. лабораторией гемостаза
МУЗ Городская больница №11,
Барнаул, д.м.н.

А.Н.Мамаев

Старший научный сотрудник
Академического центра по диагностике
и лечению нарушений гемостаза
при ЦНИЛ АГМУ, Барнаул
д.м.н., проф.

Л.П.Цывкина

Научный сотрудник Алтайского
филиала РОНЦ им.Н.Н.Блохина,
Барнаул

И.В.Мамаева

Резюме
К МЕТОДИКЕ ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ ЗА ЭФФЕКТАМИ
РЕКОМБИНАНТНОГО ФАКТОРА VIIA

З.С.Баркаган, А.Н.Мамаев, Л.П.Цывкина, И.В.Мамаева

Рекомбинантный активированный фактор VII, первоначально предложенный для предупреждения и купирования кровотечений у больных с ингибиторной формой гемофилии, в последующих многочисленных испытаниях показал себя универсальным гемостатическим средством, эффективно купирующим и профилактирующим самые разнообразные спонтанные и послеоперационные геморрагии. Пока не отработаны способы контроля действия этого препарата на систему гемостаза. В статье представлены результаты изучения различных параметров системы гемостаза у больных с массивными кровотечениями до и после применения рекомбинантного активированного фактора VII. Установлено, что контроль фармакокинетики препарата может быть достигнут при использовании протромбинового теста с бычьим тромбопластином.

Адрес для переписки: 656050, г.Барнаул, ул.Малахова 51, ГБ№11, Алтайский гемцентр, лаборатория гемостаза, зав. лабораторией гемостаза Андрею Николаевичу Мамаеву
e-mail: amamaev@yandex.ru