

Полеводова Олеся Алексеевна

Диагностика и мониторинг терапии жизнеугрожающих геморрагических и тромботических осложнений у пациентов с заболеваниями системы крови

14.01.21 – Гематология и переливание крови

14.01.20 – Анестезиология и реаниматология

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва 2019

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: доктор медицинских наук **Галстян Геннадий Мартинович**

Официальные оппоненты:

Ройтман Евгений Витальевич – доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Президент Национальной Ассоциации по тромбозу и гемостазу.

Рыбка Михаил Михайлович – доктор медицинских наук, заведующий отделением анестезиологии и реанимации федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: «Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена» – филиал федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва.

Защита состоится «29» января 2020 года в 14:30 на заседании диссертационного совета Д 208.135.01 при федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125167, г. Москва, Новый Зыковский проезд, 4

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте www.blood.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Сысоева Елена Павловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

У пациентов в критических состояниях для диагностики угрожающих жизни нарушений системы гемостаза наряду с традиционными клоттинговыми методами широко используют интегральные тесты. Интегральные тесты позволяют оценить характер нарушений свертывания крови, выбрать тот или иной метод лечения, мониторировать его эффективность (F.H. Saner и соавт., 2016). Они являются анализами, производимыми по месту лечения, или «Point of Care» (POC). К POC относятся лабораторные исследования, которые проводятся рядом с местом ухода за пациентом медицинским персоналом, не имеющим лабораторного образования (И.И. Дементьева и соавт., 2013). Для их выполнения не требуется центрифугировать кровь, а результаты исследования могут быть получены в течение короткого промежутка времени. Интегральные методы исследования позволяют оценить функциональное состояние системы гемостаза. С помощью интегральных тестов исследуют не активность отдельных факторов свертывающей или противосвертывающей систем, а всю систему гемостаза в целом как результат взаимодействия этих факторов (T. Lang и соавт., 2005). Если результатом клоттинговых тестов является образование сгустка, то интегральные тесты позволяют оценить кинетику тромбообразования, качество фибринового сгустка, функциональную активность тромбоцитов и фибринолиз (C. Röllig и соавт., 2015). В клинической практике наибольшее распространение получили тромбоэластография (ТЭГ), ротационная тромбоэластометрия (РОТЭМ) и тест генерации тромбина (ТГТ). Показано, что интегральные методы оценки гемостаза позволяют уменьшить частоту трансфузий компонентов крови (H. Schöchл и соавт., 2011). Однако, несмотря на схожие фундаментальные принципы измерений, результаты, получаемые при тромбоэластографии и тромбоэластометрии, могут существенно различаться, что отражается на тактике лечения пациентов (A. Sankarankutty и соавт., 2012). Эти различия могут быть обусловлены разными принципами работы аппаратов, разными активаторами, используемыми при постановке тестов. Мало данных о сопоставлении результатов интегральных тестов с результатами традиционных коагулологических методов. Недостаточно данных, сравнивающих диагностическую значимость этих тестов в различных клинических ситуациях, о применении интегральных тестов для диагностики нарушений гемостаза у пациентов с заболеваниями системы крови, при врожденных коагулопатиях и мониторинге проводимого лечения.

Таким образом, мало известно о применении вышеуказанных интегральных методов для диагностики нарушений системы гемостаза и мониторинга терапии при лечении

геморрагического синдрома или тромбозов у пациентов с заболеваниями системы крови. В связи с этим, сравнение интегральных тестов и их модификаций, а также эффективности проводимой терапии у пациентов с заболеваниями системы крови, представляется актуальным.

Цель исследования

Разработать тактику применения различных методов оценки гемостаза для диагностики жизнеугрожающих геморрагических и тромботических осложнений и мониторинга за проводимой терапией у пациентов с заболеваниями системы крови.

Задачи исследования

1. Модифицировать тесты тромбоэластографии для определения в крови гепарина и содержания фибриногена.
2. Разработать алгоритм применения ротационной тромбоэластометрии для диагностики наследственных коагулопатий и контроля проводимой при них гемостатической терапии.
3. Сопоставить параметры интегральных и клоттинговых тестов при развитии угрожающих жизни геморрагических и тромботических осложнений у пациентов с заболеваниями системы крови.
4. Определить частоту и характер нарушений гемостаза у пациентов с угрожающим жизни геморрагическим синдромом и разработать контроль проводимой гемостатической терапии.
5. Определить частоту и характер нарушений гемостаза у пациентов с угрожающими жизни тромботическими осложнениями и разработать контроль проводимой антикоагулянтной и/или тромболитической терапии.

Научная новизна работы

Изучены частота и виды угрожающих жизни нарушений гемостаза, а также причины их развития в дебюте заболевания у пациентов с острыми лейкозами (ОЛ). Установлены параметры гемостаза, отличающие острый промиелоцитарный лейкоз (ОПЛ) от остальных вариантов ОЛ в дебюте заболевания. С помощью интегральных тестов показана роль гиперфибринолиза в патогенезе геморрагических осложнений при ОПЛ.

Изучены тромботические осложнения у пациентов с острыми лимфобластными лейкозами (ОЛЛ) и лимфомами, разработан алгоритм их диагностики и профилактики. Разработана тактика профилактики тромботических и геморрагических осложнений у пациентов с ОЛЛ и лимфомами, учитывающая режим введения L-аспарагиназы. Разработана схема

проведения локального тромболизиса при тромбозе венных синусов центральной нервной системы (ЦНС).

Впервые разработана модификация метода ТЭГ для выявления гепарина в крови, заключающаяся в том, что ее выполняют в двух вариантах: с цельной цитратной кровью с добавлением CaCl_2 и с цельной цитратной кровью с добавлением CaCl_2 и полибрена. О наличии в пробе крови гепарина делают вывод по укорочению показателей R и K и увеличению максимальной амплитуды и угла α в пробе с полибреном (**патент № RU 2662171 C1, 2018 г**).

Впервые разработана модификация метода ТЭГ для оценки содержания фибриногена в крови, заключающаяся в том, что исследование проводят в гепаринизированной крови с содержанием гепарина 20-30 ед/мл, добавляя к ней протеазу, выделенную из яда змеи *Bothrops atrox* (**патент № RU 2669796 C1, 2018 г**).

Впервые разработан алгоритм диагностики дефицита отдельных факторов свертывания крови, заключающийся в том, что при использовании РОТЭМ в зависимости от выявления удлинения параметра, характеризующего время начала образования сгустка (СТ) в тестах внутреннего (INTEM) и внешнего (EXTEM) пути свертывания крови, выполняются дополнительно две пробы с добавлением к цельной цитратной крови в соотношении 2:1 либо стандартной плазмы, либо плазмы, дефицитной по исследуемому фактору свертывания. В случае нормализации параметра СТ в пробах со стандартной плазмой и сохранении удлиненного параметра СТ в пробах с плазмой, дефицитной по исследуемому фактору свертывания, диагностируется дефицит того или иного фактора свертывания крови (**патент № RU 2699798 C1, 2019 г**).

Теоретическая и практическая значимость

Теоретическая значимость диссертационной работы заключается в том, что полученные в ходе исследования результаты дополняют представления о структуре нарушений гемостаза у пациентов с впервые диагностированными ОЛ, а именно частотой активации фибринолиза; анализ патогенеза и сроков возникновения тромботических осложнений у пациентов с острыми лейкозами привел к созданию алгоритма мониторинга содержания естественных антикоагулянтов в крови, что позволило снизить частоту тромботических осложнений у данной категории пациентов. Лабораторная оценка гемостаза с помощью интегральных методов, в том числе разработанными модифицированными методами, позволила сделать их общедоступными и упростить диагностику и мониторинг нарушений системы гемостаза.

Практическая значимость работы заключается в следующем: разработан алгоритм применения ТЭГ и РОТЭМ для диагностики патологии гемостаза, а также для мониторинга проводимой терапии на основе этих тестов у пациентов с заболеваниями системы крови;

разработан и внедрен в клиническую практику метод локального тромболизиса для лечения тромбозов у пациентов с тяжелой тромбоцитопенией; разработан алгоритм мониторинга плазменной активности антитромбина III и принципы профилактики тромботических осложнений у пациентов с ОЛЛ с учетом режима введения L-аспарагиназы; разработана схема диагностики и лечения пациентов с тромбозами венозных синусов ЦНС; разработаны модификации методов ТЭГ и РОТЭМ для определения гепарина и содержания фибриногена в крови, диагностики врожденных коагулопатий. Разработанные алгоритмы могут быть использованы не только в лечебных учреждениях онкогематологического профиля, но и во всех отделениях интенсивной терапии в России.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанные модификации методов тромбоэластографии позволяют использовать их для выявления гепарина и определения фибриногена в образцах крови. Модификация метода ротационной тромбоэластометрии позволила использовать ее для диагностики дефицита отдельных факторов свертывания крови.
2. При сравнении ТЭГ и РОТЭМ имелась сильная корреляция между амплитудными показателями и параметрами, характеризующие скорость и кинетику образования сгустка. С клоттинговыми тестами в большей степени коррелировали параметры РОТЭМ, чем ТЭГ. Параметры ТГТ слабо коррелировали с параметрами ТЭГ и РОТЭМ.
3. Среди причин перевода в отделение реанимации пациентов с заболеваниями системы крови жизнеугрожающие геморрагические нарушения зарегистрированы у 8% больных и были обусловлены нарушениями плазменного и/или тромбоцитарного звеньев гемостаза. Одной из причин геморрагических осложнений у пациентов с острыми лейкозами является гиперфибринолиз: при впервые диагностированном остром лейкозе гиперфибринолиз выявлен у 54% пациентов с ОПЛ, 4% пациентов с ОМЛ, 8% пациентов с ОЛЛ.
4. Среди причин перевода в отделение реанимации пациентов с заболеваниями системы крови жизнеугрожающие тромботические нарушения были у 7% больных, в большинстве случаев – при лимфопролиферативных заболеваниях. Профилактика сниженной плазменной активности антитромбина III, применение антикоагулянтов, выявление наследственной тромбофилии, исключение гепарин-индуцированной тромбоцитопении позволили предупредить тромботические осложнения. Применение локального тромболизиса при сопутствующем геморрагическом синдроме и тромбоцитопении позволило успешно лечить тромботические осложнения, избегая при этом геморрагических осложнений.

Апробация работы состоялась 09 сентября 2019 г. на заседании проблемной комиссии «Клинические исследования в гематологии (гемобластозы, депрессии кроветворения; ТКМ; миело- и лимфопролиферативные заболевания; опухоли лимфатической системы; патология красной крови; ИТП; порфирии), трансфузиологии, патологии системы гемостаза, хирургической гематологии, анестезиологии и интенсивной терапии» в федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный исследовательский центр гематологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Материалы диссертации докладывались на международных научных конференциях: «Консолидация лабораторной медицины и клинической практики» (Москва, 20 – 22 сентября, 2017 г.), XIX Всероссийской конференции «Жизнеобеспечение при критических состояниях» (Москва, 19 – 20 октября 2017 г.), «Обоснованная терапия нарушений гемостаза» (Казань, 24 – 25 ноября 2017 г.), IV конгрессе гематологов России (Москва, 12 – 14 апреля 2018 г.), 60-ом съезде Американского общества гематологов (Сан-Диего, США, 1 – 3 декабря 2018 г.), 61-ом съезде Американского общества гематологов (Орlando, США, 7 – 10 декабря 2019 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 работ, из них 3 патента на изобретение, 10 статей в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ, 1 раздел в монографии и 6 тезисов.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 166 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Текст иллюстрирован 24 таблицами и 54 рисунками. Список литературы включает 25 отечественных и 183 зарубежных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика пациентов и дизайн исследования

Задачей *первого этапа* работы была разработка модификаций интегральных методов ТЭГ и РОТЭМ. В эту часть исследования были включены 102 пациента, из них 74 пациента включены в исследование по разработке нового метода выявления гепарина в крови с помощью ТЭГ, 19 пациентов – в исследование по разработке метода определения содержания фибриногена в крови с помощью ТЭГ, 9 пациентов – в исследование по разработке алгоритма диагностики наследственных коагулопатий с помощью РОТЭМ (рис. 1). Работа выполнена в рамках инициативной темы: «Разработка методов диагностики нарушений гемостаза у пациентов в критических состояниях с использованием интегральных тестов» ГрАААА-А17117051860156-9.



Рисунок 1. Дизайн первой части исследования – модификация интегральных методов.

На втором этапе исследования проводили сравнение основных параметров интегральных методов (ТЭГ, РОТЭМ, ТГТ, клоттинговых тестов) и выявляли нарушения гемостаза у пациентов с заболеваниями системы крови. В исследование были включены 507 пациентов в возрасте от 18 до 80 лет, в том числе 107 пациентов с впервые диагностированными ОЛ и 400 пациентов, госпитализированных в отделение реанимации НМИЦ гематологии (рис. 2).

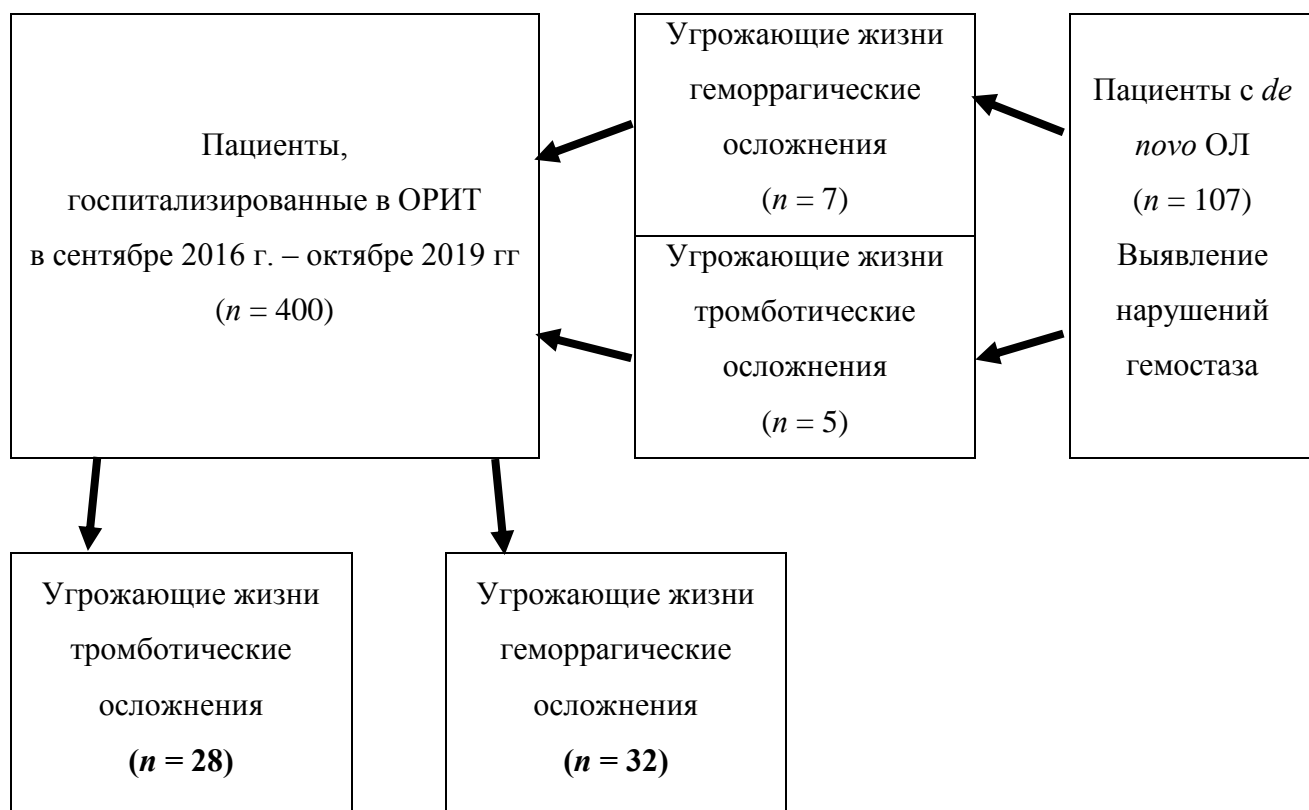


Рисунок 2. Дизайн второй части исследования – сравнение ТЭГ, РОТЭМ, ТГТ и диагностика жизнеугрожающих осложнений нарушений гемостаза у пациентов с заболеваниями системы крови.

Среди обследованных пациентов с впервые диагностированными ОЛЛ было 37 человек, ОМЛ – 46 человек, ОПЛ – 24 человека. Последняя группа пациентов с ОПЛ в связи с

клиническими и морфологическими особенностями заболевания, которые ассоциируются с тяжелым геморрагическим синдромом, была выделена в отдельную группу. Среди всех пациентов, переведенных в отделение реанимации выделяли больных с жизнеугрожающими геморрагическими и тромботическими осложнениями, анализировали причины их возникновения, результаты обследования и лечения. У 107 пациентов с впервые диагностированными ОЛ анализировали структуру нарушений системы гемостаза.

ТЭГ выполняли на 2-х канальном анализаторе TEG-5000 (Haemoscope Corporation, США). Использовали нативные тесты, тесты с гепариназой, тесты на функциональный фибриноген. РОТЭМ выполняли на 4-х канальном анализаторе «ROTEM delta» (Pentapharm GmbH, Германия). В исследовании были использованы 5 основных тестов: EXTEM (внешний путь свертывания), INTEM (внутренний путь свертывания), FIBTEM (контроль полимеризации фибрина), APTEM (контроль фибринолиза), HEPTEM (мониторинг гепарина). ТГГ выполняли на автоматическом анализаторе Severon® alpha с TGA-модулем. Всего выполнено 4483 исследования системы гемостаза (табл. 1).

Таблица 1. Методы исследования* и объем работы.

Показатель	Число исследований
ТЭГ	1016
нативные тесты	520
тесты с гепариназой	241
тесты на функциональный фибриноген	225
РОТЭМ	263
EXTEM	263
INTEM	263
FIBTEM	252
APTEM	240
ТГГ	160
Короткий анализ крови	520
Коагулограмма	520
Всего	4483 исследований

Примечание. *в таблице не представлены дополнительные методы обследования пациентов, которые выполнялись для уточнения причин развития тромбозов и кровотечений (исследование концентрации гомоцистеина, генетическое исследование маркеров тромбофилии, агрегация тромбоцитов, плазменная активность естественных антикоагулянтов и факторов свертывания крови, гепарин-индуцированная тромбоцитопения II типа (ГИТ II), антиХа-активность) и др.

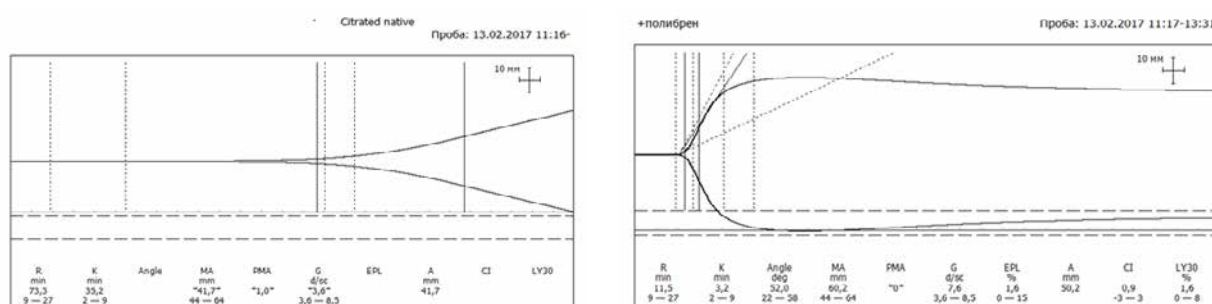
Статистическую обработку проводили с помощью программ BioStat, статистического пакета SAS 9.4. Для проверки нормальности распределения исследуемых выборок был использован критерий Шапиро-Уилка. Учитывая распределение, отличное от нормального, для оценки различий между двумя независимыми выборками был использован U-критерий Манна-Уитни. При проведении анализа на нормальность все числовые переменные были с «тяжелыми хвостами», поэтому данные для дальнейших вычислений были логарифмированы. Для анализа клинических и лабораторных данных использованы методы описательной статистики. Непараметрические параметры представлены в виде медианы (Me) и межквартильного интервала (Q1; Q3). С помощью многофакторного логистического анализа выявлялись наиболее значимые факторы, ассоциированные с геморрагическим синдромом или тромбозом. Значения коэффициентов корреляции определяли по шкале Чеддока: 0 – 0,3 очень слабая, 0,3 – 0,5 слабая, 0,5 – 0,7 средняя, 0,7 – 0,9 высокая, 0,9 – 1 очень высокая. Уровень статистической значимости p принят равным 0,05.

База исследования. Работа выполнена на базе ФГБУ «НМИЦ гематологии» Минздрава России (генеральный директор – акад. РАН проф., д.м.н. Савченко В.Г.). Пациенты, включенные в исследование, наблюдались во всех подразделениях НМИЦ гематологии Минздрава России. Лабораторную часть работы выполняли в экспресс-лаборатории отделения реанимации и интенсивной терапии (зав. отделением – д.м.н. Галстян Г.М.) и в централизованной клинико-диагностической лаборатории (зав. лабораторией – к.м.н. Двирнык В.Н.). Разработку реактивов осуществляли в лаборатории фракционирования белков крови и стандартизации методов контроля препаратов плазмы (зав. лабораторией – к.б.н. Берковский А.Л.). Статистическую обработку данных проводили в информационно-аналитическом отделе (руководитель – к.т.н. Куликов С.М.).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Модификация методов ТЭГ и РОТЭМ

Выявление гепарина. Для выполнения поставленной задачи был разработан реактив содержащий полибрэн. Исследовали различные концентрации раствора полибрэна (0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл, 0,75 мг/мл, 1,0 мг/мл) с образцами цельной цитратной крови, содержащей гепарин. С целью активации свертывания в реактив, содержащий полибрэн, вносили 0,2М CaCl₂, сохраняя таким образом методику постановки пробы. Это позволило при выполнении ТЭГ в кювету вносить 340 мкл цитратной крови и 20 мкл полибрэн-кальциевого реактива. При наличии в крови гепарина добавление к пробе полибрэн-кальциевого реактива приводило к укорочению R, K, увеличению угла α и MA, аналогично пробе с гепариназой (рис. 3).



3А

3Б

Рисунок 3. А – ТЭГ с цельной цитратной кровью, на которой определялась гипокоагуляция; Б – ТЭГ с полибрен-кальциевым реактивом – нормализация параметров R, K, угол α и МА.

При сравнении с помощью ТЭГ 30 образцов крови с различными концентрациями полибрена (0,25 мг/мл, 0,50 мг/мл, 0,75 мг/мл, 1,0 мг/мл) наиболее близкие параметры R, K, угол α и МА с аналогичными параметрами ТЭГ с гепариназой были получены при использовании полибрен-кальциевого раствора с концентрацией 0,25 – 0,50 мг/мл. Использование полибрен-кальциевого реактива при отсутствии в крови гепарина не влияло на результаты ТЭГ. Исследованы 74 образца крови, полученные у 56 пациентов, леченных нефракционированным гепарином в виде непрерывной внутривенной инфузии с различной скоростью (от 12 000 ед/сут до 30 000 ед/сут). Использовали три канала ТЭГ. В первую кювету (нативный тест) вносили 20 мкл 0,2 М CaCl₂ и 340 мкл цельной цитратной крови. В гепариназную кювету вносили 20 мкл 0,2М CaCl₂ и затем 340 мкл цельной цитратной крови. На третьем канале в кювету вносили 20 мкл полибрен-кальциевого реактива, содержащего 0,2 М CaCl₂, и полибрен в концентрации 0,5 мг/мл. Сравнили изменения параметров R, K, углов α и МА в пробах с гепариназой и полибреном с параметрами нативных тестов цельной цитратной крови. Полибрен-кальциевый реактив, как и гепариназа, приводил к уменьшению параметров R и K и увеличению МА по сравнению с нативной пробой. Не было значимых различий параметров R, K и МА в ТЭГ с гепариназой и полибреном (табл. 2).

Таблица 2. Параметры нативной ТЭГ, ТЭГ с гепариназой и ТЭГ с полибреном-кальциевым реактивом. Данные представлены в виде медианы и межквартильного интервала.

Параметр	Нативная ТЭГ	ТЭГ с гепариназой	ТЭГ с полибреном
R, мин	23,4 (16,9 – 35,5)	14,2 (11,7 – 17)	20,2 (14,9 – 23,8)
K, мин	8,2 (4,1 – 16,1)	4,1 (2,9 – 5,3)	4,9 (3,7 – 6,6)
МА, мм	58,1 (46,5 – 61,9)	60,8 (54 – 67,1)	61,9 (55,3 – 67,9)

При сравнении изменений параметров ТЭГ (R, K, угол α , MA) цельной цитратной крови с гепариназой и полибрен-кальциевым реактивом по сравнению с нативной ТЭГ с цельной цитратной кровью выявлена сильная корреляция (рис. 3).

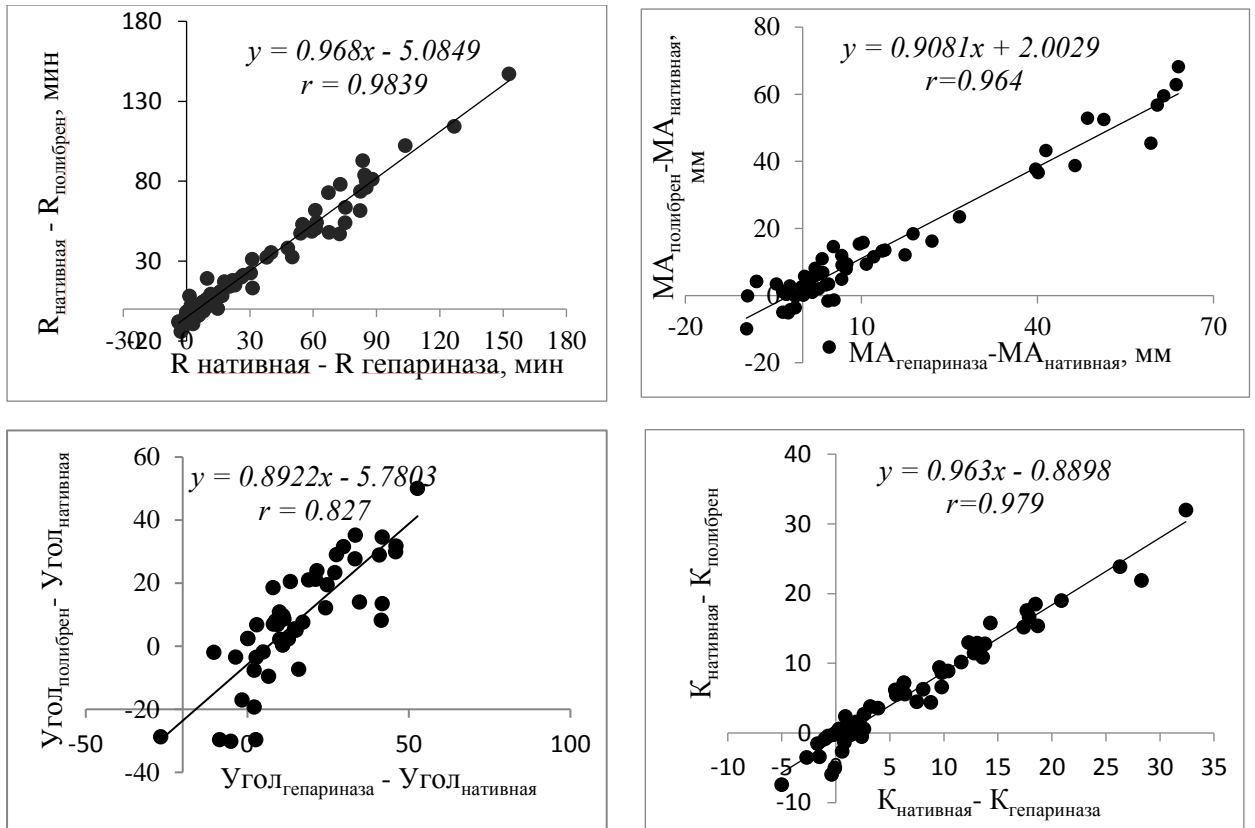


Рисунок 3. Корреляционный анализ изменений параметров ТЭГ в тестах с полибрен-кальциевым реактивом и кюветах с гепариназой у пациентов, получавших гепарин. Имеется сильная корреляция между изменениями основных величин при нейтрализации гепарина гепариназой и полибрен-кальциевым реактивом.

Если отношение $R_{\text{нативная}}/R_{\text{гепариназа}}$ составляет $> 1,1$, то это свидетельствует о наличии в пробе крови гепарина (М. Војан и соавт., 2017). В работе между отношениями $R_{\text{нативная}}/R_{\text{гепариназа}}$ и $R_{\text{нативная}}/R_{\text{полибрен}}$ также была выявлена сильная корреляция ($r = 0,866$; $p < 0,001$) (рис. 4).

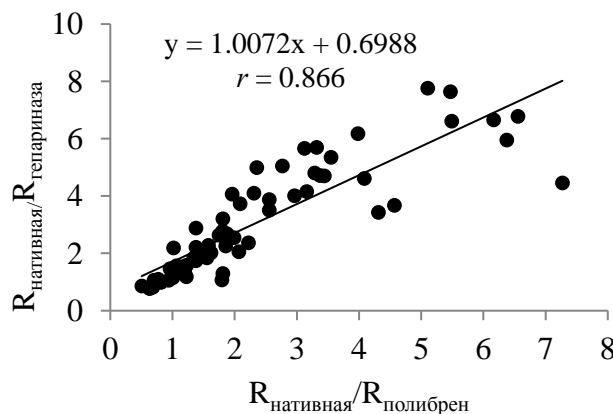


Рисунок 4. Корреляция между коэффициентами $R_{\text{нативная}}/R_{\text{гепариназа}}$ и $R_{\text{нативная}}/R_{\text{полибрен}}$.

Определение фибриногена. В качестве реактива, индуцирующего образование фибрина из фибриногена, был выбран батроксобин – фермент из яда змеи *Bothrops atrox*, вызывающий переход фибриногена в фибрин путем отщепления от фибриногена фибринопептида А. Батроксобин не подавляется гепарином и может использоваться для оценки полимеризации мономеров фибрина в присутствии гепарина. Поскольку на определение концентрации активного фибриногена в цельной крови оказывает влияние возможная активация тромбоцитов, одной из задач исследования было получить тромбиноподобный фермент из яда *Bathrops atrox venom*, который одновременно не активировал бы тромбоциты. С этой целью были подобраны условия хроматографии, которые заключались в следующем: 50 мг яда растворяли в буферном растворе состава 50 мМ трис-НСl, рН 7,4 и наносили на колонну 1,6x15 см с анионообменным сорбентом DEAE-Sepharose Fast Flow. Сорбент промывали стартовым буфером, и затем связанный с сорбентом белок элюировали градиентом ионной силы натрий хлорида (градиент ионной силы от 0 до 100 мМ). В выходящих фракциях (по 5 мл) автоматически записывалась концентрация белка, а также определяли время свертывания с раствором фибриногена. Чем короче было время свертывания, тем выше активность тромбиноподобного фермента в выходящих с колонны фракциях. Фракции фермента собирали отдельно, стабилизировали, добавляя бычий сывороточный альбумин до концентрации 5 мг/мл, разливали по флаконам и лиофилизировали.

В результате хроматографической очистки батроксобина (рис. 5) тромбиноподобная активность батроксобина распределялась по двум фракциям: первая элюировалась с колонны при низкой концентрации соли, а вторая – при более высокой концентрации.

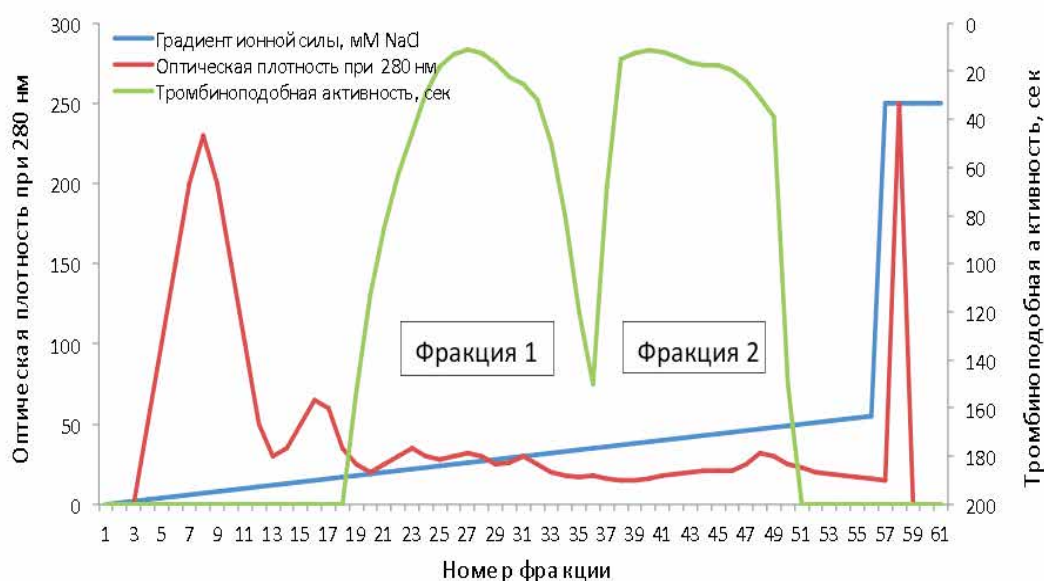
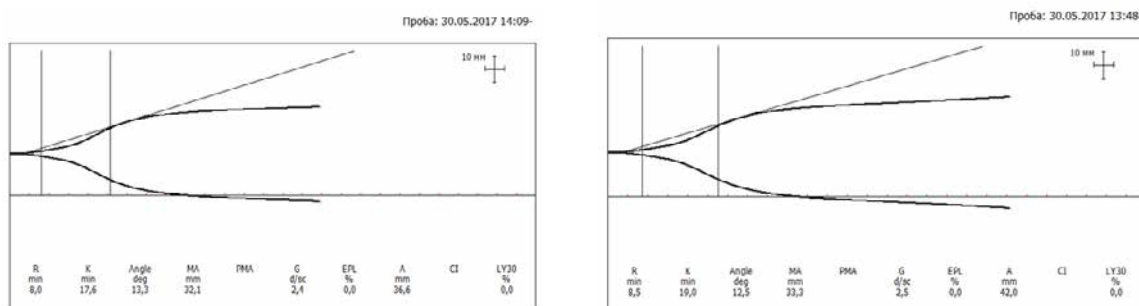


Рисунок 5. Результаты хроматографической очистки *Bothrops atrox venom*.

На ТЭГ исследовали влияние обеих фракций батроксобина на тромбоциты. Для этого из пробы цельной гепаринизированной крови путем центрифугирования получали обедненную тромбоцитами и обогащенную тромбоцитами плазму. С полученными образцами плазмы выполняли ТЭГ с каждой из фракций батроксобина. К 340 мкл каждого образца плазмы добавляли по 10 мкл раствора батроксобина активностью 5 МЕ/мл. Оценивали максимальную амплитуду полученных тромбоэластограмм.

Первая фракция батроксобина не оказывала существенного влияния на максимальную амплитуду ТЭГ в обедненной и обогащенной тромбоцитами плазме (рис. 6).

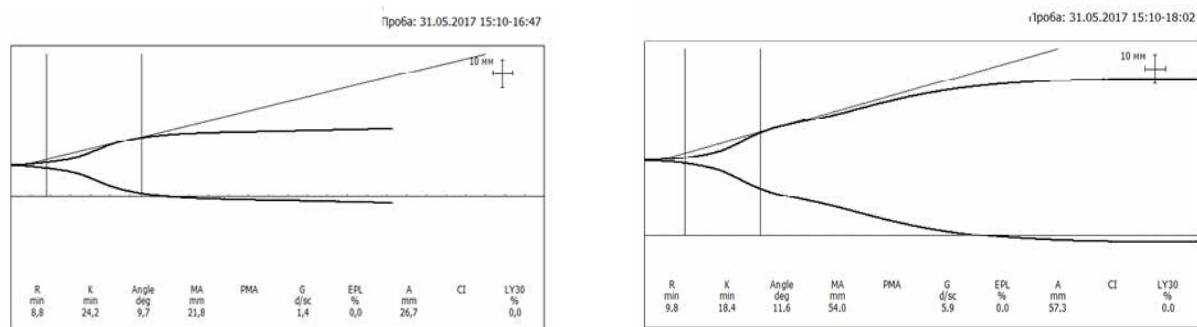


А.

Б.

Рисунок 6. Результаты исследования обедненной (А) и обогащенной (Б) тромбоцитами плазмы с первой фракцией батроксобина.

Исследование второй фракции батроксобина приводило к значительно большей максимальной амплитуде ТЭГ в обогащенной тромбоцитами плазме, чем в обедненной тромбоцитами плазме (рис. 7), т.е. стимулировало агрегацию тромбоцитов. Потому для дальнейших исследований использовали только первую фракцию батроксобина.



А.

Б.

Рисунок 7. Результаты исследования обедненной (А) и обогащенной (Б) тромбоцитами плазмы со второй фракцией батроксобина.

Исследовано 30 образцов крови, полученных у 17 пациентов. Концентрация фибриногена в плазме цитратной крови колебалась от 0,5 г/л до 8,7 г/л. Величина МА_{БАТРОКС} на ТЭГ в пробе с батроксобинном и гепаринизированной кровью колебалась от 2,3 мм до 62,5 мм. Зависимость между МА_{БАТРОКС} и концентрацией фибриногена представляла собой прямую линию с

коэффициентом корреляции 0,83 ($p < 0,001$) (рис. 8А), связавшая концентрацию активного фибриногена с максимальной амплитудой уравнением:

$$A_{\text{ФБАТРОКС}} = 0,1151 \times MA_{\text{БАТРОКС}} + 0,5966,$$

где $A_{\text{ФБАТРОКС}}$ – это расчетная концентрация активного фибриногена (г/л) в тесте с батроксобином, $MA_{\text{БАТРОКС}}$ – максимальная амплитуда на ТЭГ с гепаринизированной кровью и батроксобином (мм), 0,1151 и 0,5966 – коэффициенты уравнения регрессии. Концентрация активного фибриногена в пробе с батроксобином, рассчитанная согласно уравнению, колебалась от 0,8 г/л до 7,8 г/л, т.е. значения были близки к концентрации фибриногена, определенного по методу Клаусса. Коэффициент корреляции между MA_{FF} и $MA_{\text{БАТРОКС}}$ составил 0,88 ($p < 0,001$) (рис. 8Б).

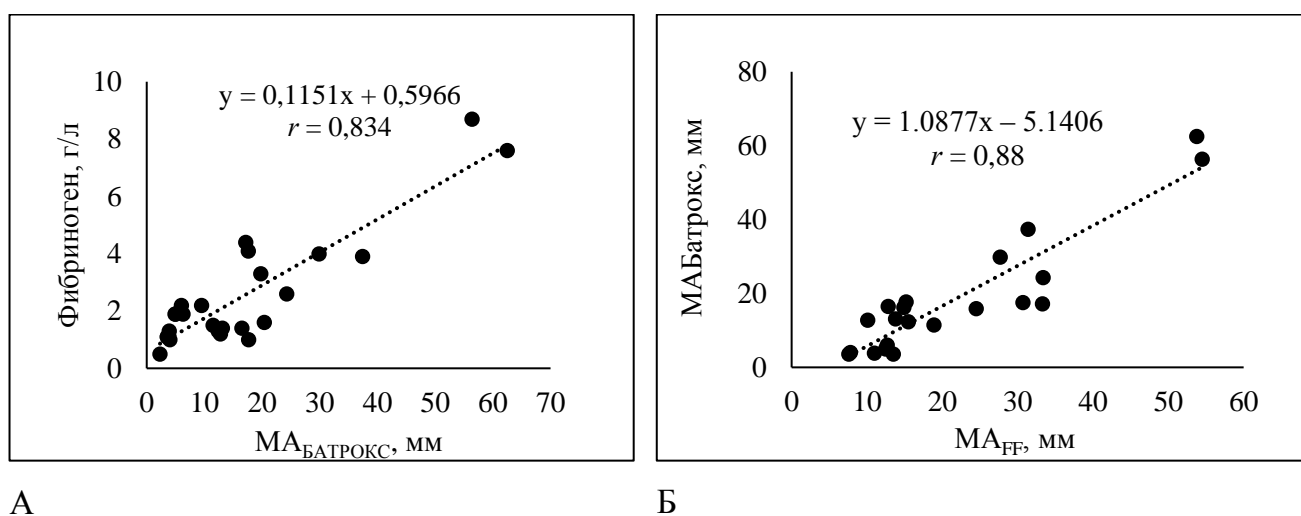


Рисунок 8. Корреляция между концентрацией фибриногена в плазме, определенной по методу Клаусса, и $MA_{\text{БАТРОКС}}$ (А) и корреляция между MA_{FF} и $MA_{\text{БАТРОКС}}$ (Б).

При сравнении MA_{FF} и $MA_{\text{БАТРОКС}}$ методом Бленд-Альтмана значения, полученные обоими методами, согласовались между собой (рис. 9).

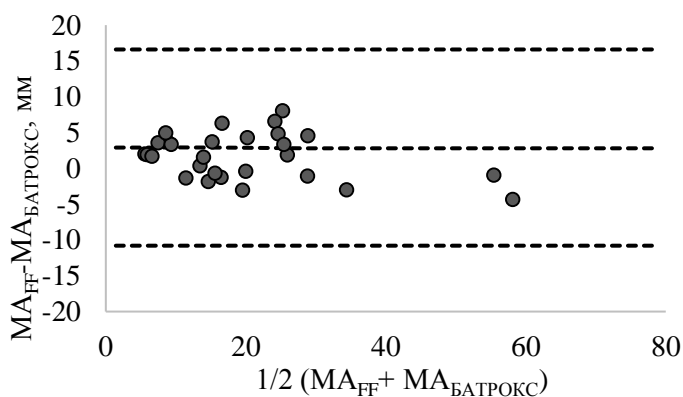


Рисунок 9. Сравнение MA_{FF} и $MA_{\text{БАТРОКС}}$ методом Бленд-Альтмана. Пунктирными линиями представлены средняя разница MA_{FF} и $MA_{\text{БАТРОКС}}$, а также средняя разница $\pm 1,96$ стандартного отклонения.

Таким образом, максимальная амплитуда тромбозластограммы, выполненной с цельной гепаринизированной кровью с батроксобином, коррелирует с плазменной концентрацией фибриногена и с результатами теста «функциональный фибриноген», и отражает концентрацию фибриногена у пациентов.

Диагностика дефицитов факторов свертывания крови. На первом этапе выполняли два стандартных теста, позволявших выявить гипокоагуляцию по внешнему (EXTEM) или внутреннему (INTEM) пути свертывания, в которых оценивали параметр СТ, характеризующий начало образования сгустка и позволяющий оценить суммарную активность факторов свертывания. Дальнейшие исследования были направлены на выявление дефицита факторов свертывания крови. Для каждого заболевания принцип был одинаков (рис. 10): в две пробирки вносили по 2 части цельной цитратной исследуемой крови, затем в одну из них вносили 1 часть стандартной плазмы, в другую – 1 часть дефицитной плазмы, в которой отсутствовал тот или иной исследуемый фактор свертывания крови (плазменная активность $\leq 1\%$). Поскольку в цельной крови примерно половину составляла плазма, добавление такого же количества стандартной плазмы, содержавшей все факторы свертывания крови, компенсировало дефицит факторов и приводило к нормализации измененного показателя СТ в тестах EXTEM и/или INTEM, в пробе же с дефицитной плазмой показатель СТ оставался удлиненным.

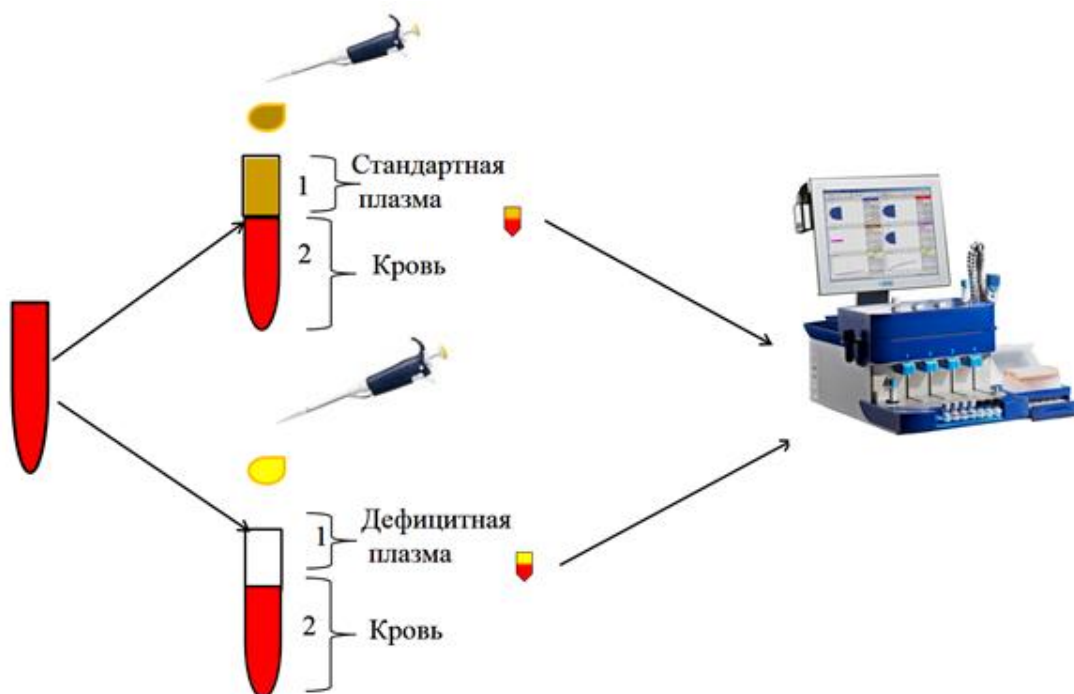


Рисунок 10. Схемы выполнения исследования.

После выявления удлинения СТ в тестах внешнего пути (EXTEM) и/или внутреннего пути свертывания (INTEM), исключения действия гепарина (HEPTEM) и гипофибриногенемии (FIBTEM), выполняли смешивание исследуемой свежей цитратной крови в соотношении 2:1 со стандартной плазмой и с дефицитной по одному из исследуемых факторов плазмой. Нормализация показателя СТ РОТЭМ в пробе со стандартной плазмой и сохранение гипокоагуляции в пробе с дефицитной по фактору плазмой позволяет подтвердить дефицит фактора свертывания крови. РОТЭМ был успешно применен для диагностики и контроля за гемостатической терапией rFVIIa, в периоперационном периоде у пациентов с наследственными коагулопатиями, при лечении пациентов с дефицитом FV, FVII, FXII.

Сравнение параметров ТЭГ, РОТЭМ, ТГТ и клоттинговых тестов

Сравнение параметров ТЭГ, РОТЭМ и ТГТ между собой и с клоттинговыми тестами проведено у 107 пациентов (57 мужчин и 50 женщин) в возрасте от 18 до 79 лет (медиана возраста 34 года) с впервые диагностированными ОЛ. Параметры гемостаза исследовали до трансфузии компонентов крови. При сравнении основных параметров ТЭГ с коагулограммой установлена значимая связь между параметрами К, углом α , МА и плазменной концентрацией фибриногена. Обратная связь была получена между содержанием D-димера и МА. Период R обратно коррелировал с концентрацией тромбоцитов. Количество тромбоцитов в крови было связано с углом α и МА. При оценке параметров РОТЭМ выявлена связь между EXTEM_{СТ} и протромбином по Квику, EXTEM_{СТ} и активированным частичным тромбопластиновым временем (АЧТВ), EXTEM_{СТ} и D-димером. Обратная связь была получена между концентрацией тромбоцитов и фибриногена с EXTEM_{СТ}. Сильная связь выявлена между EXTEM_{МСФ} и концентрацией фибриногена, а также концентрацией тромбоцитов. Сильная отрицательная связь получена между EXTEM_{МСФ} и D-димером. Параметры в тесте INTEM, подобно тесту EXTEM, были связаны с показателями коагулограммы и тромбоцитов. Выявлена сильная связь INTEM_{СТ} и АЧТВ. Параметр ML одинаково оценивали лизис сгустка в тестах INTEM и EXTEM.

Среди параметров ТГТ была обнаружена слабая связь эндогенного тромбинового потенциала (ЭТП) с АЧТВ и протромбином по Квику. Протромбин по Квику слабо коррелировал со всеми четырьмя основными параметрами ТГТ. Слабая корреляция была между tLag и EXTEM_{МСФ}, tLag и FIBTEM_{МСФ}, tPeak и EXTEM_{СТ}, tPeak и EXTEM_{МСФ}, tPeak и FIBTEM_{МСФ}.

При сравнении ТЭГ и РОТЭМ между собой выявлено, что не все параметры ТЭГ коррелировали с соответствующими параметрами РОТЭМ. Имелась сильная корреляция между амплитудными характеристиками и параметрами, характеризующие скорость и кинетику образования сгустка. Параметры INTEM лучше коррелировали с соответствующими

параметрами ТЭГ (СТ коррелировал с R, коррелировали углы α , MCF коррелировал с MA). Параметры лизиса сгустка крови LY30 и ML не коррелировали между собой.

***Геморрагические и тромботические осложнения у пациентов
с заболеваниями системы крови***

Нарушения гемостаза при впервые выявленных ОЛ. Обследовано 107 пациентов, у 34 (32%) из 107 пациентов, включенных в исследование, на момент диагностики ОЛ был геморрагический синдром. Гипокоагуляционные изменения методами ТЭГ и РОТЭМ чаще выявлялись у пациентов с впервые диагностированным ОПЛ. Гиперфибринолиз был выявлен у 54% пациентов с ОПЛ, у 8% с ОЛЛ, у 4% с ОМЛ (табл. 3). Гиперфибринолиз, выявляемый с помощью теста АРТЕМ, был обнаружен у 33% пациентов с ОПЛ.

Таблица 3. Исследование активации фибринолиза у пациентов с впервые диагностированными ОЛ.

Острые лейкозы	ОЛЛ ($n = 37$)	ОМЛ ($n = 46$)	ОПЛ ($n = 24$)
Концентрация фибриногена, г/л Me (95% ДИ)	2,9 (2,3-3,2)	2,8 (2,5-3,7)	1,1 (0,8-1,6)
D-димер, мкг/л, Me (95% ДИ)	1761 (1550-2870)	1444 (902-2692)	6477 (2692-26816)
Гиперфибринолиз ML _{EXTEM} >15%	$n = 3$ (8%)	$n = 2$ (4%)	$n = 5$ (21%)
Гиперфибринолиз MCF _{АРТЕМ} - MCF _{EXTEM} ≥ 3 мм	–	–	$n = 8$ (33%)
Всего	$n = 3$ (8%)	$n = 2$ (4%)	$n = 13$ (54%)

В дебюте ОЛ геморрагический синдром у пациентов проявлялся петехиями (16) и подкожными гематомами (12), десневыми (10) и носовыми кровотечениями (6). Реже встречались маточные кровотечения (2), гематурия (2), желудочно-кишечное кровотечение (1). У 6 из 107 пациентов были гематомы ЦНС, у 1 пациента – гематома параорбитальной области.

Между исследуемыми вариантами ОЛ значимо различалась концентрация фибриногена. У пациентов с ОЛЛ и ОМЛ концентрация фибриногена крови в дебюте заболевания была выше, чем у пациентов с ОПЛ, что, в свою очередь, отразилось на результатах ТЭГ и РОТЭМ. Точками отсечения, отличающие ОПЛ от других видов ОЛ, явились: концентрация фибриногена < 1,75 г/л (чувствительность 83,3%, специфичность 83,13%), концентрация D-димера > 2686 мкг/л (чувствительность 72,73%, специфичность 64,79), MCF_{ФВТЕМ} < 12,5 мм (чувствительность 80%, специфичность 80%), MA_{FF} < 9,7 мм (чувствительность 86,96%, специфичность 90,12%) (рис. 11).

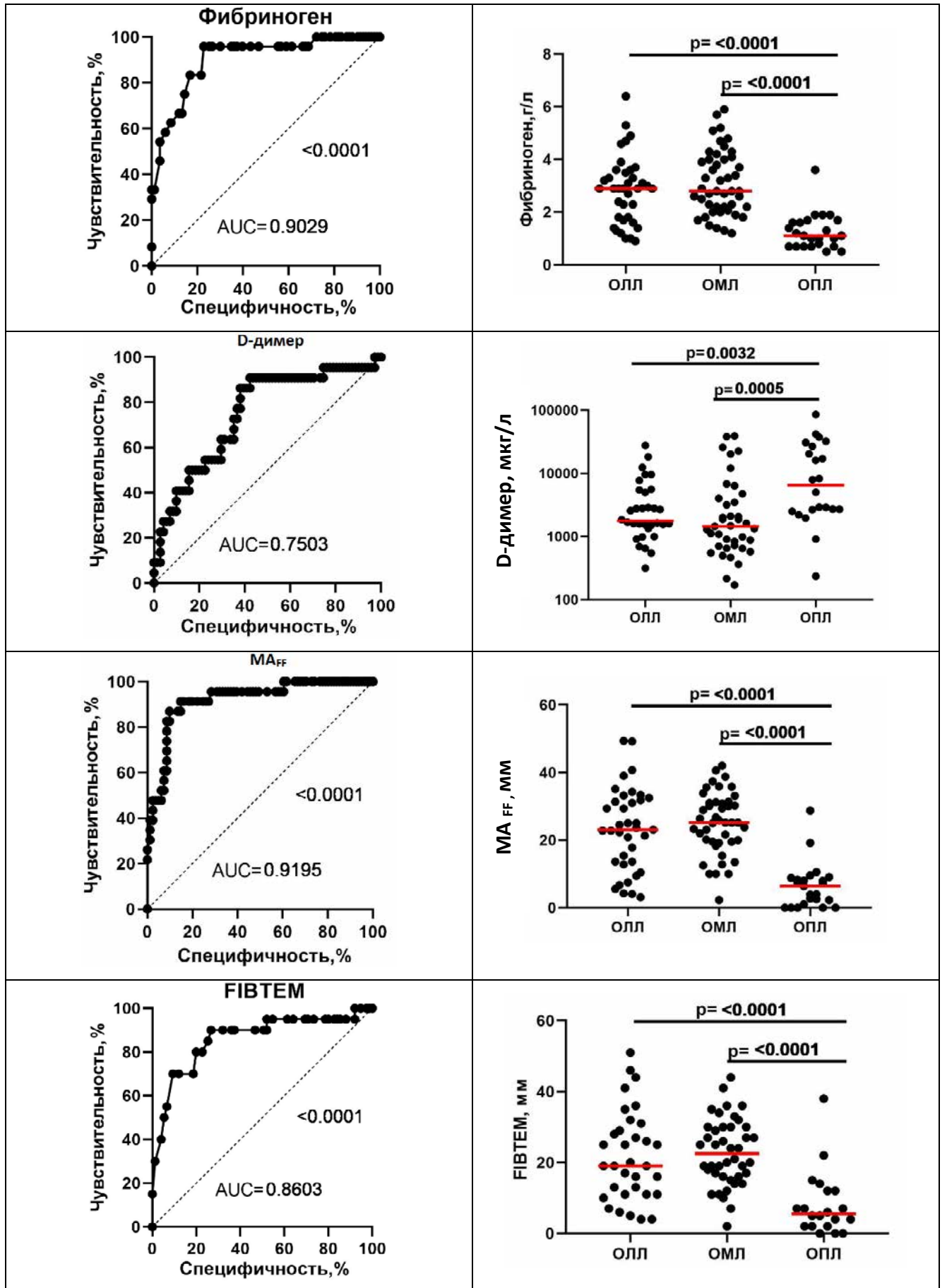


Рисунок 11. ROC-анализ для пациентов с впервые диагностированным ОПЛ: отличие по параметрам гемостаза от остальных вариантов ОЛ.

Жизнеугрожающий геморрагический синдром был причиной перевода в ОРИТ 32 (8%) из 400 госпитализированных в ОРИТ пациентов. Нарушения тромбоцитарного гемостаза были выявлены у 74% ($n = 26$) пациентов с кровотечениями. Коагуляционные нарушения были у 93% ($n = 30$) пациентов. У 47% ($n = 15$) пациентов с кровотечениями АЧТВ было удлинено (медиана – 60 с, колебания от 53 с до 98 с; норма 30 – 40 с). У 47% ($n = 15$) пациентов протромбин по Квику был $< 70\%$ (колебания 27% – 120%, медиана – 50%;). Гипофибриногемия $< 1,5$ г/л была выявлена у 34% ($n = 11$) (медиана – 2 г/л, колебания от 0,8 г/л до 5,6 г/л).

У пациентов с кровотечениями нарушения гемостаза компенсировали с помощью заместительных трансфузий компонентов крови ($n = 6$), концентратов протромбинового комплекса ($n = 9$), рекомбинантного активированного фактора свертывания VII ($n = 16$), транексамовой кислоты ($n = 1$).

Поиск групп риска неблагоприятного прогноза развития некупируемого геморрагического синдрома проводили с помощью многофакторного, дисперсионного, логистического анализа и таблиц сопряжения. Показатель $MCF_{EXTEM} < 30$ мм ассоциировался с высоким риском развития некупируемого кровотечения у пациентов с заболеваниями системы крови: отношение шансов составило 16, т.е. риск развития некупируемого кровотечения был в 16 раз больше. В результате исследования была выявлена группа риска пациентов с благоприятным прогнозом, у которых отмечалось увеличение MCF в результате проводимого лечения, и группа риска с неблагоприятным прогнозом, у которых не было укорочения СТ в тесте АРТЕМ после лечения (рис. 12).

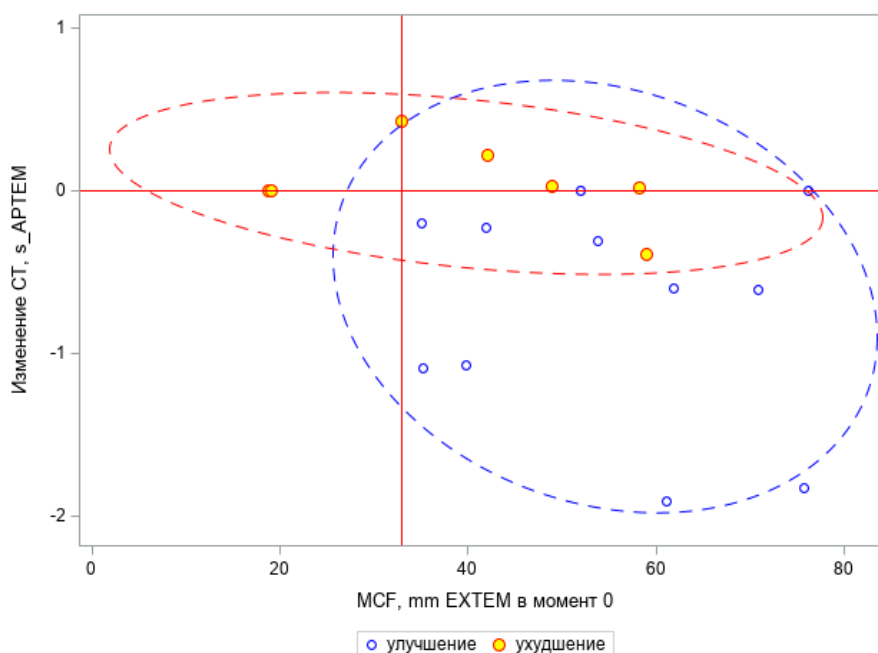


Рисунок 12. Группы риска благоприятного и неблагоприятного исхода у пациентов с кровотечениями. 1 группа – увеличение MCF после терапии; 2 группа – $АРТЕМ_{СТ}$ после терапии не изменялся в случаях отсутствия эффекта от проводимой терапии.

Таким образом, наиболее часто кровотечения встречались у пациентов с ОЛ. Преобладали желудочно-кишечные кровотечения. Рецидивирующие кровотечения возникали у пациентов с реакцией «трансплантат против хозяина», резистентных к проводимой терапии глюкокортикостероидами.

Тромботические осложнения возникли у 28 (7%) из 400 пациентов в возрасте от 18 до 79 лет (медиана возраста 40 лет), чаще у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. От ишемического инсульта умерли 2 пациента. У 5 пациентов с тромбозами одновременно был геморрагический синдром: у 3 – сочетание тромбоза венозных синусов ЦНС с внутримозговыми гематомами, у 1 – тромбоз эмболия легочной артерии (ТЭЛА) сочеталась с желудочно-кишечным кровотечением, у 1 – ишемический инсульт сочетался с субарахноидальным кровоизлиянием.

Тромбофилия как причина тромботических осложнений выявлена у 8 (28,6%) из 28 пациентов: у 7 была гомозиготная мутация в гене фермента метилентетрагидрофолатредуктазы, у одного – мутация Лейдена. У 3 пациентов на момент диагностики тромбоза была гипергомоцистеинемия. Тромбозы, обусловленные ГИТ II типа, диагностированы у 5 пациентов.

Системный тромболизис проводили 8 пациентам в связи с ТЭЛА ($n = 2$), острым инфарктом миокарда ($n = 2$), облитерирующим артериальным тромбозом нижней конечности ($n = 2$) и тромбозом подключичной вены ($n = 2$). Доза тканевого активатора плазминогена (тАП) была 100 мг. Во всех случаях проведения системного тромболизиса был достигнут системный фибринолиз: ML_{EXTEM} 87 – 100%, по данным ТЭГ LY 27 – 93%. После проведения системного лизиса геморрагических осложнений не было. У 2 пациентов с ОЛЛ был установлен кава-фильтр в нижнюю полую вену.

5 пациентам проводили локальный тромболизис с помощью тАП. Показаниями к проведению локального тромболизиса явились тромбозы венозных синусов ЦНС ($n = 2$), ТЭЛА ($n = 2$), тромбоз нижней и верхней полых вен с флотацией тромба в правом предсердии ($n = 1$). У всех этих пациентов тромбозам сопутствовал геморрагический синдром. Чтобы исключить системный эффект тАП, выполняли ТЭГ и РОТЭМ, оценивали показатели ML_{EXTEM} и LY30. У 4 из 5 пациентов системного эффекта тромболиза не зарегистрировано. В результате проведения локального тромболизиса во всех случаях достигнут лизис тромба.

Тромбоз венозных синусов ЦНС явился показанием к переводу в ОРИТ 8 (7 женщин и 1 мужчина) из 28 пациентов с жизнеугрожающими тромботическими осложнениями. Как правило, тромбозы синусов возникали в молодом возрасте: медиана возраста составила 33 года (от 30 до 51 года.). Тромбозы венозных синусов ЦНС развились у пациентов с ОЛЛ ($n = 5$), лимфомой Ходжкина ($n = 2$), ОМЛ ($n = 1$) (табл. 24).

Тромбоцитопения была у 5 пациентов, гипофибриногенемия – у 3, укорочение АЧТВ – у 5 пациентов, сниженная плазменная активность антитромбина III – у 3 пациентов, сниженная плазменная активность протеина С и S – у 2 из 8 пациентов. Значения протромбина по Квику были нормальными у всех пациентов. Увеличение генерации тромбина (ЭТП) было выявлено у 3 из 8 пациентов с тромбозами венозных синусов ЦНС: 2342 – 2124 – 2606 нМ. Эндovasкулярные методы лечения применили у 7 из 8 пациентов. Тромбоэкстракцию выполнили у 7 пациентов, из них у 2 тромбоэкстракцию сочетали с баллонной ангиопластикой. При недостаточном эффекте оперативного лечения пациентам проводили локальный тромболитический с последующей непрерывной инфузией НМГ.

Заключение

Работа посвящена диагностике и мониторингу лечения нарушений гемостаза у пациентов с заболеваниями системы крови, а также разработке алгоритмов профилактики, диагностики и лечения жизнеугрожающих тромботических и/или геморрагических осложнений.

Показано, что модификация методов ТЭГ позволяет выявлять гепарин в образцах крови, оценивать фибриноген. РОТЭМ позволяет диагностировать врожденные коагулопатии в стационарах, где нет специализированных лабораторий. Применение отечественных реагентов позволяет удешевить методы и сделать их доступным для применения на территории России.

Жизнеугрожающие кровотечения были причинами перевода в ОРИТ 8% пациентов. Нарушения тромбоцитарного гемостаза выявлены у 74% пациентов с кровотечениями, коагуляционные нарушения – у 93%. У пациентов с геморрагическим синдромом и $MSF_{EXTEM} < 30$ мм риск развития угрожающего жизни кровотечения повышался в 16 раз. При обследовании пациентов с впервые диагностированными острыми лейкозами гиперфибринолиз с помощью РОТЭМ ($ML \% > 15\%$) выявлен у 8% пациентов с ОЛЛ, у 4% пациентов с ОМЛ и у 54% пациентов с ОПЛ. Ни в одном случае гиперфибринолиз не выявлялся с помощью ТЭГ. Выявление гиперфибринолиза позволяло корректировать гемостатическую терапию, применять не только криопреципитат для коррекции гипофибриногенемии, но и транексамовую кислоту.

Жизнеугрожающие тромботические осложнения были причинами перевода в ОРИТ 7% пациентов. У пятой части из них одновременно с тромбозами был геморрагический синдром. Основные тромботические осложнения – это ТЭЛА, инфаркт миокарда, ишемический инсульт, тромбы в системе верхней и/или нижней полых вен, в правом предсердии, тромбозы венозных синусов ЦНС. У большинства пациентов с тромботическими осложнениями на фоне геморрагического синдрома и тромбоцитопении с успехом применялся локальный тромболитический.

Выводы

1. Разработанный полибрен-кальциевый реактив позволяет выявлять гепарин в пробах крови с помощью ТЭГ. Модификация метода ТЭГ с батроксобином позволяет определять содержание фибриногена в гепаринизированной крови.
2. Метод РОТЭМ может быть использован для диагностики наследственных коагулопатий и контроля за проводимой при них гемостатической терапией. При обследовании по предложенному алгоритму нормализация показателей в пробе со стандартной плазмой и сохранение гипокоагуляции в пробе с дефицитной по фактору плазмой позволяет подтвердить дефицит фактора свертывания крови.
3. При сравнении основных параметров значимая корреляция обнаружена между концентрациями тромбоцитов, фибриногена и амплитудными характеристиками ТЭГ и РОТЭМ. Параметры ТЭГ лучше коррелируют с параметрами ITNEM, чем EXTEM, что объясняется различиями в реактивах.
4. Жизнеугрожающие кровотечения были причинами перевода в реанимацию 8% пациентов. Нарушение тромбоцитарного гемостаза выявлено у 74% пациентов, коагуляционные нарушения выявлены у 93% пациентов. Риск развития кровотечения повышается в 16 раз при $EXTEM_{MCF} < 30$ мм. Гиперфибринолиз у пациентов с *de novo* острыми лейкозами был выявлен с помощью РОТЭМ у 54% пациентов с ОПЛ, 4% пациентов с ОМЛ и 8% пациентов с ОЛЛ. С помощью ТЭГ гиперфибринолиз не был выявлен ни в одном случае. Параметрами, отличающими ОПЛ от других видов ОЛ, явились: концентрация фибриногена $< 1,75$ г/л, концентрация D-димера > 2686 мкг/л, $MCF_{FIBTEM} < 12,5$ мм, $MA_{FF} < 9,7$ мм.
5. У пациентов с заболеваниями системы крови жизнеугрожающие тромботические осложнения явились причиной перевода в реанимацию в 7% случаев. В 60,7% случаев тромбозы возникали у пациентов с лимфопролиферативными заболеваниями. Применение локального тромболитика эффективно для лечения венозных тромбозов у пациентов с тромбоцитопенией. Мониторинг и профилактическое применение концентрата антитромбина III позволяют уменьшить частоту тромбозов у пациентов с острым лимфобластным лейкозом, получающих терапию L-аспарагиназой.

Практические рекомендации

1. Мониторинг плазменной активности антитромбина III у пациентов с ОЛЛ необходимо проводить на 3,5,9 сутки после терапии L-аспарагиназой. В случае снижения плазменной активности антитромбина III менее 50-60% рекомендуется трансфузия свежзамороженной плазмы в дозе 10-15 мл/кг массы тела пациента. При более низких значениях плазменной активности антитромбина III более эффективно применение концентрата антитромбина III.
2. Параметры системы гемостаза, отличающие ОПЛ от других видов ОЛ в дебюте заболевания, являются: плазменные концентрации фибриногена $< 1,75$ г/л и D-димера > 2686 мкг/л, по данным РОТЭМ FIBTEM_{МСФ} $< 12,5$ мм и ТЭГ МА_{FF} $< 9,7$ мм.
3. Гиперфибринолиз у пациентов с впервые диагностированными острыми лейкозами выявляется с помощью РОТЭМ. Критериями гиперфибринолиза на РОТЭМ являются: увеличение EXTEM_{ML} > 15 % и/или увеличение APTEM_{МСФ} по сравнению с EXTEM_{МСФ} на 3 мм. Гиперфибринолиз встречается у половины больных ОПЛ (в 54% случаев), однако, он может встречаться у больных другими вариантами ОМЛ (в 4% случаев) и ОЛЛ (в 8% случаев). Пациентам с гиперфибринолизом показана терапия транексамовой кислотой. В случаях сочетания гиперфибринолиза со сниженной функцией фибриногена (FIBTEM_{МСФ}) показана терапия криопреципитатом.
4. При лечении пациентов с венозными тромбозами в сочетании с тромбоцитопенией методом выбора является локальный тромболизис. РОТЭМ позволяет контролировать отсутствие системного эффекта. Для обеспечения антикоагуляции и избежания геморрагических осложнений после проведения тромболизиса рекомендовано использование круглосуточной внутривенной инфузии низкомолекулярных гепаринов, что позволяет избежать пиковых колебаний концентраций антиХа- активности в крови.

Список работ, опубликованных по теме диссертации*Патенты*

1. О.А. Полеводова, Г.М. Галстян, А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева, В.Г. Савченко. Способ выявления гепарина в крови. Бюллетень «Изобретения и полезные модели» №21-2018 от 24.07.2018 г, патент № RU 2662171 С1
2. О.А. Полеводова, Г.М. Галстян, А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева. Способ определения функционального фибриногена. Бюллетень «Изобретения и полезные модели» №29-2018 от 16.10.2018 г, патент № RU 2669796 С1
3. О.А. Полеводова, Г.М. Галстян, А.Е. Щекина, Е.В. Яковлева, В.Г. Савченко. Способ выявления дефицитов факторов свертывания крови методом тромбозластометрии. Бюллетень «Изобретения и полезные модели» №26-2019 от 11.09.2019 г, патент № RU 2699798 С1

Статьи и монографии

1. О.А. Полеводова, Г.М. Галстян. Интегральные методы оценки гемостаза в гематологической практике. В кн: В.Г. Савченко (Ред.). Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. М.: Практика, 2018, том 1, с.129-141.
2. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, А.Ю. Гавриш, Т.Ю. Полянская, В.Ю. Зоренко, М.С. Сампиев, Л.С. Бирюкова, С.В. Модел, Л.А. Горгидзе, В.Г. Савченко. Тромботические осложнения у больных гемофилией. Терапевтический архив. 2017; (89)07:76-84. doi:10.17116/terarkh201789776-84
3. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, А.В. Баженов, В.В. Троицкая, О.А. Гаврилина, Д.Г. Гительзон, А.Э. Васильев, Е.Н. Паровичникова. Тромбогеморрагические осложнения при лечении больных острым лимфобластным лейкозом L-аспарагиназой. Клиническая онкогематология. 2018; 11(1):89–99. doi:10.21320/2500-2139-2018-11-1-89-99
4. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, И.В. Терехова, Н.И. Коняшина, Т.Ю. Полянская, В.Ю. Зоренко, Д.А. Кудлай. Применение тромбозластографии, теста генерации тромбина и клоттинговых тестов для оценки эффективности гемостатической терапии рекомбинантным активированным фактором VII у больных с ингибиторной формой гемофилии. Российский журнал детской онкологии и гематологии. 2017; 4:33-38. doi:10.17650/2311-1267-2017-4-4-33-38
5. М.В. Спириин, Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, Д.А. Кудлай, Т.Ю. Полянская, Н.И. Зозуля, Е.А. Лихачева, В.В. Троицкая. Периферически имплантируемые центральные венозные катетеры для обеспечения длительного сосудистого доступа у больных с геморрагическим

- синдромом. Гематология и трансфузиология. 2017; 62(4):204-210. doi:10.18821/0234-5730-2017-62-4-203-210
6. А.Ю. Лубнин, А.Н. Коновалов, Н.В. Ласунин, Т.А. Абрамов, А.Ю. Буланов, Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, А.В. Мошкин, О.А. Гаджиева, А.А. Манушкова. Тяжелые послеоперационные интракраниальные геморрагические осложнения у нейрохирургического больного с не диагностированной до операции болезнью Виллебранда (клиническое наблюдение и обзор литературы). Вопросы нейрохирургии. 2018; 3:56-65. doi:10.17116/neiro201882356
 7. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева. Тромбоэластография: сравнение полибрена и гепариназы для инактивации гепарина. Анестезиология и реаниматология. 2018; 5:60-69. doi:10.17116/anaesthesiology201805160
 8. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, А.Л. Берковский, Е.В. Сергеева, В.Г. Савченко. Модифицированный тест с батроксобином для определения активного фибриногена методом тромбоэластографии. Анестезиология и реаниматология. 2018; 3:86-94. doi:10.17116/anaesthesiology201803186
 9. Д.Г. Гительзон, А.Г. Файбушевич, А.Э. Васильев, Г.М. Галстян, Е.А. Гительзон, М.В. Спирин, О.А. Полеводова, Г.В. Мишин, Е.Е. Карпов. Эндovasкулярная эмболизация псевдоопухолей у больных гемофилией. Гематология и трансфузиология. 2018; 63(1):92-96. doi:10.25837/НАТ.2018.29..1..009
 10. Г.М. Галстян, О.А. Полеводова, Е.В. Яковлева, А.Е. Щекина. Применение ротационной тромбоэластометрии для диагностики дефицита факторов свертывания и контроля гемостатической терапии у больных наследственными коагулопатиями. Гематология и трансфузиология, 2019; 64(3):297-316. doi:10.35754/0234-5730-2019-64-3-297-316
 11. Е.В. Яковлева, Н.И. Коняшина, Л.А. Горгидзе, В.Л. Сурин, О.С. Пшеничникова, О.А. Полеводова, М.В. Спирин, Г.М. Галстян, Н.И. Зозуля. Наследственный дефицит фактора свертывания крови V: клинические наблюдения. 2019; 64(4):483-488. doi:10.35754/0234-5730-2019-64-4-489-503

Тезисы

1. Галстян Г.М., Полеводова О.А., Берковский А.Л., Сергеева Е.В. Модифицированный тест для определения активного фибриногена методом тромбоэластографии. Гематология и трансфузиология. 2018; 63 (1, прил. 1).
2. Гавриш А.Ю., Бирюкова Л.С., Полеводова О.А., Денисова Е.Н., Галстян Г.М. Тактика антикоагуляции при проведении заместительной почечной терапии у больного тяжелой формой гемофилии А. Гематология и трансфузиология. 2018; 63 (1, прил. 1).

3. Васильев А.Э., Рогов Д.А., Гительзон Д.Г., Полеводова О.А., Федорова С.Ю., Моисеева Т.Н., Галстян Г.М. Механическая и тромболитическая реканализация острых синус-тромбозов центральной нервной системы у больных лимфопролиферативными заболеваниями. Гематология и трансфузиология. 2018; 63 (1, прил. 1).
4. Галстян Г.М., Полеводова О.А., Гавриш А.Ю. Роль воспаления, антитромбина III и нарушений микроциркуляции в развитии полиорганной недостаточности. Опыт применения антитромбина III. Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии». Санкт-Петербург, 6-7 июня 2017г.
5. G.M. Galstian, O.A. Polevodova, V.Y. Zorenko, V.G. Savchenko. Recombinant Activated Coagulation Factor VII for Treatment of the Tracheobronchial Bleeding in Mechanically Ventilated Thrombocytopenic Patients. ASH 2018 – 60th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition № 2446. December 1-3, 2018, San Diego, USA.
6. G.M. Galstian, O.A. Polevodova, E.V. Yakovleva, A.E. Shchekina, I.L. Davydkin. Monitoring of Recombinant Activated Coagulation Factor VII (rFVIIa) Therapy in Patients (pts) with Inherited Factor VII (FVII) Deficiency. ASH 2019 – 61st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition № 2412. December 7-10, 2019, Orlando, USA.

Список сокращений

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ГИТ II типа – гепарин-индуцированная тромбоцитопения II типа

ОЛ – острый лейкоз

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

ОПЛ – острый промиелоцитарный лейкоз

РОТЭМ – ротационная тромбоэластометрия

тАП – тканевой активатор плазминогена

ТЭГ – тромбоэластография

ТГТ – тест генерации тромбина

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ЦНС – центральная нервная система

ЭТП – эндогенный тромбиновый потенциал

РОС – «Point of Care» или анализы, выполняемые по месту лечения