

УДК 616.151.511: 615.273.5:616.153.962.4]-092.4

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-20-28>

Сравнительный анализ предрасположенности к тромбообразованию при применении известных системных гемостатических средств и фибрин-мономера в эксперименте

Вдовин В.М.¹, Шахматов И.И.¹, Момот А.П.^{1,2}

¹ Алтайский государственный медицинский университет (АГМУ)

Россия, 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, 40

² Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) гематологии (Алтайский филиал)

Россия, 656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1/2

РЕЗЮМЕ

Цель. Провести сравнительную оценку предрасположенности к тромбообразованию, обусловленную применением известных системных гемостатических средств и фибрин-мономера в условиях нормокоагуляции и на фоне фармакологически индуцированной гипокоагуляции в эксперименте.

Материалы и методы. В сериях экспериментов *in vivo* сопоставляли протромботический эффект внутривенного введения различных системных гемостатических препаратов. В их числе использовались фибрин-мономер (ФМ) (0,25 мг/кг), концентрат факторов протромбинового комплекса (КФПК) (40 МЕ/кг) или рекомбинантный фактор VIIa (rFVIIa) (270 мкг/кг). Исследования проводились на фоне гипокоагуляции, обусловленной приемом варфарина (*per os* в дозе 0,4–0,5 мг/кг/сут на протяжении 14 сут) или дабигатрана этексилата (*per os* в разовой дозе 15–20 мг/кг). Оценивали показатели системы гемостаза, включая проведение тромбоэластометрии и калиброванной тромбографии.

Результаты. Установлено, что в группах животных с индуцированной варфарином коагулопатией КФПК реверсировал эффекты антикоагулянта, но приводил к сверхкомпенсированному усилению плотностных характеристик сгустка крови наряду с избыточным усилением генерации тромбина. Использование КФПК и rFVIIa в группах животных с гипокоагуляцией, вызванной приемом дабигатрана, также приводило к нарастанию тромбогенных свойств крови. Это иллюстрировалось в случаях использования КФПК увеличением уровня D-димера, а применения rFVIIa – усилением плотностных характеристик сгустка. В то же время замена данных гемостатиков на ФМ не отражалась на показателях системы гемостаза.

Заключение. ФМ в дозе 0,25 мг/кг в сравнении с КФПК и rFVIIa более безопасен с позиции риска возникновения внутрисосудистого тромбообразования.

Ключевые слова: тромбообразование, гипокоагуляция, концентрат факторов протромбинового комплекса, эптаког альфа (активированный), фибрин-мономер, варфарин, дабигатрана этексилат

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет средств гранта РФФИ (№ 18-415-220001), при финансовой поддержке ООО «Технология-Стандарт» и Алтайского государственного медицинского университета.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета (протокол № 12 от 12.11.2015).

Для цитирования: Вдовин В.М., Шахматов И.И., Момот А.П. Сравнительный анализ предрасположенности к тромбообразованию при применении известных системных гемостатических средств и фибрин-мо-

Comparative study of predisposition to thrombosis with administration of known systemic hemostatic agents and fibrin monomer in the experiment

Vdovin V.M.¹, Shakhmatov I.I.¹, Momot A.P.^{1,2}

¹ Altai State Medical University (ASMU)

40, Lenina Av., Barnaul, 656038, Russian Federation

² Altai Branch of the National Research Center for Hematology

1/2, Lyapidevskogo Str., Barnaul, 656045, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To compare predisposition to thrombosis caused by administration of known systemic hemostatic agents and fibrin monomer under the conditions of normal coagulation versus drug-induced hypocoagulation in the experiment.

Materials and methods. The prothrombotic effect of intravenous (IV) administration of various systemic hemostatic agents was compared in a series of *in vivo* experiments. These agents included fibrin monomer (FM) (0.25 mg / kg), prothrombin complex concentrate (PCC) (40 IU / kg) or recombinant factor VIIa (rFVIIa) (270 mcg / kg). The studies were conducted under the conditions of hypocoagulation induced by the administration of warfarin (*per os* at a dose of 0.4–0.5 mg / kg / day for 14 days) or dabigatran etexilate (*per os* at a single dose of 15–20 mg / kg). Hemostatic system parameters were evaluated using thromboelastometry and calibrated automated thrombography.

Results. It was found that PCC reversed anticoagulant effects and led to an overcompensated increase in the density characteristics of the blood clot along with an excessive increase in thrombin generation in the groups of animals with warfarin-induced coagulopathy. The use of PCC and rFVIIa in the groups of animals with dabigatran-induced hypocoagulation also resulted in an increase in blood thrombogenic properties. In the administration of PCC, it was manifested though an increased D-dimer level and in administration of rFVIIa – through an increase in the clot density characteristics. At the same time, replacement of these hemostatic agents with FM did not affect the hemostatic system parameters.

Conclusion. FM at a dose of 0.25 mg / kg, as opposed to PCC and rFVIIa, is safer in terms of the risk of thrombosis.

Keywords: thrombosis, hypocoagulation, prothrombin complex concentrate, Eptacog alfa (activated), fibrin monomer, warfarin, dabigatran etexilate

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the grant of the Russian Foundation for Basic Research (No. 18-415-220001), Technology Standard LLC, and ASMU.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local Ethics Committee at Altai State Medical University (Protocol No. 12 of 12.11.2015).

For citation: Vdovin V.M., Shakhmatov I.I., Momot A.P. Comparative study of predisposition to thrombosis with administration of known systemic hemostatic agents and fibrin monomer in the experiment. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2022;21(4):20–28. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2022-4-20-28>.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в клинической практике доступен целый спектр системных гемостатических средств, обладающих известным механизмом действия [1]. К ним можно отнести препараты тромбозитов, фибриноген, а также обогащенный этим

белком криопреципитат, концентрат факторов протромбинового комплекса (КФПК), факторы VIII и IX, эптакког альфа (активированный) – он же рекомбинантный фактор VIIa (rFVIIa), антиингибиторный коагулянтный комплекс (Feiba), транексамовую кислоту и ряд других. Отмеченные гемостатики востребованы в практической медицине для профилактики

геморрагического синдрома или управления течением при травмах, обширных операциях, в том числе на фоне тромбопрофилактики. Отмечается, что их использование в целом приводит к смещению гемостатического равновесия в сторону усиления процессов свертывания крови, что и обеспечивает гемостатический эффект [2].

К приоритетным условиям для выбора тех или иных лекарственных препаратов, оказывающих влияние на систему гемостаза, наряду с эффективностью действия является безопасность их применения. Известно, что востребование ряда системных гемостатиков (в соответствии с рекомендованными дозами) сопряжено с риском развития венозных или артериальных тромбозов в связи с возможным избыточным нарастанием гемостатического потенциала.

Ранее нами были проведены оригинальные исследования, показавшие наличие самостоятельной гемостатической активности экзогенно введенного препарата фибрин-мономера (ФМ) на модели экспериментальной дозированной травмы печени [3]. Аналогичные результаты были получены на той же модели с фармакологически обусловленной гипокоагуляцией [4, 5]. По результатам вышеотмеченных исследований ФМ не уступал по эффективности как rFVIIa, так и КФПК. В данных публикациях акцент делался на сравнении результативности перечисленных препаратов с ФМ, а вопросы безопасности (с точки зрения риска тромбообразования) остались без анализа и обсуждения. Очевидно, что этот серьезный аспект должен быть рассмотрен при дополнительном анализе, предусматривающем оценку вероятности появления состояния так называемой тромботической готовности, характеризующегося соответствующими изменениями со стороны системы гемостаза [6].

В связи с этим целью данного исследования явилось проведение сравнительной оценки предрасположенности к тромбообразованию, обусловленной применением известных системных гемостатических средств и фибрин-мономера в условиях нормокоагуляции и на фоне фармакологически индуцированной гипокоагуляции в эксперименте.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Данные были получены на 94 здоровых самцах кроликов породы шиншилла массой 3,0–4,5 кг, содержащихся в стандартных условиях вивария. Из животных методом блочной рандомизации было сформировано семь групп. Эксперименты на животных проводили в соответствии с Европейской конвенцией и директивами по охране позвоночных животных, используемых в эксперименте 86/609/ЕЕС, а

также Хельсинкской декларацией и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Работа одобрена локальным этическим комитетом Алтайского государственного медицинского университета (протокол № 12 от 12.11.2015).

Животные групп № 1 ($n = 13$), № 2 ($n = 14$) и № 3 ($n = 16$) в начале эксперимента *per os* получали растворенный в воде варфарин (Никомед, Дания) в дозе 0,4–0,5 мг/кг ежедневно на протяжении 14 сут до достижения значений международного нормализованного отношения (МНО) 2,0 и выше. По истечении указанного срока у животных проводили забор крови путем флеботомии из краевой вены уха (самотеком) для исследования системы гемостаза. Далее этим животным осуществляли внутривенное (в/в) введение плацебо в объеме 0,5 мл (3,75 М раствор мочевины, соответствующий ее концентрации в растворе ФМ), КФПК (Протромплекс 600, Baxter, Италия) в дозе 40 МЕ/кг или ФМ в дозе 0,25 мг/кг соответственно. Препарат ФМ получался по оригинальной технологии [7]. Спустя 1 ч после в/в введения плацебо или системного гемостатика осуществляли повторный забор крови.

Животные групп № 4 ($n = 10$), № 5 ($n = 14$), № 6 ($n = 14$) и № 7 ($n = 13$) в начале эксперимента *per os* получали растворенный в воде дабигатрана этексилат (Прадакса®, Boehringer Ingelheim, Германия) в дозе 15–20 мг/кг. Установление дозы препарата для животных с целью достижения достаточного антикоагулянтного эффекта производили с учетом коэффициента пересчета доз с человека на животных [8] и рекомендаций, указанных в инструкции к лекарственному препарату (Прадакса®, регистрационное удостоверение № ЛСР-007065/09). Спустя 2 ч у этих животных забирали кровь для исследования гемостаза и далее в/в вводили плацебо в объеме 0,5 мл, КФПК (Протромплекс 600, Baxter, Италия) в дозе 40 МЕ/кг, rFVIIa (НовоСэвен, Novo Nordisk A/S, Дания) в дозе 270 мкг/кг или ФМ в дозе 0,25 мг/кг соответственно. Определение дозы для КФПК и rFVIIa осуществляли в соответствии с имеющимися рекомендациями [9–11]. Спустя 1 ч после в/в введения плацебо, а также того или иного гемостатика осуществляли повторный забор крови.

Для подсчета количества тромбоцитов кровь от животных всех групп исследования помещали в пластиковые пробирки с калиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты, для изучения других параметров – с 0,11 М (3,8%) раствором цитрата натрия (соотношение крови и стабилизатора 9 : 1). Получение обедненной тромбоцитами плазмы крови во всех образцах проводили по общепринятой методике. В образцах венозной крови оценивалось коли-

чество тромбоцитов на гематологическом анализаторе Drew-3 (Drew Scientific Inc., Великобритания – США). В плазме крови определяли МНО, эхитоксовое время свертывания и концентрацию фибриногена по Clauss на коагулометре Thrombostat 2 (Behnk Elektronik, Германия) с использованием реагентов фирмы «Технология-Стандарт» (Россия), а также уровень D-димера при помощи анализатора-рефлектометра Nycocard Rader II (Axis-Shield PoC AS, Норвегия) и тест-системы Nycocard® D-Dimer (Axis-Shield PoC AS, Норвегия).

Проводилась тромбоэластометрия стабилизированной цитратом крови на тромбоэластометре ROTEM® Gamma (Pentapharm GmbH, Германия) с реагентом Startem в режиме Natem. Определяли следующие показатели: CT – время начала коагуляции; CFT – время формирования сгустка; угол α – амплитуда сгустка; MCF – максимальная твердость сгустка; A10 – амплитуда сгустка через 10 мин. Для оценки генерации тромбина использовался метод калиброванной автоматизированной тромбографии по Н.С. Hemker (2003) с применением планшетного флуориметра Fluoroskan Ascent (ThermoFisher Scientific, Финляндия) с программным обеспечением Thrombinoscope® 3.0.0.26 и набором реагентов Thrombinoscope® (Нидерланды) (PPP-Reagent, Thrombin Calibrator, FluCa-Kit) с тканевым фактором в концентрации 5,0 пМ. Учитывались следующие показатели: Lagtime – время инициации образования тромбина; ETP – эндогенный тромбиновый потенциал; Peak thrombin – пиковая концентрация тромбина; ttPeak – время достижения пиковой концентрации тромбина; V – скорость образования тромбина [12].

Распределение признаков в выборках оценивали по критерию Шапиро – Уилка. В зависимости от распределения признаков применяли *t*-критерий Стьюдента, *U*-критерий Манна – Уитни или *W*-критерий Вилкоксона. Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Обработка результатов проводилась программой MedCalc Version 17.9.7 (лицензия BU556-P12YT-BBS55-YAH5M-UBE51). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха $Me [Q_{25}; Q_{75}]$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группах животных с индуцированной варфаринной коагулопатией (верифицированной в группе № 1 – плацебо) при использовании системных гемостатических препаратов – КФПК (группа № 2) и ФМ (группа № 3) в системе гемостаза наблюдались отличия по достигаемым эффектам (табл. 1). В частности, введение КФПК приводило к реверсии МНО до уровня нормальных значений и к статистически

значимому снижению количества тромбоцитов в периферической крови. Это сопровождалось сверхкомпенсированным повышением плотностных характеристик сгустка крови (данные тромбоэластометрии – по показателям MCF (+21%, $p < 0,005$) и A10 (+49%, $p < 0,006$)) в сравнении с плацебо [13] и избыточным усилением генерации тромбина (данные калиброванной тромбографии – по показателю ETP, Peak thrombin и V образования тромбина) (см. табл. 1). Отметим, что в группе варфаринизированных животных, получивших ФМ (группа № 3), несмотря на резкое снижение кровопотери (в 9,1 раза по сравнению с плацебо – в группе № 1) [5], высокое МНО и гипокоагуляционный сдвиг по показателям калиброванной тромбографии не корректировались в сторону значений физиологической нормы.

В следующих группах животных с прямым ингибированием тромбина дабигатраном также были получены различия в параметрах, описывающих систему гемостаза, при использовании, с одной стороны, КФПК (группа № 5) или rFVIIa (группа № 6) и, с другой – ФМ (группа № 7) (табл. 2). Введение животным КФПК или rFVIIa на фоне приема дабигатрана этексилата приводило к увеличению уровня D-димера в 2,8 и 8,0 раза соответственно, что не было характерным для экспериментальной группы, получившей ФМ. Кроме того, применение КФПК в группе № 5, как и в группе № 2, сопровождалось статистически значимым снижением количества тромбоцитов в периферической крови (на 17,0 и 6,1% соответственно), что не было свойственно эффектам ФМ. Далее, по данным, полученным в группе № 6, где в качестве системного гемостатика был использован rFVIIa, зафиксирован гиперкоагуляционный сдвиг по таким параметрам тромбоэластометрии, как CT, MCF, CFT и A10, что также не было свойственно для животных, получивших ФМ (группа № 7). По ряду показателей плотностные характеристики сгустка (угол α (+28,2%, $p < 0,001$), CFT (–44,7%, $p < 0,001$) и A10 (+30,2%, $p < 0,019$)) превышали таковые в группе с плацебо [13]. Как было показано ранее, применение ФМ снижало объем кровопотери в 2,9 раза по сравнению с группой № 4, тогда как использование КФПК и rFVIIa не отражалось на изменении объема кровопотери [4].

ОБСУЖДЕНИЕ

В мировой практике имеются наблюдения, указывающие на наличие риска возникновения тромботических осложнений при применении rFVIIa или КФПК в целях профилактики или купирования манифестного кровотечения. Настороженность в этом отношении проявили ряд зарубежных авторов. Так,

Таблица 1

Результаты оценки системы гемостаза у животных в экспериментальных группах на фоне действия варфарина, $Me (Q_{25} \div Q_{75})$						
Показатель	Группа № 1 (плацебо)		Группа № 2 (КФПК)		Группа № 3 (ФМ 0,25 мг/кг)	
	до введения плацебо _(1a)	после введения плацебо _(1б)	до введения КФПК _(2a)	после введения КФПК _(2б)	до введения ФМ _(3a)	после введения ФМ _(3б)
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	555,0 [471,0÷591,0]	512,0 [474÷700,0] $p_{1a-1б} = 0,382$	425,0 [392,8÷531,3]	399,0 [334,0÷454,5] $p_{2a-2б} = 0,049$ $\Delta -6,1\%$	509,0 [417,8÷578,0]	479,5 [408,3÷551,5] $p_{3a-3б} = 0,328$
МНО, отношение	2,4 [2,0÷4,0]	2,5 [2,2÷4,6] $p_{1a-1б} = 0,650$	2,1 [1,7÷6,2]	1,1 [1,0÷1,2] $p_{2a-2б} = 0,002$ $\Delta -47,6\%$	2,0 [1,6÷3,6]	2,0 [1,5÷2,9] $p_{3a-3б} = 0,063$
Фибриноген, г/л	2,8 [2,6÷4,3]	3,0 [2,6÷4,4] $p_{1a-1б} = 0,814$	3,3 [2,8÷4,1]	2,9 [2,5÷3,6] $p_{2a-2б} = 0,260$	3,1 [2,7÷3,5]	3,0 [2,5÷3,3] $p_{3a-3б} = 0,065$
D-димер, нг/мл	150,0 [100,0÷200,0]	150,0 [100,0÷200,0] $p_{1a-1б} = 0,351$	100,0 [100,0÷100,0]	100,0 [100,0÷200,0] $p_{2a-2б} = 0,180$	200,0 [100,0÷250,0]	200,0 [150,0÷400,0] $p_{3a-3б} = 0,075$
Тромбоэластометрия						
СТ, с	2122,5 [1328,3÷2464,8]	2095,0 [1052,0÷2398,0] $p_{1a-1б} = 0,530$	1573,5 [948,3÷2394,0]	494,0 [355,0÷626,0] $p_{2a-2б} = 0,002$ $\Delta -3,2$ раза	1459,0 [783,5÷2198,8]	1559,5 [734,0÷1918,8] $p_{3a-3б} = 0,221$
Угол α , град.	н.р. в 9 случаях	н.р. в 7 случаях	48,0 [39,5÷52,0] н.р. в 8 случаях	68,0 [59,0÷71,0]	39,5 [30,3÷60,8] н.р. в 6 случаях	37,0 [32,8÷55,3] н.р. в 4 случаях $p_{3a-3б} = 0,767$
CFT, с	н.р. в 10 случаях	н.р. в 8 случаях	356,0 [307,5÷794,5] н.р. в 8 случаях	166,0 [110,0÷181,0]	452,5 [218,5÷522,5] н.р. в 8 случаях	367,0 [187,0÷404,8] н.р. в 6 случаях $p_{3a-3б} = 0,735$
MCF, мм	н.р. в 8 случаях	н.р. в 7 случаях	22,5 [9,0÷49,5] н.р. в 4 случаях	70,0 [67,0÷76,0] $p_{2a-2б} = 0,008$ $\Delta -3,1$ раза	32,5 [15,8÷50,5] н.р. в 6 случаях	44,0 [32,0÷49,5] н.р. в 4 случаях $p_{3a-3б} = 0,139$
A10, мм	н.р. в 9 случаях	н.р. в 8 случаях	8,5 [4,0÷34,5] н.р. в 4 случаях	64,0 [55,0÷68,0] $p_{2a-2б} = 0,007$ $\Delta -7,5$ раз	24,5 [18,8÷38,0] н.р. в 6 случаях	32,0 [27,0÷41,0] н.р. в 5 случаях $p_{3a-3б} = 0,260$
Калиброванная тромбография						
Lagtime, мин	3,5 [2,7÷4,5] н.р. в 2 случаях	4,4 [3,4÷5,6] н.р. в 3 случаях $p_{1a-1б} = 0,592$	5,0 [4,3÷5,3] н.р. в 6 случаях	1,7 [1,5÷2,0] $p_{2a-2б} \Delta -2,9$ раза	4,5 [4,5÷5,3]	6,0 [5,9÷6,3] н.р. в 2 случаях $p_{3a-3б} = 0,593$
ETP, нмоль $\times$ мин	150,2 [92,3÷183,9] н.р. в 2 случаях	103,0 [60,9÷158,8] н.р. в 3 случаях $p_{1a-1б} = 0,109$	97,8 [68,2÷104,9] н.р. в 6 случаях	582,0 [444,9÷806,4] $p_{2a-2б} \Delta +6,0$ раз	131,7 [81,3÷145,2]	149,3 [111,3÷189,6] н.р. в 2 случаях $p_{3a-3б} = 0,514$
Peak thrombin, нмоль	28,2 [18,9÷56,2] н.р. в 2 случаях	12,5 [7,5÷21,8] н.р. в 3 случаях $p_{1a-1б} = 0,041$ $\Delta -2,3$ раза	10,9 [7,3÷14,8] н.р. в 6 случаях	65,4 [41,3÷74,5] $p_{2a-2б} \Delta +6,0$ раз	10,5 [10,3÷13,6]	13,3 [10,9÷21,9] н.р. в 2 случаях $p_{3a-3б} = 0,285$
ttPeak, мин	6,5 [4,7÷7,2] н.р. в 2 случаях	9,2 [8,3÷10,5] н.р. в 3 случаях $p_{1a-1б} = 0,108$	9,5 [7,9÷9,9] н.р. в 6 случаях	9,5 [8,8÷9,6]	10,5 [10,2÷11,0]	10,8 [10,3÷11,1] н.р. в 2 случаях $p_{3a-3б} = 0,922$
V, нмоль/мин	9,4 [7,1÷25,9] н.р. в 2 случаях	3,4 [2,0÷6,5] н.р. в 3 случаях $p_{1a-1б} = 0,085$	2,4 [1,6÷4,7] н.р. в 6 случаях	7,8 [6,4÷11,8] $p_{2a-2б} \Delta +3,3$ раза	2,3 [1,6÷3,0]	2,8 [2,3÷5,2] н.р. в 2 случаях $p_{3a-3б} = 0,592$

Примечание. Здесь и в табл. 2: КФПК – концентрат факторов протромбинового комплекса; ФМ – фибрин-мономер; p – уровень статистической значимости различий сравниваемых показателей; Δ – разница показателей; н.р. – нет регистрации.

Таблица 2

Результаты оценки системы гемостаза у животных в экспериментальных группах при прямом ингибировании тромбина, $Me (Q_{25} \div Q_{75})$									
Показатель	Группа № 4 (плацебо)		Группа № 5 (КФПК)		Группа № 6 (rFVII)		Группа № 7 (ФМ 0,25 мг/кг)		
	до введения плацебо _(4a)	после введения плацебо _(4b)	до введения КФПК _(5a)	после введения КФПК _(5b)	до введения rFVII _(6a)	после введения rFVII _(6b)	до введения ФМ _(7a)	после введения ФМ _(7b)	
Число тромбоцитов, $\times 10^9/\text{л}$	541,5 [481,3÷553,0]	501,0 [421,5÷517,5] $p_{4a-4b} = 0,116$	521,0 [458,0÷601,8]	432,5 [379,8÷501,5] $p_{5a-5b} = 0,050$ $\Delta - 17,0\%$	638,5 [535,3÷709,5]	638,0 [523,8÷717,5] $p_{6a-6b} = 0,972$	559,0 [528,3÷566,5]	550,5 [499,8÷565,3] $p_{7a-7b} = 0,600$	
Эритроцитарное время, отношение	3,4 [3,1÷3,8]	3,5 [3,1÷4,1] $p_{4a-4b} = 0,333$	2,1 [1,8÷2,5]	2,5 [2,0÷3,3] $p_{5a-5b} = 0,016$ $\Delta + 19,1\%$	2,5 [2,1÷3,7]	3,0 [2,2÷3,6] $p_{6a-6b} = 0,156$	2,6 [2,2÷2,9]	2,5 [2,2÷2,7] $p_{7a-7b} = 0,600$	
Фибриноген, г/л	2,9 [2,3÷4,2]	2,9 [2,4÷3,1] $p_{4a-4b} = 0,139$	4,1 [3,4÷5,0]	3,6 [3,0÷4,7] $p_{5a-5b} = 0,033$ $\Delta - 12,2\%$	2,9 [2,4÷3,2]	2,8 [2,4÷3,4] $p_{6a-6b} = 0,969$	3,2 [2,9÷3,5]	3,1 [2,9÷3,5] $p_{7a-7b} = 0,433$	
D-димер, нг/мл	100,0 [100,0÷200,0]	100,0 [100,0÷200,0] $p_{4a-4b} = 0,480$	200,0 [200,0÷300,0]	550,0 [400,0÷800,0] $p_{5a-5b} = 0,003$ Δ в 2,8 раза	100,0 [100,0÷150,0]	800,0 [300,0÷1100,0] $p_{6a-6b} = 0,005$ Δ в 8,0 раз	100,0 [100,0÷200,0]	200,0 [100,0÷300,0] $p_{7a-7b} = 0,075$	
Тромбоэластометрия									
CT, с	925,0 [619,0÷995,0]	713,0 [673,0÷853,0] $p_{4a-4b} = 0,515$	1023,0 [776,0÷1404,8]	964,5 [768,5÷1087,8] $p_{5a-5b} = 0,037$ $\Delta - 5,7\%$	675,5 [573,5÷996,8]	484,0 [274,0÷948,3] $p_{6a-6b} = 0,048$ $\Delta - 28,3\%$	660,0 [477,5÷907,0]	480,0 [348,3÷637,0] $p_{7a-7b} = 0,139$	
Угол α , град.	59,0 [48,0÷66,0]	62,0 [60,0÷66,0] $p_{4a-4b} = 0,953$	61,5 [54,3÷67,3] н.р. в 3 случаях	57,0 [50,5÷62,0] н.р. в 2 случаях $p_{5a-5b} = 0,327$	61,5 [56,3÷68,8]	70,5 [63,3÷75,0] $p_{6a-6b} = 0,059$	64,5 [59,3÷75,3]	65,5 [59,8÷76,3] $p_{7a-7b} = 0,767$	
CFT, с	169,0 [140,0÷210,0]	151,0 [134,0÷167,0] $p_{8a-8b} = 0,767$	175,0 [143,0÷231,5] н.р. в 3 случаях	231,5 [182,3÷425,8] н.р. в 1 случае $p_{5a-5b} = 0,137$	166,5 [112,0÷196,0]	114,0 [84,0÷147,8] $p_{6a-6b} = 0,035$ $\Delta - 31,5\%$	132,0 [82,5÷165,5]	150,0 [123,0÷165,0] $p_{7a-7b} = 0,859$	
MSF, мм	56,0 [54,0÷66,0]	62,0 [48,0÷66,0] $p_{4a-4b} = 0,953$	65,5 [58,3÷74,0] н.р. в 3 случаях	69,5 [62,0÷70,8] н.р. в 3 случаях $p_{5a-5b} = 0,889$	59,5 [45,0÷64,8]	65,5 [56,0÷73,0] $p_{6a-6b} = 0,021$ $\Delta + 10,1\%$	63,0 [55,8÷67,8]	62,5 [58,0÷68,8] $p_{7a-7b} = 0,779$	
A10, мм	48,0 [47,0÷59,0]	52,0 [45,0÷60,0] $p_{4a-4b} = 0,374$	57,5 [47,3÷65,8] н.р. в 2 случаях	54,0 [48,0÷59,0] н.р. в 2 случаях $p_{5a-5b} = 0,441$	48,0 [39,8÷55,0]	56,0 [49,5÷65,8] $p_{6a-6b} = 0,034$ $\Delta + 16,6\%$	55,0 [48,0÷65,8]	54,0 [49,0÷67,0] $p_{7a-7b} = 0,889$	

Примечание. rFVII – рекомбинантный фактор VIIa.

в исследовании A. Girolami и соавт. продемонстрированы случаи артериальных и венозных тромбозов разной локализации в случаях применения rFVIIa у пациентов с рядом видов нарушений в системе гемостаза (дефицит FVII и FXI, дисфибриногенемия, болезнь Виллебранда, тромбастения Гланцмана) [4]. Также описаны случаи тромбозов после использования rFVIIa у кардиохирургических пациентов [5, 6]. Можно обратить внимание на обзорную работу M. Levi и соавт., где приведены результаты оценки безопасности применения rFVIIa в 35 рандомизированных исследованиях, объединяющих 4 468 пациентов. Показано, что у 9,0%, из числа взятых под наблюдение, были документированы тромбоэмболические события, состоявшиеся преимущественно в артериальном русле [7].

Использование КФПК многие авторы также ассоциируют с различными вариантами внутрисосудистого свертывания крови. S.G. Yates и R. Sarode отмечают, что риск тромбоэмболических осложнений после введения КФПК при лечении кровотечений, связанных с приемом кумаринов, остается актуальной клинической проблемой [8]. Ряд авторов описывают различные тромботические события, связанные с КФПК: от поверхностного тромбофлебита, тромбоза глубоких вен и легочной эмболии, тромбоза артерий и полостей сердца до диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС-синдрома) [19–23]. При этом риск тромбозов возрастает у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями и пожилого возраста, а также при сочетанном применении rFVIIa и КФПК [24].

В ранее опубликованных исследованиях показано, что введение экзогенного ФМ сопровождалось повышением уровня известного маркера гемокоагуляции и активации фибринолиза – D-димера, в 7,0 и 8,0 раз в группах животных, получивших данный препарат в дозах 2,5 и 5,0 мг/кг соответственно [3]. Это сопровождалось повышением плотностных характеристик сгустка крови (по данным тромбоэластометрии) [13] и потреблением тромбоцитов со снижением их числа в 1,5 раза в периферической крови (с ФМ, взятом в дозе 5,0 мг/кг) [3]. В то же время использование ФМ в дозировке 0,25 мг/кг не приводило к таким сдвигам, свойственным гиперкоагуляционному сдвигу [3, 13]. Следует отметить, что интенсивность образования тромбина (по данным калиброванной тромбографии) не увеличивалась вне зависимости от дозы использованного ФМ [13].

В настоящих исследованиях наклонность к внутрисосудистому тромбообразованию проявили как rFVIIa, так и КФПК. При использовании rFVIIa най-

дено повышение плотностных характеристик сгустка крови по данным тромбоэластометрии (по показателям угол α , CT, CFT, MCF и A10) и 8-кратное увеличение уровня D-димера по сравнению с исходным значением до введения данного препарата ($p < 0,005$). Применение КФПК также сопровождалось подъемом уровня D-димера (в 2,8 раза в сравнении с исходным значением, $p < 0,003$), сверхкомпенсированным повышением плотностных характеристик сгустка крови (по данным тромбоэластометрии – по показателям MCF и A10), а также избыточным усилением генерации тромбина (по показателям ETP, Peak thrombin и V). В то же время замена обозначенных выше системных гемостатических препаратов на ФМ не проявилась признаками внутрисосудистого свертывания крови по использованным методам оценки системы гемостаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные выявили протромботические эффекты при применении обозначенных выше гемостатических препаратов – КФПК и rFVIIa. Последние были испытаны на двух экспериментальных моделях с фармакологически вызванной гипокоагуляцией, связанной с приемом варфарина или дабигатрана. Такие эффекты проявили себя в виде сверхкомпенсированных изменений (по сравнению с данными у интактных животных) со стороны системы гемостаза, включая увеличение уровня D-димера и появление гиперкоагуляционного сдвига по данным тромбоэластометрии.

Необходимо отметить, что ФМ, взятый в дозе 0,25 мг/кг, приводил к существенному снижению кровопотери без описанных выше тромбогенных эффектов со стороны крови, что отличает его от известных препаратов направленного гемостатического действия. Соответственно, мы имеем основание полагать, что препарат ФМ более безопасен с позиции возникновения нежелательных явлений в виде спонтанного тромбообразования в кровеносном русле.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Мельник А.А. Механизм действия гемостатических лекарственных препаратов. *Новости медицины и фармации*. 2017;10(622).
2. Rossaint R., Bouillon B., Cerny V., Coats T.J., Duranteau J., Fernández-Mondéjar E. et al. The European guideline on management of major bleeding and coagulopathy following trauma: fourth edition. *Crit. Care*. 2016;20:100. DOI: 10.1186/s13054-016-1265-x.
3. Момот А.П., Вдовин В.М., Шахматов И.И., Толстоколов И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О. и др. Системные гемостатические и протромботические эффекты фибриномера в эксперименте при дозированной травме пече-

- ни. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2019;39(1):6–12. DOI: 10.15372/SSMJ20190101.
4. Вдовин В.М., Момот А.П., Красюкова В.О., Толстоко-ров И.Г., Орехов Д.А., Шевченко В.О. и др. Системные гемостатические и гемостазиологические эффекты фибрин-мономера при прямом ингибировании тромбина в эксперименте. *Российский физиологический журнал*. 2019;105(2):207–215. DOI: 10.1134/S0869813919020109.
 5. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Толстоко-ров И.Г., Шевченко В.О., Шахматов И.И. и др. Системные гемоста-тические и гемостазиологические эффекты низкой дозы фибрин-мономера на фоне действия варфарина в экспе-рименте. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2019;79(3):16–23. DOI: 10.25555/THR.2019.3.0885.
 6. Момот А.П., Цывкина Л.П., Тараненко И.А., Мамаев А.Н., Сердюк Г.В., Шахматов И.И. и др. Современные методы распознавания состояния тромботической готовности. Бар-наул: Алтайский государственный университет, 2011:138.
 7. Момот А.П., Шахматов И.И., Ломаев И.С., Терехов С.С. Способ промышленного получения фибрин-мономера из плазмы крови. Патент РФ № 2522237. 10.07.2014. Бюл. № 19.
 8. Гуськова Т.А. Доклиническое токсикологическое изуче-ние лекарственных средств как гарантия безопасности проведения их клинических исследований. *Токсикологиче-ский вестник*. 2010;104(5):2–5.
 9. Ryn J., Stangier J., Haertter S., Liesenfeld K.-H., Wienen W., Feuring M. et al. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation as-says and reversal of anticoagulant activity. *Thromb. Haemost.* 2010;103(6):1116–1127. DOI: 10.1160/TH09-11-0758.
 10. Bavalia R., Abdoellakhan R., Brinkman H.J.M., Brekel-mans M.P.A., Hamulyák E.N., Zuurveld M. et al. Emergen-cies on direct oral anticoagulants: Management, outcomes, and laboratory effects of prothrombin complex concentrate. *Res. Pract. Thromb. Haemost.* 2020;4(4):569–581. DOI: 10.1002/rth2.12336.
 11. Зозуля Н.И., Кумскова М.А., Полянская Т.Ю., Сви-рин П.В. Клинические рекомендации по диагностике и ле-чению гемофилии. НГО, 2018:34.
 12. Папаян Л.П., Головина О.Г., Четкин А.В., Бессмель-цев С.С., Капустин С.И., Каргин В.Д. и др. Алгоритм ди-агностики гемостаза и мониторинг антиромботической терапии. Методические рекомендации. СПб: Российский научно-исследовательский институт гематологии и транс-физиологии, 2016:18.
 13. Вдовин В.М., Момот А.П., Орехов Д.А., Бобров И.П., Момот Д.А., Шахматов И.И. и др. Влияние экзогенного фибрин-мономера на гемостатический потенциал и обра-зование фибрина в области дозированной травмы печени в эксперименте. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. 2020;106(9):1132–1143. DOI: 10.31857/S0869813920070092.
 14. Girolami A., Marinis G.B., Bonamigo E., Lombardi A.M. Recombinant FVIIa concentrate-associated thrombotic events in congenital bleeding disorders other than hemophilias. *He-matology*. 2012;17(6):346–349. DOI: 10.1179/1607845412Y.0000000027.
 15. Pichon N., Bellec F., Sekkal S., Marsaud J.P., Laskar M., François B. et al. Fatal thrombotic event after infusion of re-combinant activated factor VII after cardiac surgery. *J. Tho-rac. Cardiovasc. Surg.* 2008;136(1):220–221. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2007.10.084.
 16. Hajj-Chahine J., Jayle C., Tomasi J., Houmida H., Corbi P. Acute aortic valve thrombosis secondary to recombinant fac-tor VIIa. *Ann. Thorac. Surg.* 2012;93:999. DOI: 10.1016/j.athoracsurg.2011.08.050.
 17. Levi M., Levy J.H., Andersen H.F., Truloff D. Safety of re-combinant activated factor VII in randomized clinical trials. *N. Engl. J. Med.* 2010;363(19):1791–1800. DOI: 10.1056/NE-JMoa1006221.
 18. Yates S.G., Sarode R. New strategies for effective treatment of vitamin K antagonist-associated bleeding. *J. Thromb. Hae-most.* 2015;13(Suppl.1):S180–S186. DOI: 10.1111/jth.12970.
 19. Köhler M. Thrombogenicity of prothrombin complex con-centrates. *Thromb. Res.* 1999;95(4Suppl.1):S13–S17. DOI: 10.1016/s0049-3848(99)00079-1.
 20. Ehrlich H.J., Henzl M.J., Gomperts E.D. Safety of factor VIII inhibitor bypass activity (FEIBA): 10-year compilation of thrombotic adverse events. *Haemophilia*. 2002;8(2):83–90. DOI: 10.1046/j.1365-2516.2002.00532.x.
 21. Goldhammer J.E., Bakowitz M.J., Milas B.L., Patel P.A. Intra-cardiac thrombosis after emergent prothrombin complex con-centrate administration for warfarin reversal. *Anesthesiology*. 2015;123(2):458. DOI: 10.1097/ALN.0000000000000464.
 22. Brinkman H.J.M. Prothrombin complex concentrate, a ge-neral antidote for oral anticoagulation. In the book: Basaran O. Anticoagulation Therapy, 2016. Chapter 5:79–109. DOI: 10.5772/64304.
 23. Gavva C., Reddy M., Sarode R. Four-factor prothrombin com-plex concentrates effectiveness in the reversal of anticoagula-tion. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine*. 2017;2017(5):39–47. DOI: 10.2147/IJCTM.S114736.
 24. Rajpurkar M., Croteau S.E., Boggio L., Cooper D.L. Throm-botic events with recombinant activated factor VII (rFVIIa) in approved indications are rare and associated with older age, cardiovascular disease, and concomitant use of activat-ed prothrombin complex concentrates (aPCC). *J. Blood Med.* 2019;10:335–340. DOI: 10.2147/JBM.S219573.

Вклад авторов

Вдовин В.М. – разработка концепции и дизайна, постановка экспериментальной модели, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации, поста-новка экспериментальной модели. Момот А.П. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных, проверка критически важного интеллектуального содержания, окончательное утверждение рукописи для публикации. Шахматов И.И. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация данных.

Информация об авторах

Вдовин Вячеслав Михайлович – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой патологической физиологии, АГМУ, г. Барнаул, erytrab@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4606-3627>

Шахматов Игорь Ильич – д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой нормальной физиологии, АГМУ, г. Барнаул, iish59@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0979-8560>

Момот Андрей Павлович – д-р мед. наук, профессор, директор НМИЦ гематологии (Алтайский филиал); зав. лабораторией гемостаза, Институт клинической медицины, АГМУ, г. Барнаул; xyzan@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8413-5484>

(✉) **Вдовин Вячеслав Михайлович**, erytrab@gmail.com

Поступила в редакцию 18.02.2022;
одобрена после рецензирования 31.03.2022;
принята к публикации 09.06.2022