Влияние нефракционированного и низкомолекулярного гепаринов на параметры внутрисосудистого свертывания крови у больных, получающих лечение программным гемодиализом

Н.Л. Козловская, Г.В. Котлярова, В.В. Сафонов, С.В. Лашутин, С.Г. Нестерова, Е.М. Шилов
Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова, г. Москва

Effect of unfractionated and low-molecular weight heparins on plasma parameters of intravascular blood coagulation in HD-patients

N.L. Kozlovskaya, G.V. Kotlyarova, V.V. Safonov, S.V. Lashutin, S.G. Nesterova, E.M. Shilov

Ключевые слова: низкомолекулярные гепарины, программный гемодиализ, эноксапарин, внутрисосудистое свертывание крови.

Введение. **Низкомолекулярные гепарины (НМГ) безопасны, обладают сопоставимым с нефракционированным гепарином (НФГ) антикоагулянтным эффектом и значительно более удобным режимом введения препарата.**

Методы. **У 60 больных, получавших во время процедур гемодиализа (ГД) антикоагулянтную терапию НФГ в течение не менее 24 мес., оценили частоту тромботических и геморрагических осложнений во время и после сеанса ГД, а также параметры системы свертывания крови. Затем 30 больных рандомизировали на получение двух видов антикоагулянтной терапии: НФГ или НМГ (1 мг/кг веса). Параметры коагуляции определяли в динамике до начала и после завершения 1-й после рандомизации процедуры ГД, затем – через 1, 3 и 6 мес.**

Выводы. **У больных, получавших лечение программным ГД, несмотря на адекватную антикоагуляцию НФГ во время процедуры ГД, имеется активация внутрисосудистого свертывания крови, не выявляемая рутинными коагулологическими исследованиями. Антикоагулянтный эффект эноксапарина (клексана) во время проведения ГД эквивалентен таковому НФГ в отношении клинических проявлений тромбофилии. У больных с терминальной почечной недостаточностью (ТПН), получающих лечение ГД, клексан обладает большей эффективностью в отношении влияния на внутрисосудистую гиперкоагуляцию по сравнению с НФГ.**

Background. **Low-molecular weight heparins (LMWH) are safe, their effect is comparable with that of unfractionated heparin (UFH) and they are much more convenient in practice.**

Methods. **60 stable chronic HD-patients were included in the study. Trombotic and hemorrhagic complications were accessed during a single HD-procedure. Then thirty patients were randomly assigned to either low-molecular weight heparin (1 mg/kg body weight) or standard heparin regime of anticoagulation and followed prospectively for 24 weeks. Parameters of hemostasis were measured before and after the first post-randomization HD-procedure, then in 1, 3 and 6 months.**

Conclusions. **In spite of an adequate UFH anticoagulation therapy during the HD-procedure patients have intravascular hypercoagulation that cannot be revealed by conventional coagualologic methods. As for the clinical signs of thrombophilia, the anticoagulative effect of Enoxaparin (Clexane) during the HD-treatment is comparable to that with standard heparin. Enoxaparin has a higher efficiency on intravascular hypercoagulation in patients on program HD than in those treated with UFH.**

Адрес для переписки: *119021, г. Москва, ул. Россолимо, д. 11, стр. 4*
Телефон: *(495) 248-53-11*

Введение

В 2005 г. исполнилось 80 лет с момента проведения Г. Хаасом (1886–1971) первого пробного фракционного диализа у человека с использованием гирудина [6]. Первые процедуры фракционного диализа в феврале 1925 г. были малоэффективными не только из-за отсутствия хорошей мембраны и малой длительности процедуры, но и из-за высокой токсичности гирудина. Через два года, при появлении на рынке нового антикоагулянтного препарата – *гепарина,* Хаас возобновил проведение диализа. С этого времени использование гепарина стало «золотым стандартом», обеспечивающим возможность практического проведения процедуры ГД. Однако нежелательные эффекты длительного применения гепарина в сочетании с вынужденными частыми инъекциями препарата заставили разрабатывать альтернативные методы антикоагуляции.

С 1976 г., когда E.A. Johnson и соавт. [7] впервые показали, что низкомолекулярные гепарины (НМГ) – фрагменты нефракционированного гепарина, полученные при химической или ферментативной деполимеризации, обладают преимущественной ингибирующей активностью в отношении Ха фактора, что связано с меньшим риском кровотечений при одинаковом с НФГ антитромботическом эффекте, эта группа препаратов стала с успехом использоваться в хирургической, акушерской и кардиологической практике.

С 1985 г. НМГ как альтернативу гепарину стали применять и на ГД [10]. Последующие клинические исследования, проводившиеся в том числе и в нашей стране [1, 2, 9, 14], были посвящены оценке эффективности и безопасности НМГ в сравнении с нефракционированным гепарином у гемодиализных больных. Они показали, что НМГ, как и НФГ, обеспечивают адекватную антикоагуляцию во время процедуры гемодиализа при однократном болюсном введении средней терапевтической дозы, не вызывают геморрагических осложнений и не требуют в большинстве случаев дополнительного назначения. Однако до настоящего времени практически отсутствуют сравнительные исследования, изучающие воздействие НФГ и НМГ на параметры внутрисосудистого свертывания крови при длительном использовании у больных, получающих лечение ГД. Между тем при уремии развивается тромбофилическое состояние [5, 15], вклад в которое вносят гиперфибриногенемия, гипергомоцистеинемия, снижение концентрации антитромбина III (АТ III) и активности протеина С; эндотелиальная дисфункция, о которой свидетельствует повышение уровня фактора фон Виллебранда в плазме. Процедуры гемодиализа за счет контактной активации свертывания при взаимодействии потока крови с диализной мембраной, материалом сосудистых протезов и магистралей экстракорпорального контура усиливают тромбогенный потенциал крови.

Нельзя также исключить, что дополнительным фактором риска тромбообразования у этой категории больных является истощение в эндотелиальных клетках запасов ингибитора тканевого фактора (TFPI), подавляющего активность внешнего механизма свертывания крови, что, как полагают, может быть связано с длительным применением гепарина во время процедур ГД [4, 8, 11–13]. Данное предположение основано на том, что, как оказалось, антикоагулянтная активность гепаринов обусловлена не только непосредственной ингибицией тромбина и Ха фактора, но и стимуляцией высвобождения из эндотелия TFPI. Поэтому возможность истощения пула TFPI у гемодиализных больных, годами получающих гепарин, представляется вполне вероятной. В последнее время появились работы, демонстрирующие меньший истощающий эффект НМГ на TFPI по сравнению с НФГ [13]. В связи с этим целями нашего исследования было:

– изучить параметры, отражающие внутрисосудистое свертывание крови у больных, получающих стандартный режим антикоагулянтной терапии НФГ во время процедур ГД;

– сравнить эффективность двух режимов антикоагулянтной терапии при проведении процедуры ГД – с помощью НФГ или НМГ, оценивая частоту тромботических и геморрагических осложнений, а также их влияние на маркеры активации системы гемостаза.

Материал и методы

Характеристика больных

В исследование были включены 60 больных терминальной ХПН (37 жен., 23 муж. в возрасте от 19 до 75 лет), получающих лечение программным ГД в течение не менее 2 лет (в среднем 4,7 года) в отделении «Искусственная почка» Клиники нефрологии, терапии и профессиональных заболеваний им. Е.М. Тареева, ММА им. И.М. Сеченова. Причинами терминальной почечной недостаточности были: хронический гломерулонефрит (ХГН) – у 39 больных, диабетическая нефропатия в рамках СД 1 типа – у 5, хронический пиелонефрит – у 5, аномалии развития почек – у 5, амилоидоз почек – у 2, ишемическая нефропатия в рамках узелкового периартериита, гипертонический нефроангиосклероз, интерстициальный нефрит (уратная нефропатия), поликистоз почек – по 1 больному.

ГД проводился через нативную артериовенозную фистулу (АВФ) по стандартной схеме (3 раза в неделю по 3–5 часов) со скоростью кровотока 250–350 мл/мин с использованием полисульфоновых диализаторов. Всем больным перед началом сеанса ГД и при необходимости во время процедуры в инъекционный порт артериальной магистрали болюсно вводился НФГ в средней дозе 6000 ЕД (3500–7500 ЕД). «Адекватная» доза гепарина во время ГД была определена каждому больному индивидуально, как минимум, за 3 месяца до начала исследования. Модификация дозы гепарина проводилась при наличии тромбообразования в диализных мембранах, ловушках и магистралях во время процедур ГД, а также при наличии остаточной крови в диализаторах в конце процедуры ГД, после промывания физиологическим раствором и при длительном кровотечении из мест пункции после окончания ГД.

Дизайн исследования

Исходя из целей данной работы, исследование проводилось в два этапа. В первой части клиническими и лабораторными методами оценивали состояние системы гемостаза у всех больных, длительно получа-

Таблица

Характеристика больных, получавших различные режимы антикоагуляции

Показатель	Этап I	Этап II	
	Группа НФГ (n = 60)	Группа НФГ (n = 20)	Группа клексана (n = 10)
Пол (жен./муж., n)	37/23	6/14	4/6
Возраст (годы)*	42 ± 16 (19–75)	43 ± 17 (19–73)	41,4 ± 15 (28–75)
Вес (кг)*	68 ± 12 (42–101,5)	69 ± 14 (42–101,5)	67 ± 12 (52,2–88)
Гепарин болюсно (ЕД)*	6000 (3500–7500)	6000 (3500–7500)	
Клексан (мг)*			56 ± 11,5 (80–30)
Причины ТПН (n):			
ХГН	39	15	3
ДН при СД 1 типа	5	2	2
Хронический пиелонефрит	5	1	3
Аномалии почек	5	0	0
Амилоидоз почек	2	1	0
Ишемическая нефропатия	1	0	0
Гипертонический нефроангиосклероз	1	1	0
Интерстициальный нефрит	1	0	1
Поликистоз почек	1	0	1
Длительность ГД (годы)*	2,5 ± 2 (2–7)	2,6 ± 1,8 (2–7)	2,2 ± 1,8 (2–4)

* *Данные представлены как среднее и стандартная ошибка среднего (M ± SEM).*

Примечание. ТПН – терминальная почечная недостаточность, НФГ – нефракционированный гепарин, НМГ – низкомолекулярный гепарин, ХГН – хронический гломерулонефрит, ДН – диабетическая нефропатия, СД 1 типа – сахарный диабет 1 типа, ГД – гемодиализ.

ющих во время процедур гемодиализа антикоагулянтную терапию НФГ. На втором этапе 30 из 60 больных, получавших НФГ во время процедур ГД, рандомизировали на получение двух видов антикоагулянтной терапии: НФГ или НМГ. Двадцать больных по-прежнему получали НФГ, 10 больным последний был заменен эноксапарином (клексан, Sanofi-Aventis). Рандомизация проводилась методом «минимизации» с учетом пола, возраста, продолжительности заместительной почечной терапии (ЗПТ) и нозологических форм. В группу НФГ вошли 20 больных (6 жен./14 муж.) в возрасте от 19 до 73 лет, в группу клексана – 10 больных (4 жен./6 муж.) в возрасте от 28 до 75 лет. Характеристика больных представлена в табл. Все больные дали добровольное согласие на участие в исследовании.

НФГ вводился в прежнем для каждого больного режиме. Клексан вводился в инъекционный порт артериальной магистрали перед началом ГД однократно болюсно из расчета 1 мг/кг. При развитии геморрагических осложнений в ходе исследования проводилась модификация дозы препарата. Продолжительность этой части исследования составила 6 месяцев. Параметры коагуляции исследовали в динамике до начала и после завершения 1-й после рандомизации процедуры ГД, затем – через 1, 3 и 6 месяцев.

Методы исследования

В ходе исследования оценивали клинические и лабораторные параметры. К клиническим параметрам относили: наличие тромбов в венозной и артериальной ловушках, тромбирование линий экстракорпорального контура и диализных мембран во время проведения ГД, геморрагические осложнения во время и по окончании проведения ГД, время остановки кровотечения из мест пункции.

Определяли следующие коагулологические параметры:

1. Характеризующие плазменное звено системы гемостаза: концентрацию фибриногена в соответствии с инструкцией к набору «Фибриноген-тест», «Технология – Стандарт», Барнаул, Россия; активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) в соответствии с инструкцией к набору PTT, Roche, Франция; тромбиновое время в соответствии с инструкцией к набору «Тромбин-тест», «Технология – Стандарт», Барнаул, Россия.

2. Основной естественный антикоагулянт – антитромбин III в соответствии с инструкцией к набору STA AIII, Roche, Франция.

3. Маркеры внутрисосудистого свертывания крови: растворимые комплексы фибрин-мономеров (РКФМ) в соответствии с унифицированной методикой межклинической лаборатории ММА им. И.М. Сеченова с использованием диагностикума «Протаминсульфат», Уфа, Россия; или FM-тест в соответствии с инструкцией к набору FM-test, Roche, Франция; концентрацию Д-димера в соответствии с инструкцией к набору STAGA, Roche, Франция.

В первой части исследования всем больным забор крови проводился из артериальной магистрали перед процедурой ГД до введения НФГ. Во второй части исследования основными этапами забора крови были: начало исследования (забор крови из артериальной магистрали до и после первой процедуры ГД), через 1, 3 и 6 месяцев после начала исследования. На этих сроках забор крови из артериальной магистрали проводился до начала ГД.

Статистический анализ. Показатели, подчиняющиеся нормальному распределению, представлены в виде M ± SEM; качественные показатели – в долях (процентах) либо в абсолютных значениях. Статистический межгрупповой и внутригрупповой анализ проводился с помощью двустороннего и парного критериев Стьюдента. Для оценки достоверности различия качественных признаков (долей в группах) использовался точный критерий Фишера (для двух параметров) и χ^2-критерий (для трех и более параметров). В качестве критического уровня достоверности различий был принят уровень 0,05.

Результаты и обсуждение

Анализ клинических проявлений у 60 больных, получающих стандартный режим гепаринизации НФГ во время процедуры ГД, не выявил наличия тромботических или геморрагических осложнений. Основные коагулологические параметры были в пределах нормальных значений и составляли: фибрино-

ген – 3,7 ± 1,1 г/л (N – 1,8–4,0 г/л); АЧТВ – 42,7 ± 14,1 с (N – 27–49 с), ТВ – 34,0 ± 12,8 с (N – 27–33 с), АТ III – 116,7 ± 36,9% (N – 80–120%).

Изучение маркеров активации свертывающей системы крови показало, что уровень РКФМ составил в среднем 0,5 ± 0,1 ед. экст. (N – 0,35–0,47 ед. экст.) и был выше нормы у 68% больных, варьируя от 0,34 до 0,71 ед. экст.; у 27% больных значение FM-теста было выше нормы (менее 20 мкг/мл).

Концентрация Д-димера, в норме не превышающая 0,5 мг/дл, оставалась нормальной у 47% больных. У 50% пациентов его уровень составлял 0,5–3,0 мг/дл, а у 3% – превышал 3,0 мг/дл.

Таким образом, у больных, получающих лечение ГД, несмотря на нормальные значения рутинных коагуляционных тестов, имеются признаки активации внутрисосудистого свертывания крови, о чем свидетельствует сочетание повышенного уровня РКФМ и Д-димера более чем в 50% случаев. Результаты нашего исследования подтверждают данные других авторов, доказывающие наличие у больных с терминальной хронической почечной недостаточностью (ХПН), особенно получающих лечение ГД, протромботического состояния [3, 12], которое рассматривают как постоянную угрозу развития тромбозов, в первую очередь сосудистого доступа. Активация системы гемостаза у этих больных, сохраняющаяся, несмотря на многолетнее применение НФГ во время процедур ГД, по-видимому, отражает недостаточную способность гепарина блокировать внутрисосудистое свертывание крови, возможно, обусловленную его истощающим влиянием на TFPI [13].

Сравнение параметров системы гемостаза у больных на ГД после рандомизации показало, что длительность времени остановки кровотечения из мест пункции после прекращения процедур ГД в группах НФГ и НМГ была схожей и равной 2,5–5 мин.

Тромботические осложнения отмечены в обеих группах больных. У 3 пациентов из группы НФГ развился тромбоз венозной ловушки, у 2 пациентов из группы клексана – тромбоз АВФ, потребовавший ее реконструкции, причем в одном случае – в начале исследования при подборе дозы клексана, в другом – при резком снижении АД после процедуры ГД.

Геморрагические осложнения отмечены у 3 больных из группы клексана. У 2 больных кровотечения отмечались при подборе дозы препарата: у одного – рецидивирующие носовые, у другого – рецидивирующие геморроидальные кровотечения, потребовавшие прошивания геморроидальных вен. Несмотря на двукратное уменьшение дозы препарата последнему пациенту (0,5 мг на 1 кг), геморроидальные кровотечения продолжались, в связи с чем препарат был отменен. У 1 больного с поликистозной болезнью было отмечено кровоизлияние в кисту печени, что также потребовало прекращения лечения клексаном через 3,5 месяца лечения.

Анализ параметров, характеризующих ВС-свертывание, показал, что по завершении первой после рандомизации процедуры ГД у 79% больных, получающих клексан, выявлен нормальный уровень Д-димера (меньше 0,5 мкг/мл), у 21% концентрация Д-димера составила 0,5–3,0 мкг/мл. Среди больных из группы НФГ нормальный уровень Д-димера имели 50% пациентов, у 20% он составил 0,5 мкг/мл, у 30% – 0,5–3,0 мкг/мл ($p < 0,05$) (рис. 1).

Показатели FM-теста у всех больных из группы НМГ оказались нормальными (менее 20 мкг/мл) и превышали норму у 14% пациентов из группы НФГ (рис. 2). Полученные данные позволяют предположить, что у больных на ГД однократное введение НМГ после длительного применения НФГ более эффективно подавляет признаки внутрисосудистого свертывания крови.

Изучение в динамике концентрации Д-димера в плазме больных из группы клексана показало, что по мере увеличения длительности лечения возрастало количество больных с повышенным уровнем Д-димера, достигшее максимума к концу 3-го месяца терапии. Продолжение введения НМГ сопровождалось значимым по сравнению с 3-месячным сроком ($p = 0,03$) увеличением числа больных с нормальным уровнем Д-димера, которое к концу 6-го месяца применения данного режима антикоагуляции имело тенденцию возврата к исходному количеству ($p = 0,06$) (рис. 3).

Сопоставление уровней Д-димера в обеих группах показало, что на всех сроках лечения, кроме 3 меся-

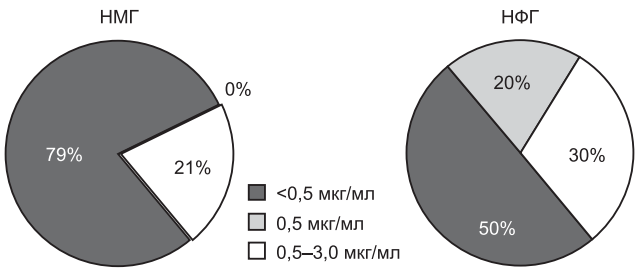


Рис. 1. Сравнение уровней Д-димера после первого сеанса ГД в группах больных, получавших НМГ и НФГ

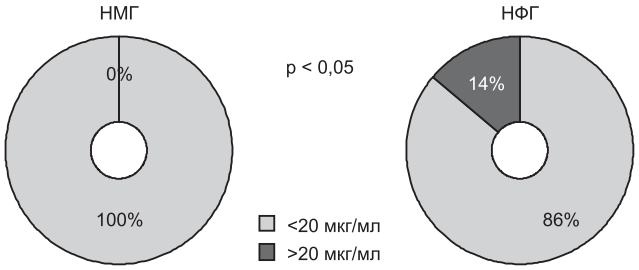


Рис. 2. Сравнение уровней FM-теста после первого сеанса ГД в группах больных, получавших НМГ и НФГ

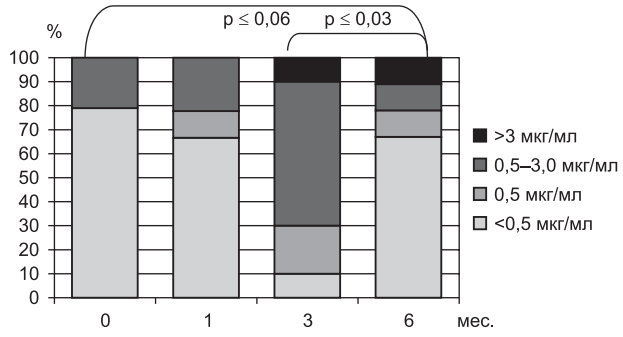


Рис. 3. Динамика Д-димера в группе больных, получавших клексан

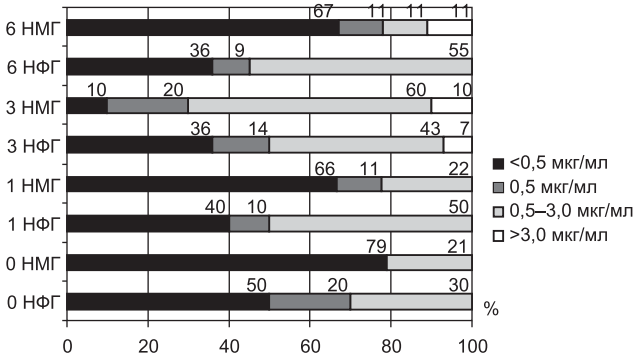


Рис. 4. Динамика Д-димера при разных режимах антикоагуляции

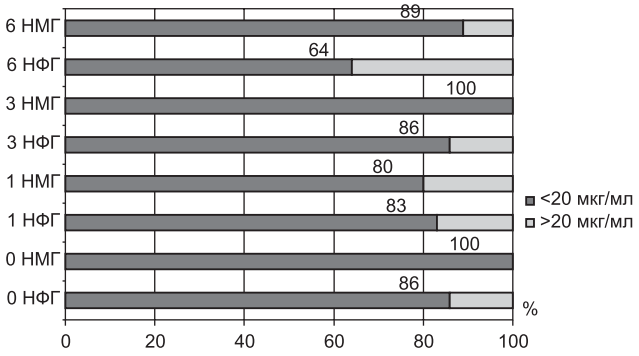


Рис. 5. Сравнение уровней FM-теста в двух группах больных в динамике

цев, количество больных с нормальным значением этого показателя в группе клексана превосходило таковое в группе НФГ, хотя и недостоверно (рис. 4).

Динамика FM-теста (рис. 5) на всех сроках лечения, в том числе и 3-месячном, повторяла закономерности, свойственные Д-димеру, т. е. нормальные значения FM-теста недостоверно чаще выявлялись у больных, получающих в качестве антикоагулянта клексан.

Полученные данные свидетельствуют о сходном воздействии НМГ и НФГ на основные показатели системы свертывания крови. Однако, как и обычный гепарин, клексан, по-видимому, не может полностью подавить активацию внутрисосудистого свертывания крови у больных на ГД. Несмотря на это, меньшее число больных с высоким уровнем маркеров внутрисосудистого свертывания (Д-димера и FM-теста) в группе клексана на протяжении всего срока исследования, особенно к концу 6-го месяца лечения, позволяет предполагать большую эффективность НМГ по сравнению с НФГ в отношении признаков внутрисосудистой гиперкоагуляции. В качестве вероятной причины этого может обсуждаться меньшее истощающее влияние НМГ на эндотелиальный пул TFPI. Однако для проверки этого предположения необходимы исследования по длительному использованию НМГ у большего числа ГД-больных.

По-видимому, доза клексана в 1 мг/кг является слишком высокой, в пользу чего свидетельствует развитие кровоточивости у 3 из 10 больных. В связи с этим представляется целесообразным использование более низких доз препарата, что предлагают и другие исследования [16].

Выводы

1. У больных, получающих лечение программным гемодиализом, несмотря на адекватную антикоагуляцию НФГ во время процедуры гемодиализа, имеется активация внутрисосудистого свертывания крови, не выявляемая рутинными коагулологическими исследованиями.

2. Антикоагулянтный эффект эноксапарина (клексана) во время проведения ГД эквивалентен таковому НФГ в отношении клинических проявлений тромбофилии.

3. У больных ТПН, получающих лечение гемодиализом, клексан обладает большей эффективностью в отношении влияния на внутрисосудистую гиперкоагуляцию по сравнению с НФГ.

Литература

1. *Ильин А.П., Богоявленский В.Ф.* Тромбофилия при гемодиализе у больных хронической почечной недостаточностью и ее фраксинопрофилактика и терапия: Пособие для врачей. Изд-е 2-е, испр. и доп. Казань, 2001: 32.

2. *Шило В.Ю., Хасабов Н.Н., Денисов А.Ю.* Низкомолекулярные гепарины у больных на программном гемодиализе: опыт применения фраксипарина. Нефрология и диализ 2006; 8 (2): 184–188.

3. *Ambuhl P.M., Wuthrich R., Korte W., Schmid L., Krapf R.* Plasma hypercoagulability in hemodialysis patients: impact of dialysis and anticoagulation. Neph Dial Transplant 1997; 12: 2355–2364.

4. *Cella G., Vertolli U., Naso A.* et al. Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) activity in uremic patients during hemodialysis. Thromb Res 1996; 81: 671–677.

5. *Faioni E.M., Franchi F., Krachmalnicoff A., Valsecchi C., Vigiano G.L., Remuzzi G., Manucci P.M.* Low-levels of anticoagulant activity of protein C in patients with chronic renal insufficiency: An inhibitor of protein C in present in uremic plasma. Thromb Haemost 1991; 66: 420–425.

6. *Haas G.* Versuche der Blutauswashung am Lebenden mit hilfe der Dialyse. Klin Wschr 1925; 4: 13–14.

7. *Johnson E.A., Kirkwood T.B.L., Stirling Y.* et al. Four heparin preparations: anti-Xa potentiating effect of heparin after subcutaneous injection. Thromb haemost 1976; 35: 586–591.

8. *Kario K., Matsuo T., Yamada T., Matsuo M.* Increased tissue factor pathway inhibitor levels in uremic patients on regular hemodialysis. Thromb Haemost 1994; 71: 275–279.

9. *Klingel R., Schwarting A., Lotz J., Eckert M., Hohmann V., Hafner G.* Safety and efficacy of single bolus anticoagulation with enoxaparin for chronic hemodialysis. Kidney Blood Press Res 2002; 25 (3): 181.

10. *Ljungberg B.* A low-molecular heparin fraction as an anticoagulant during hemodialysis. Clin Nephrol 1985; 24 (1): 15–20.

11. *Luzzatto G., Bertoli M., Cella G., Fabris F., Zaia B.* Platelet count, anti-heparin/platelet factor 4 antibodies and tissue factor pathway inhibitor plasma antigen level in chronic dialysis. Thromb Res 1998; 89: 115–122.

12. *Maderna P., Coleman P., Godson C., O'Meara Y.M., Brady H.R.* Serum from hemodialysis patients inhibits basal and cytokine-stimulated tissue factor expression *in vitro*. J Am Soc Nephrol 1999; 10: 2403–2406.

13. *Naumnik B., Borawski J., Mysliwiec M.* Different effects of enoxaparin and unfractionated heparin on extrinsic blood coagulation during haemodialysis: a prospective study. Nephrol Dial Transplant 2003; 18 (7): 1376–1382.

14. *Perrone B., Youssef M., Glennie N.* Selection of a low-molecular weight heparin (LMWH) for hemodialysis (HD): medical criteria versus financial [Abstract]. Nephrol Dial Transplant 1996; 11 (6): A200. Annual Congress Of The European Renal Association And The European Dialysis And Transplant Association, Amsterdam (June 1996).

15. *Sagripanti A., Cupisti A., Baicchi U., Ferdeghini M., Morelli E., Barsotti G.* Plasma parameters of the protrombotic state in chronic uremia. Nephron 1993; 63: 273–278.

16. *Saltissi D., Morgan C., Westhuyzen J., Healy H.* Comparison of low-molecular-weight heparin (enoxaparin sodium) and standard unfractionated heparin for haemodialysis anticoagulation. Nephrol Dial Transplant 1999; 14: 2698–2703.