

Тщательный отбор сырья

- Вирусологический контроль каждой донации, минипула и производственного пула

Эффективный и щадящий метод очистки

- Хроматографическая очистка с сохранением природной структуры комплекса фактор VIII - фактор Виллебранда Специфическая активность фактора VIII-100 МЕ/мг белка
- Высокая физиологическая стабильность, отсутствие необходимости в чужеродных стабилизаторах

Гарантированный высокий стандарт безопасности: эффективная вирусинактивація

- Обработка сольвентом/дегтергентом, тепловая обработка при 100°C Ни одного случая передачи вирусов гепатита A,B,C и ВИЧ

Признанная клиническая эффективность

- Домашнее лечение гемофилии А
- Терапия при хирургических вмешательствах
- Индукция иммунной толерантности при ингибиторных формах гемофилии А
- Лечение болезни Виллебранда

Отличная переносимость

- Отсутствие тяжелых побочных реакций

Удобство применения

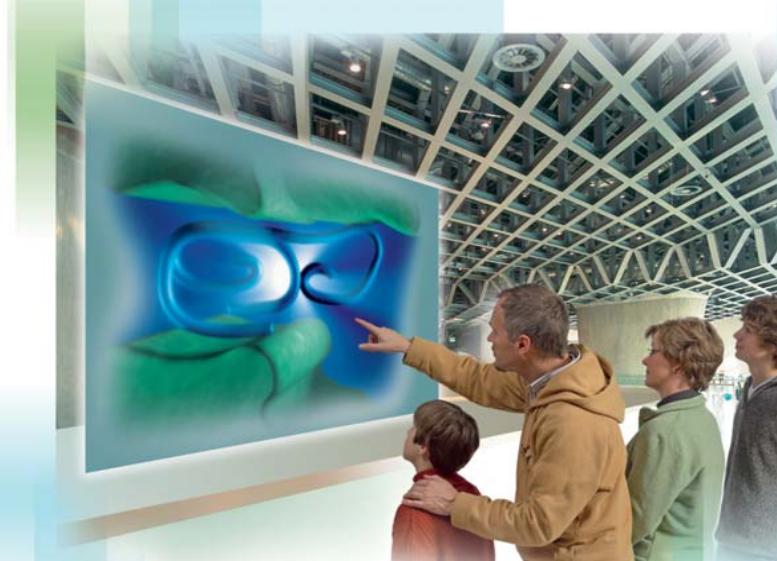
- Полный комплекс принадлежностей для приготовления и введения в/в раствора
- Хранение при комнатной температуре 2 года

ГЕМОКТИН®

Фактор VIII человека

Естественная стабилизация
фактором Виллебранда

Доказанная эффективность в лечении
ингибиторных форм гемофилии А



Гемоктин® – лиофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения 250, 500, 100 МЕ (флаконы). Поставляется в комплекте с растворителем – вода для инъекций (флаконы 5 мл для 250 МЕ или 10 мл для 500, 1000 МЕ), и набором для приготовления и введения раствора (шприц одноразовый, устройство для добавления растворителя с встроенным фильтром, устройство для венепункции)

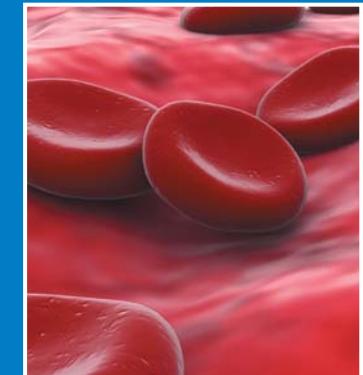
 **Bioteest**
From Nature for Life

 БИБЛИОТЕКА
ВРАЧА-СПЕЦИАЛИСТА

А.Г. Румянцев
С.А. Румянцев
В.М. Чернов

 БИБЛИОТЕКА
ВРАЧА-СПЕЦИАЛИСТА
ГЕМАТОЛОГИЯ

Гемофилия в практике врачей различных специальностей



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

**А.Г. Румянцев
С.А. Румянцев
В.М. Чернов**



Гемофилия в практике врачей различных специальностей

Москва



**ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2012**

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|---|----|
| Список сокращений | 5 |
| Введение | 7 |
| Глава 1. Общие вопросы гемофилии | 9 |
| Определение заболевания | 9 |
| История описания гемофилии | 9 |
| Развитие представлений о гемофилии | 10 |
| Эпидемиология гемофилии | 11 |
| Эпидемиология гемофилии в России | 14 |
| Регистры больных гемофилией | 14 |
| Глава 2. Генетические основы гемофилии | 17 |
| Наследование гемофилии | 17 |
| Выявление носителей гемофилии | 20 |
| Антенатальная диагностика | 24 |
| Доимплантационная диагностика | 25 |
| Глава 3. Система свертывания крови и лабораторная диагностика гемофилии | 26 |
| Структура и функция системы свертывания крови | 26 |
| Лабораторные тесты для оценки гемостаза | 35 |
| Скрининговые тесты для оценки сосудистого и тромбоцитарного компонентов гемостаза | 35 |
| Скрининговые тесты для оценки плазменного звена гемостаза | 37 |
| Методы исследования плазменного звена гемостаза | 39 |
| Клоттинговые методы | 39 |
| Метод с хромогенным субстратом | 40 |
| Турбидиметрический метод | 40 |
| Определение FVIII с использованием хромогенного субстрата | 40 |
| Анализ конкретного фактора свертывания крови | 41 |
| Интерпретация лабораторных тестов и алгоритм диагностики гемофилии | 42 |
| Пробы на определение ингибиторов | 43 |
| Лабораторный контроль эффективности лечения | 44 |
| Глава 4. Клинические проявления гемофилии | 46 |
| Классификация гемофилии | 46 |
| Патогенез геморрагического синдрома | 47 |
| Геморрагический синдром при гемофилии | 48 |
| Поражение опорно-двигательного аппарата при гемофилии | 52 |
| Патогенез гемофилической артропатии | 53 |
| Псевдоопухоли | 57 |
| Глава 5. Препараты для лечения гемофилии | 61 |
| Группировка препаратов для лечения гемофилии | 61 |
| Особенности производства современных препаратов для лечения гемофилии | 63 |
| Современные препараты, используемые в лечении гемофилии | 69 |
| Концентраты FVIII, используемые для лечения гемофилии А | 70 |
| Концентраты FIX, используемые для лечения гемофилии В | 72 |
| Препараты, используемые для лечения ингибиторной формы гемофилии | 73 |
| Антиингибиторный коагулантный комплекс (АКК) | 73 |

| | |
|--|-----|
| Рекомбинантный FVIIa (эптаког альфа активированный) | 73 |
| Внутривенный иммуноглобулин | 74 |
| Другие препараты для лечения гемофилии | 74 |
| Основные направления разработки новых препаратов для лечения гемофилии. | 74 |
| Разработка новых препаратов для лечения ингибиторной гемофилии. | 75 |
| Глава 6. Лечение гемофилии | 76 |
| Протокол ведения больных гемофилией. | 76 |
| Лечение гемофилии по требованию (on demand) | 77 |
| Профилактическое лечение гемофилии | 78 |
| Домашнее лечение гемофилии | 81 |
| Лечение ингибиторной гемофилии | 87 |
| Зависимость успеха индукции иммунной толерантности от типа применяемого препарата FVIII. | 90 |
| Схема дозирования FVIII в Боннском протоколе | 93 |
| Практические рекомендации по проведению ИИТ. | 94 |
| Чего следует избегать при терапии ИИТ? | 96 |
| Экстракорпоральные методы лечения ингибиторной гемофилии | 97 |
| Плазмаферез | 97 |
| Экстракорпоральная иммуноабсорбция. | 97 |
| Особенности проведения хирургических манипуляций у больных гемофилией. | 98 |
| Гемостатическое обеспечение оперативных вмешательств | 98 |
| Хирургическое лечение больных с поражениями опорно-двигательной системы | 102 |
| Стоматологическая помощь больным гемофилией. | 103 |
| Генная терапия гемофилии | 104 |
| Аденовирусный препарат | 104 |
| Аденоассоциированный вирусный препарат | 105 |
| Ретровирусные препараты. | 107 |
| Глава 7. Восстановительная терапия и наблюдение больных гемофилией | 109 |
| Лечебная гимнастика для больных гемофилией | 109 |
| Рекомендации по уходу за больными гемофилией | 114 |
| Вакцинация | 114 |
| Лечение других заболеваний. | 115 |
| Посещение детских дошкольных учреждений | 115 |
| Образование | 116 |
| Физическая активность | 116 |
| Глава 8. Организация специализированной помощи больным гемофилией | 117 |
| Специализированная помощь больным гемофилией в Российской Федерации | 117 |
| Социально-психологическая адаптация | 119 |
| Роль ассоциаций и обществ больных гемофилией | 121 |
| Адреса, сайты и порталы, содержащие информацию о гемофилии | 122 |
| Рекомендуемая литература | 124 |

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГФ — антигемофильтральный фактор
- АДФ — аденоzinдинуклеотидфосфат
- АКК — аминокапроновая кислота
- АЛТ — аланинаминотрансфераза
- АТФ — аденоzinтринуклеотидфосфат
- АЧТВ — активированное частичное (парциальное) тромбопластиновое время
- БЕ — Бетезда единица
- ВИЧ — вирус иммунодефицита человека
- ВК — время кровотечения
- ВОГ — Всероссийская организация гемофилии
- ВС — время свертывания крови
- ГНЦ — Гематологический научный центр
- ДВС — диссеминированное внутрисосудистое свертывание
- ДНК — дезоксинуклеиновая кислота
- ИДГКБ — Измайловская детская городская клиническая больница
- ИИТ — индукция иммунной толерантности
- КПК — концентрат протромбинового комплекса
- ЛФК — лечебная физическая культура
- МЕ — международная единица
- МИЧ — международный индекс чувствительности
- МКБ-10 — Международная классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра (МКБ-10)
- МНО — международное нормализованное отношение
- ОЦК — объем циркулирующей крови
- ПВ — протромбиновое время
- ПДРФ — полиморфизм длины рестрикционных фрагментов
- ПДФ — продукт деградации фибрина
- ПК — протромбиновый комплекс
- п.н. — пара нуклеотидов
- ПО — протромбиновое отношение
- ПЦР — полимеразная цепная реакция
- РОТ — реакция освобождения тромбоцита
- ТАП — тканевый активатор плазминогена
- ТВ — тромбиновое время

| | |
|--|--|
| ФМБА | — Федеральное медико-биологическое агентство России |
| ФНКЦ ДГОИ | — Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева |
| ФО | — федеральный округ |
| ЭКО | — экстракорпоральное оплодотворение |
| AAV | — аденоассоциированный вирус |
| APC | — активированный протеин C |
| CD | — кластер дифференцировки |
| DDAVP | — ацетат десмопрессина |
| EPI | — ингибитор внешнего пути |
| FII | — фактор свертывания крови II |
| FVII | — фактор свертывания крови II |
| FVIII | — фактор свертывания крови VIII |
| FIX | — фактор свертывания крови IX |
| FX | — фактор свертывания крови X |
| GP | — гликопротеин |
| IgG | — иммуноглобулин G |
| IVR (<i>in vivo recovery</i>) | — восстановление активности фактора <i>in vivo</i> |
| PAI | — ингибитор активатора плазминогена 1 |
| pNA | — <i>n</i> -нитроанилин |
| PTPs (previously treated patients) | — предварительно леченые пациенты |
| PUPs (previously untreated patients) | — предварительно не леченые пациенты |
| rFVIIa | — рекомбинантный активированный фактор свертывания VII |
| RRa (adjusted relative risk) | — адьюстированный относительный риск |
| TF | — тканевый фактор |
| TFPI | — ингибитор пути тканевого фактора |
| TGF- β (transforming growth factor beta) | — трансформирующий фактор роста β |
| vWF | — фактор Виллебранда |
| vWF:RCo | — ристоцетин-кофакторная активность фактора Виллебранда |

ВВЕДЕНИЕ

Изучение гемофилии — драматическая страница медицины. Известная с начала первого тысячелетия нашей эры, гемофилия является одним из часто встречающихся наследственных нарушений свертывания крови. По мере развития медицины изменялись и возможности лечения гемофилии — от полной неспособности помочь больному до эффективной заместительной терапии современными препаратами. В XX в. на примере гемофилии великолепно продемонстрированы возможности научной и практической медицины: болезнь перестала быть загадочной, а зачастую и смертельной и представляет собой полностью расшифрованное с помощью генетических и молекулярно-биологических исследований состояние, для которого сегодня существует простое, рациональное и эффективное лечение.

Разработка, производство и доступность концентратов недостающих в организме больных гемофилией факторов свертывания крови (FVIII при гемофилии А и FIX при гемофилии В), наличие методов заместительного лечения, в том числе и в домашних условиях, значительно повысили эффективность лечения и качество жизни больных. В начале 80-х годов XX в. было обнаружено, что с концентратами факторов, полученных из плазмы доноров, передаются гепатиты и вирус иммунодефицита человека (ВИЧ). Это послужило основанием для разработки методов инактивации вирусов при производстве концентратов факторов свертывания из плазмы человека, что позволило значительно снизить риск заражения известными трансмиссивными инфекционными заболеваниями. Дальнейшим прогрессом явилась разработка и производство рекомбинантных факторов свертывания и их доступность для лечения больных гемофилией. В настоящее время при использовании современных препаратов, полученных как из плазмы человека, так и с помощью рекомбинантной технологии, риск передачи трансмиссивных инфекций полностью отсутствует. Генетические исследования и применение молекулярно-генетических методов обследования больных позволили не только выявить ген, ответственный за синтез факторов свертывания, но и расшифровать генетические события, приводящие к появлению так называемых спорадических случаев гемофилии, ранее не понятных для врачей и исследователей. Такими генетическими событиями оказались точечные мутации гена, затрагивающие один нуклеотид; делеции частей гена; мутации, нарушающие регуляцию активности гена. В настоящее время с помощью медико-генетического консультирования возможно выявление среди пораженных семей женщин — носительниц

гена гемофилии ипренатальное выявление заболевания уплодов мужского пола. Однако человечеству пока неудается полностью расстаться сгемофилией из-запоявления спорадических случаев заболевания.

Важной клинической проблемой по-прежнему остается возникновение впроцессе лечения ингибиторов —антител кFVIIIили FIX. Длялечения больных ингибиторной формой гемофилии разработаны специальные протоколы индукции (создания) иммунной толерантности (ИИТ): Боннский протокол, протокол Мальмё, протокол Ван Крефельда идр. Хорошие результаты лечения ингибиторной гемофилии получены прииспользовании препаратов, обладающих шунтирующим механизмом действия: эптакога альфа (активированного) и антиингибиторного коагулантного комплекса (АКК — препарат ФЕЙБА®, «Бакстер», Австрия). Разработан метод домашнего лечения ингибиторной гемофилии, показавший высокую эффективность, —введение препаратов эптакога альфа (активированного) самим больным.

В будущем влечении больных тяжелой формой гемофилии методом выбора может стать генная терапия, которая внастоящее время разрабатывается иносит экспериментальный характер. Учитывая грядущие достижения, можно с уверенностью сказать, что втекущем тысячелетии появится возможность полного излечения древнего недуга благодаря внедрению методов молекулярной генетики, являющихся продолжением и завершением направленных на облегчение страданий больных гемофилией достижений предшествующих поколений врачей и исследователей.

Стремление помочь больным гемофилией объединило усилия различных специалистов: генетиков, молекулярных биологов, разработчиков новых лекарственных средств, гематологов, хирургов-ортопедов, терапевтов, педиатров, физиотерапевтов, научных работников.

В силу хронического течения болезни, разнообразия клинических проявлений, необходимости пожизненной заместительной терапии, особенностей ее проведения вразличных клинических ситуациях, возможности развития осложнений течения болезни и ее терапии больные гемофилией наблюдаются различными специалистами. В связи с этим, по нашему глубокому убеждению, знакомство с проблемами гемофилии необходимо всем врачам. С этих позиций и написана данная книга.

ГЛАВА 1

Общие вопросы гемофилии

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Гемофилия (*haemophilia*; греч. *haima* — кровь + *philia* — склонность) — наследственное заболевание, преимущественно лиц мужского пола, в основе которого лежит нарушение первой фазы свертывания крови, обусловленное дефицитом FVIII или FIX и проявляющееся частыми, длительными кровотечениями и гемартрозами. Заболевание, вызванное дефицитом FVIII (антигемофильного глобулина или фактора — АГФ), называют гемофилией А (классической), а заболевание, вызванное дефицитом FIX (фактора Кристмаса), — гемофилией В. Недостаточность FXI, которую некоторые авторы называют гемофилией С, и недостаточность FV, называемую парагемофилией, не являются истинной гемофилией.

В Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем, десятого пересмотра (МКБ-10) гемофилии А присвоена рубрика D66, а гемофилии В — D67.

ИСТОРИЯ ОПИСАНИЯ ГЕМОФИЛИИ

Гемофилия известна человечеству более 2000 лет. Первые сведения о гемофилии содержатся в еврейском священном писании Талмуд, где описаны смертельные кровотечения у мальчиков после ритуального обрезания. Там же даны и возможные в то время рекомендации профилактического типа: «Ибо было сказано, если она сделает обрезание

своему первому ребенку, и он умрет (от кровотечения во время операции) и второй тоже умрет, то она не должна делать обрезание своему третьему ребенку». Упоминание о характерном для лиц мужского пола наследственном нарушении процесса свертывания крови было обнаружено в летописи II в. Мавританский хирург K. Abbas, живший в X в., описывает деревню, в которой многие жители мужского пола имели выраженные проявления кровоточивости после незначительной травмы. Разрозненные сообщения о лицах мужского пола, которые страдали кровоточивостью на протяжении всей жизни, обнаруживаются в медицинских трактатах позднего Средневековья и эпохи Возрождения.

Впервые гемофилия как самостоятельное заболевание была описана американским врачом J. Otto в 1803 г. Он определил это заболевание как врожденное, сопровождающееся кровотечениями, поражающее только мужчин и передаваемое здоровыми женщинами. Родословную семьи больного гемофилией впервые опубликовал J. Hay в 1813 г. В 1820 г. Ch. Nasse сформулировал закон о наследственной передаче заболевания — от деда к внуку через внешне здоровую мать-кондуктора. В Германии этой болезни первоначально было дано название «геморрафилия», чтобы обозначить характерную ее черту — склонность к кровоточивости, однако впоследствии название видоизменилось, и F. Horppf в 1828 г. предложил термин «гемофилия», который используется и в настоящее время.

РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ГЕМОФИЛИИ

Классический обзор литературы по гемофилии, изданной до 1911 г., был опубликован W. Bulloch и P. Fildes из лаборатории Евгеники Гальтона. В обзоре были обобщены сведения почти о 1000 случаев гемофилии из 224 родословных. К тому времени стало очевидно, что тяжесть проявлений гемофилии может быть различной, но заболевание стойко повторяется в пределах определенной семьи. Заболевание лиц мужского пола и появление женщин-кондукторов хорошо прослеживались на примере родословных, в которых несколько потомков женского пола больного мужчины передавали болезнь последующему поколению. Правильное объяснение нарушений, связанных с полом, было дано W. Bateson в 1909 г. в отношении цветовой слепоты и гемофилии. В это время королева Виктория, достоверная носительница гемофилии, распространила дефектный ген среди королевских семей Европы. Это мог быть ген как гемофилии A, так и гемофилии B, вымирание его произошло до эры

дифференциальной диагностики гемофилии. Судьба потомков королевы, унаследовавших заболевание, характерна для больных тяжелой формой гемофилии с ранней инвалидизацией и смертью от кровотечений. При идентификации останков российской царской семьи методами молекулярной генетики был выявлен ген гемофилии В.

Первая демонстрация нарушения свертывания крови при гемофилии на лабораторном уровне была проведена A. Wright, который в 1893 г. показал замедление образования сгустка в стеклянном капилляре.

P. Morawitz в 1905 г. в классическом обзоре подвел итог исследованиям XIX в. по механизму свертывания крови (цит. по *Boulton F.*, 2006). В соответствии с представлениями того времени схема свертывания крови, которую он предложил, включала только четыре компонента: тканевый тромбопластин, протромбин, кальций и фибриноген крови. Дефект гемостаза подозревался в тканевом факторе. Эти представления сохранялись вплоть до 1937 г., когда A. Patek и F. Taylor выделили корректирующую фракцию из крови здоровых людей и назвали ее АГФ. Лабораторный метод определения этого фактора был разработан C. Merskey и R. Macfarlane только в 50-е годы XX в.

Представление о гемофилии как об однородном заболевании было опровергнуто, когда A. Pavlovsky обнаружил, что дефект свертывания крови одного больного гемофилией может быть нормализован переливанием крови от другого человека, страдающего этой же болезнью. К 1952 г. три группы исследователей (*Pavlovsky A.*, 1952; *Biggs R. et al.*, 1952; *Aggeler P. et al.*, 1952) независимо друг от друга обнаружили, что у части больных гемофилией содержание АГФ нормальное. Новое заболевание было названо гемофилией В, а недостающий фактор получил название по имени одного из первых больных — фактор Кристмаса. В 1962 г. Международный комитет присвоил римские цифры VIII — АГФ и IX — фактору Кристмаса. В 1964 г. E. Davie и O. Ratnoff, а также R. Macfarlane предложили каскадную гипотезу процесса свертывания крови. Эта гипотеза явилась большим достижением, однако в дальнейшем, по мере получения новых данных и представлений о процессах гемостаза при различных патологических состояниях, она была значительно изменена и дополнена.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ГЕМОФИЛИИ

Долгие годы в гематологии существовало мнение о том, что частота рождаемости мальчиков с гемофилией примерно одинакова

в различных странах. По данным ВОЗ, в начале 70-х годов XX в. показатель заболеваемости детей гемофилией А составлял 0,47–1 на 10 000 новорожденных мальчиков. Позднее появились работы, в которых указывалась более высокая, чем это представлялось ранее, заболеваемость гемофилией в некоторых странах. Особенно характерно это оказалось для стран Скандинавии. К. Sjolin (Дания), О. Ramgren (Швеция) выявили одного больного гемофилией А из 7000–7500 новорожденных мальчиков.

В странах, в которых созданы центры по лечению гемофилии и ведутся регистры, возможен более полный учет больных гемофилией и расчет основных частотных характеристик показателей заболеваемости и распространенности. В ряде сообщений приводятся данные национальных регистров гемофилии, что наиболее ценно.

В США в 1965 г. был создан Национальный фонд гемофилии и открыто более 50 центров гемофилии. Каждый из этих центров периодически сообщает данные о заболеваемости гемофилией в определенном регионе страны. М. Eyster и соавт. в 1980 г. определили распространность гемофилии А в штате Пенсильвания как 1 больной на 10 000 мужского населения. Дефицит FVIII встречался в 5 раз чаще, чем дефицит FIX.

В Национальном регистре Северной Америки в 1997 г. уже было зарегистрировано 100% больных, наблюдавшихся в центрах гемофилии, всего 2141 больной. По данным расчетов, распространенность гемофилии А и В в Северной Америке составила 13,7 на 100 000 мужчин.

В Германии в результате активной работы по выявлению и учету больных гемофилией было зарегистрировано около 3000 больных гемофилией А и В на 65 000 000 населения, показатель распространенности составил 4,6 на 100 000 населения.

Показатель заболеваемости гемофилией А и В в Польше составлял в 1981 г. 6 на 100 000 населения.

В Национальном регистре больных наследственными коагулопатиями Италии зарегистрировано 7500 человек. Из них 3500 с гемофилией А, 600 — с гемофилией В и 200 больных другими коагулопатиями. Данные Национального регистра базировались на сведениях, полученных из 42 центров гемофилии страны, объединенных в Ассоциацию гемофильных центров. Несмотря на то что в данном источнике литературы не приводятся рассчитанные частотные характеристики, он представляет яркий пример эффективного сбора сведений о больных в рамках регистра. За несколько десятилетий до создания регистра с помощью анкет в Италии удалось выявить 1835 больных, наблюда-

емых в центрах гемофилии на 53 000 000 населения (3,4 больного на 100 000 жителей).

В Греции начали заниматься выявлением и учетом больных гемофилией с 1969 г. Показатель распространенности гемофилии составлял 6,25 на 100 000 населения.

На базе имеющихся частотных характеристик возможно проведение косвенных расчетов, сравнение фактического количества больных с теоретическим, получение процента недоучета больных.

Зная частоту гемофилии при рождении и распространенность болезни, можно приблизительно рассчитать общее количество больных в мире. Впервые такие расчеты проделал А. Merritt в 1975 г. Если численность населения земного шара (приблизительно 50% составляют мужчины) принять за 4 000 000 000 человек (в настоящее время более 6 000 000 000 человек) и допустить, что продолжительность жизни больных гемофилией приближается к нормальной, то получится, что во всем мире насчитывается около 100 000 мужчин с гемофилией А и 20 000 мужчин с гемофилией В.

По данным литературы, частота возникновения ингибиторов составляет 20–33% у пациентов с тяжелой формой гемофилии А (активность FVIII 1% и менее) и 0,9–7% у пациентов с легкой и среднетяжелой формой гемофилии А (активность FVIII 1–30%), 3–6,5% у пациентов с тяжелой формой гемофилии В (*Briët E.*, 2001; *Key N.*, 2004; *Kessler C.*, 2005).

Ранее смертность среди больных гемофилией была в 2 раза выше, чем аналогичный показатель в общей популяции людей (*Johnson R. et al.*, 1985; *Rosendaal F. et al.*, 1989).

Если в начале XX в. продолжительность жизни больных тяжелой формой гемофилии не превышала 11 лет, то к его концу колебалась уже между 58–63 годами (*Нильссон И.-М.*, 1999).

В США еще недавно продолжительность жизни больных гемофилией была на 10 лет меньше, чем в популяции в целом. В настоящее время продолжительность жизни больных гемофилией в США всего на 1 год меньше, чем в общей популяции. У больных гемофилией стали наблюдать проблемы и заболевания, до проявления которых они ранее просто не доживали. К таким заболеваниям относятся, например, сахарный диабет II типа, атеросклероз, гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь, инфаркт миокарда, инсульты. Возникла необходимость терапевтического и, что важно, хирургического (например, стентирование) лечения сопутствующих приобретенных заболеваний у больных гемофилией.

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ГЕМОФИЛИИ В РОССИИ

В России о более высокой заболеваемости гемофилией детей из северных регионов впервые сообщила З.Д. Федорова в 1986 г. Заболеваемость гемофилией А и В в Ленинграде составляла 2,4 случая на 10 000 лиц мужского пола (т.е. 1 случай на 4166 мальчиков), что в целом соответствовало мировой статистике, но было несколько выше заболеваемости в других регионах бывшего СССР. К сожалению, в литературе не приведены данные или рабочая гипотеза о причинах более высокой заболеваемости гемофилией детей северных регионов.

По сообщению О.П. Плющ, в 1969 г. в Москве регистрировался 1 больной гемофилией А и В на 42 000 жителей, что составляло 2,3 случая на 100 000 населения. Соотношение больных гемофилией А и гемофилией В составило 5:1, что соответствовало литературным данным.

Данные о распространенности гемофилии в Алтайском крае приводит в своей книге З.С. Баркаган. За период наблюдения гемофилия А была выявлена у 202 (90,9%) больных, гемофилия В — у 20 (9,1%) больных, соотношение гемофилии А и гемофилии В оказалось несколько нетипичным — 10:1. Показатель заболеваемости гемофилией А составлял 1,44, гемофилией В — 0,14 на 10 000 лиц мужского пола.

Представляют интерес данные, полученные в результате ретроспективного эпидемиологического исследования (Лобанова Е.В., 2002), проведенного в Москве на базе Гематологического центра (руководитель В.В. Вдовин) при ИДГКБ. За 25 лет (1971–1995 гг.) у жителей Москвы зарегистрировано 263 впервые выявленных случаев гемофилии А и В. Ежегодно в среднем диагностировалось 8 случаев гемофилии А и 2 случая гемофилии В. Среднегодовой показатель заболеваемости мальчиков Москвы гемофилией А за анализируемый период составил $1,59 \pm 0,12$, а гемофилией В — $0,39 \pm 0,06$ на 10 000 живорожденных мальчиков. За 25 лет зарегистрирован только 1 случай смерти больного гемофилией от геморрагического осложнения (кровоизлияния в мозг) в результате травмы. Заболевание перестало быть смертельным у детей, все наблюдаемые больные передаются из педиатрического звена во взрослую сеть. Об этом свидетельствует и постоянно возрастающий показатель распространенности гемофилии.

РЕГИСТРЫ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

В РФ в настоящее время существует несколько регистров больных наследственными коагулопатиями, в том числе гемофилией: регистр

больных гемофилией Минздравсоцразвития России, который поручено вести Федеральному медико-биологическому агентству (ФМБА) России, регистр больных наследственными коагулопатиями Всероссийской организации гемофилии (ВОГ), Всероссийский реестр пациентов с наследственными коагулопатиями (Гематологический научный центр — ГНЦ Минздравсоцразвития России), Всероссийский реестр пациентов с ингибиторной гемофилией (ГНЦ Минздравсоцразвития России), регистр больных Москвы и Московской области [Гематологический центр при Измайловской детской городской клинической больнице (ИДГКБ)], регистр детей, больных гемофилией (Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии — ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России). Каждый из этих регистров создан для решения определенных задач: учета больных, расчета медико-статистических показателей, определения потребности в препаратах, проведения научных исследований и др.

В регистре ВОГ на конец 2007 г. содержались сведения о 7374 больных из различных регионов РФ, в том числе о 1761 ребенке и подростке до 18 лет.

В Всероссийском реестре пациентов с наследственными коагулопатиями ГНЦ на май 2009 г. было зарегистрировано 8454 больных, из них с гемофилией А — 563 человека, с гемофилией В — 676 человек, с болезнью Виллебранда — 2285 человек и с другими коагулопатиями — 930 человек.

В последние годы получены данные о распространенности ингибиторной гемофилии в РФ (Зозуля Н.И., 2010). Всероссийский реестр пациентов с наследственными коагулопатиями ГНЦ в 2006 г. насчитывал 5056 больных гемофилией, из них 68 (1%) — с ингибиторной формой. По данным на август 2010 г., был зарегистрирован 5421 больной, из них 178 (3%) больных ингибиторной формой гемофилии. По федеральным округам (ФО) РФ распределение больных ингибиторной гемофилией оказалось следующим: Центральный ФО — 43 больных, Северо-Западный ФО — 34 больных, Приволжский ФО — 33 больных, Южный ФО — 26 больных, Уральский ФО — 18 больных, Сибирский ФО — 14 больных, Дальневосточный ФО — 10 больных. Распределение больных по возрасту: дети — 56%, взрослые — 44% (Зозуля Н.И., 2010).

В регистре Гематологического центра при ИДГКБ на май 2009 г. было зарегистрировано 444 больных из Москвы, Московской области и других городов РФ в возрасте от 1 мес до 18 лет, из них в Москве проживают 113 больных гемофилией А и 19 больных гемофилией В, в Московской области проживают 66 больных гемофилией А и 14 больных гемофилией В. В 2008 г. на наличие ингибитора было обследовано 109 детей, боль-

ных гемофилией А, ингибитор выявлен у 5 (4,6%) больных в возрасте от 1 года до 3 лет.

Можно рассчитать теоретическое количество больных гемофилией в России. Население России составляет 141 900 000 человек (данные Росстата 2008 г.). Мужское население России составляет примерно 50%, т.е. 70 950 000 человек. Исходя из известных частотных характеристик гемофилии (1 случай гемофилии А на 10 000 и 1 случай гемофилии В на 50 000 лиц мужского пола) в России должно быть 7095 больных гемофилией А и 1419 больных гемофилией В, т.е. всего 8514 больных гемофилией. Это теоретическое количество больных отличается от такового во всех имеющихся в стране регистрах.

Очевидно, что имеющиеся в России регистры не содержат информацию обо всех больных гемофилией, но их появление — значительный шаг в развитии данной проблемы.

Перспективой дальнейшего развития регистров является не только организация повсеместно действующей системы учета и регистрации больных, но и создание так называемого клинического регистра, содержащего сведения о лечении больного. При создании клинического регистра должны выполняться требования медицинской этики и существующего национального законодательства. Должно быть получено информированное согласие больного на включение его данных в регистр, а сам регистр должен быть защищен от несанкционированного доступа, так как в нем содержатся персонифицированные данные.

Если Россия пойдет по пути создания региональных регистров, то необходимо предусмотреть возможность слияния сведений в единую базу данных и организацию национального регистра наследственных коагулопатий.

ГЛАВА 2

Генетические основы гемофилии

НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕМОФИЛИИ

Гены, кодирующие FVIII и FIX, локализуются в дистальной части q-плеча X-хромосомы (рис. 1). Как видно на карте X-хромосомы, гены располагаются очень близко. Для FVIII это область, условно называемая Xq28, а для FIX — это участок Xq27.1–27.2. Таким образом, выработку факторов свертывания крови контролируют разные гены. Не исключено, что у одного человека могут быть затронуты оба гена, тогда он будет иметь обе формы гемофилии одновременно — так называемую конкомитированную гемофилию, часто сопровождающуюся нарушением цветового зрения. Такие случаи весьма редки, но тем не менее описаны.

Ген FVIII — один из самых крупных генов человека, состоит из 26 экзонов и 25 инtronов и имеет размер 186 000 пар нуклеотидов (п.н.). Ген FIX состоит из 8 экзонов и 7 инtronов и имеет размер 34 000 п.н. Вследствие большого размера существует большая вероятность спонтанного мутирования гена FVIII, что приводит к дефекту или полному отсутствию FVIII (гемофилия А). Таким образом, гемофилия А является генетически детерминированным заболеванием человека.

Поскольку гены FVIII и FIX расположены на X-хромосоме, а патологические факторы являются рецессивным

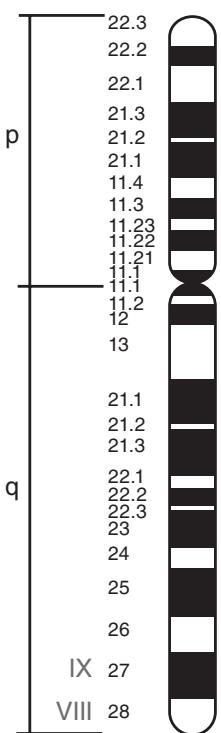


Рис. 1. Карта X-хромосомы

признаком, то и гемофилия А, и гемофилия В — рецессивные заболевания, сцепленные с полом. Таким образом, гемофилия передается по наследству, т.е. это наследственное заболевание. Однако образование мутаций в популяции — непрерывный процесс, и часть лиц мужского пола, больных гемофилией, имеют вновь мутировавший ген FVIII или FIX или получили вновь мутировавший ген от матери. У таких пациентов заболевание не прослеживается в генеалогическом дереве и является спорадическим. Известно, что спонтанное мутирование гена FVIII возникает примерно в 25% случаев, таким образом, количество спорадических случаев гемофилии А составляет 25–50% от всех случаев заболевания в популяции. Схема наследования половых хромосом в норме и при патологии показана на рис. 2.

У женщин имеются две половые хромосомы XX. У мужчин имеется хромосомный набор XY. В случаях рождения девочек одна X-хромосома наследуется от матери, а другая — от отца. В случаях рождения мальчиков Y-хромосома наследуется от отца, а одна из X-хромосом — от матери (см. рис. 2, а).

Мужчина, больной гемофилией, имеет одну аномальную X-хромосому и одну неповрежденную Y-хромосому.

Если мужчина, больной гемофилией, и здоровая женщина с двумя нормальными X-хромосомами заведут детей (см. рис. 2, б), то все их дочери будут носительницами (кондукторами) гемофилии потому, что они унаследовали одну аномальную X-хромосому от отца и одну здоровую X-хромосому от матери. Сыновья, унаследовав одну Y-хромосому от отца и здоровую X-хромосому от матери, будут здоровы и, соответственно, не передадут болезнь последующему поколению, потому что не являются носителями патологического признака. Таким образом, сыновья мужчины, больного гемофилией, будут со 100% вероятностью здоровыми, а дочери — со 100% вероятностью носительницами гемофилии. Женщины-носительницы, как правило, не имеют симптомов кровоточивости, хотя, по некоторым данным, активность FVIII у таких женщин может быть снижена до 30–25%.

Если женщина — носительница гемофилии, у которой одна X-хромосома здоровая, а другая аномальная, имеет детей от здорового мужа (см. рис. 2, в), то ее сыновья могут быть с равной долей вероятности здоровыми (50%) или больными (50%) гемофилией, а ее дочери также с равной долей вероятности здоровыми (50%) или носительницами (50%) гемофилии.

В очень редких случаях при браке женщины — носительницы гена гемофилии и мужчины, больного гемофилией (см. рис. 2, г), существует 25% вероятность рождения девочки, больной гемофилией.

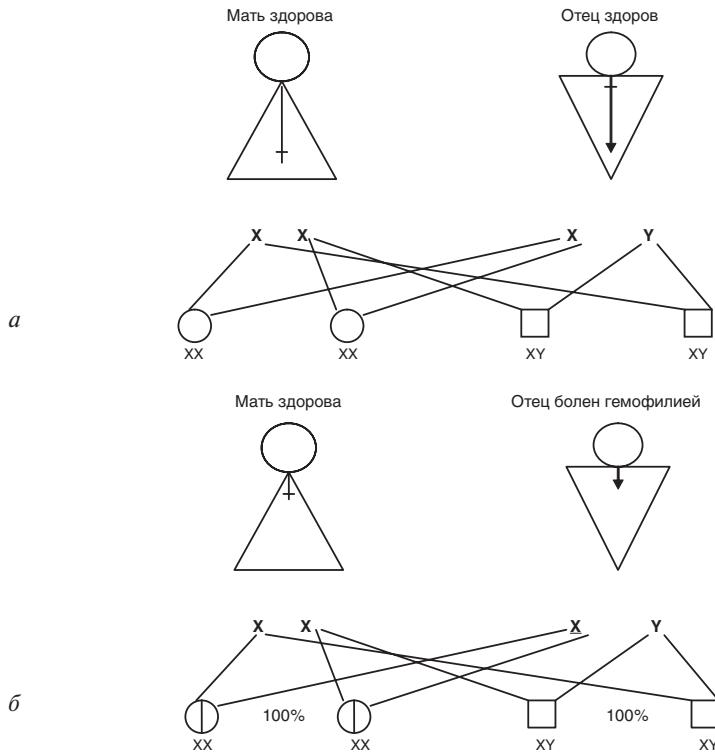


Рис. 2. Схема наследования половых хромосом: *a* — оба родителя здоровы; *б* — мать здорова, отец болен гемофилией

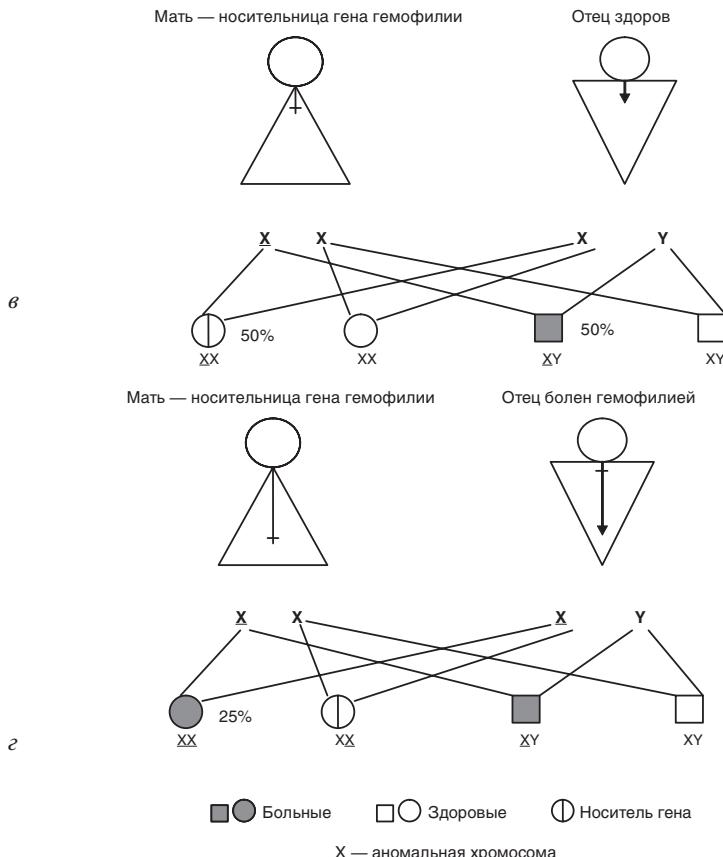


Рис. 2. Схема наследования половых хромосом: *в* — мать — носительница гена гемофилии, отец здоров; *г* — мать — носительница гена гемофилии, отец болен гемофилией

ВЫЯВЛЕНИЕ НОСИТЕЛЕЙ ГЕМОФИЛИИ

Для женщин — членов семьи, в которой есть случаи гемофилии, важно знать, являются ли они носителями заболевания. Для этого прежде всего нужно составить родословную, которая бы выявила родство потенциального носителя с членом (членами) семьи, страдающим (страдающими) гемофилией. Дочери больного гемофилией всегда являются носительницами, в таких случаях нет необходимости в проведении

какого-либо специального обследования. При изучении родословной можно установить генетическую вероятность (P) того, что данное лицо является носителем. Вероятность также можно рассчитать в виде соответствующего риска ($a : b$) носительства по формуле

$$a : b = \frac{P}{1 - P}.$$

Например, если вероятность того, что женщина является носительницей, равна 0,25, то соответствующая степень риска носительства будет:

$$a : b = \frac{0,25}{1 - 0,25} = 0,3, \text{ то есть } 1:3.$$

Семьи, в которых гемофилией страдает только один человек (так называемые спорадические или изолированные случаи), представляют особую проблему. Спорадический случай гемофилии может быть результатом:

- передачи гена гемофилии через асимптоматических женщин, у которых ген остался необнаруженным;
- новой мутации у матери, из-за чего она стала носительницей;
- новой мутации у больного гемофилией (то есть истинной мутации *de novo*).

В настоящее время 25–50% вновь диагностированных случаев гемофилии являются спорадическими. Для практических целей было принято, что в спорадических случаях вероятность носительства заболевания матерью равна 0,85 (Peake I. et al., 1993). Во многих случаях эти матери имеют мутацию *de novo*, поэтому у остальных членов семьи ген гемофилии обнаружить невозможно (Ljung R. et al., 1991). При вычислении вероятности носительства на основании данных родословной необходимо учитывать результаты определения активности FVIII или FIX в сыворотке крови.

У носительниц гемофилии А или В чаще всего коагуляционная активность FVIII (FVIII:C) или FIX (FIX:C) составляет приблизительно 50%, поскольку только одна из двух X-хромосом имеет здоровый ген, который может быть экспрессирован, а это происходит лишь в половине возможного числа клеток (вследствие так называемого феномена лайонизации*).

* Лайонизация — инактивация одной из X-хромосом в ходе индивидуального развития.

Значительные колебания активности FVIII или FIX как среди носительниц, так и среди здоровых женщин обычно не позволяют однозначно установить статус носительства на основании одних только лабораторных данных.

Более точный метод выявления носительства гемофилии — определение генотипа. Генетический диагноз гемофилии должен быть основан на прямой идентификации мутации в генах FVIII или FIX (прямой анализ гена).

На практике сейчас во многих странах при генетическом анализе гемофилии обычно используют сцепленные полиморфные маркеры (ПДРФ — полиморфизм длины рестрикционных фрагментов), чтобы проследить наследование гена гемофилии и родословной (непрямой анализ гена).

Использование прямого анализа гена (выявленной мутации с диагностической целью) ограничивается сейчас в основном семьями с гемофилией В. Большинство пораженных семей имеют свою собственную уникальную мутацию, ответственную за возникновение болезни (*Giannelli F. et al.*, 1993). В 4-м издании международной базы данных по гемофилии В содержатся сведения о 806 больных и выявленных у них точечных мутациях, коротких вставках и делециях. Это позволило описать в общей сложности 378 уникальных молекулярных повреждений. Таким образом, нельзя выявить какую-то единую мутацию гена. В каждой семье мутация должна быть охарактеризована индивидуально, для того чтобы использовать ее для выявления носителей и проведенияпренатальной диагностики гемофилии в данной семье.

Анализ мутации при гемофилии А более труден из-за большого размера и сложности конструкции гена. Белок FVIII состоит из 2332 аминокислот в единственной белковой цепи. Недавно методами сканирования гена в сочетании с секвенированием ДНК было открыто разнообразие мутаций и при гемофилии А (*Tuddenham E. et al.*, 1991). До недавнего времени оставалось загадкой, почему невозможно доказать наличие мутации почти у 50% больных с тяжелой гемофилией А, тогда как при легкой и среднетяжелой формах этой болезни мутацию обычно удавалось выявить, даже если для этого требовались детальные исследования.

Было показано, что у 40% больных с тяжелой формой гемофилии А, у которых прежде не удалось выявить какую-либо мутацию при скрининге или секвенировании, имеются инверсии гена FVIII (*Naylor J. et al.*, 1993; *Lakich D. et al.*, 1993). У пациентов выявляется одна из двух больших инверсий — с точкой разрыва в инtronе 22 или с точкой разры-

ва в какой-либо из двух копий гена FVIII. Инверсия с местом разрыва в более дистальной копии гена FVIII, по-видимому, является более часто встречающимся вариантом. Эти инверсии объясняют, почему у таких больных до сих пор не было найдено делеций и точечных мутаций и почему невозможна транскрипция интрана 22 и экзона 23.

Прямое выявление мутации при гемофилии А или В можно осуществить в большинстве случаев, даже если больной член семьи недоступен для анализа или имеется семья со спорадическим случаем. Важно помнить, что даже с помощью этих методов в спорадических случаях невозможно однозначно исключить носительство женщины, если у нее не выявлена мутация, поскольку всегда существует возможность мозаичизма (смесь нормальных и несущих мутацию клеток) в ее половых или соматических клетках, возможность, гораздо более вероятная, чем считалось ранее. У женщины с мутацией лишь в части половых клеток носительство не будет выявлено на основании исследования только клеток крови. В то же время, если у нее найдена мутация, она, без сомнения, является носительницей. Необходимо подтвердить, что охарактеризованная мутация вызывает гемофилию, поскольку описаны случаи нейтральных аминокислотных замен как в гене FVIII, так и в гене FIX, которые не вызывают патологических изменений. Если характерная для семьи мутация известна, то обычно нет необходимости проводить полное секвенирование поврежденного экзона, потому что мутация может быть доказана более простым способом.

Непрямой анализ гена с помощью изучения ПДРФ можно использовать для идентификации хромосомы (аллеля), которая несет мутантный ген. Изучение ПДРФ позволяет выявить встречающиеся в норме вариации нуклеотидной последовательности гена, которые никак не влияют на функцию гена, но которыми можно воспользоваться с диагностической целью. Различные рестрикционные ферменты расщепляют ДНК в специфических сайтах. Если вследствие естественной полиморфной вариации изменен сайт расщепления рестрикционного фермента, то фрагменты расщепления будут разной длины у разных индивидов, а также у двух X-хромосом одной и той же женщины. Это можно использовать для идентификации гена (аллеля), который несет мутацию.

Существуют значительные этнические различия в гетерозиготности по различным видам ПДРФ (частоте носителей, имеющих разные аллели ПДРФ в своих собственных X-хромосомах и, таким образом, информативных). Для того чтобы постановка диагноза была оптимально эффективной, необходимо знать, какие ферменты-рестриктазы следует использовать в данной популяции.

Для анализа сегрегации ПДРФ с целью выявления носителя и постановкипренатального диагноза гемофилии необходим забор образцов крови как от больного члена семьи, так и от нескольких других членов, что иногда бывает трудно осуществить. Семьи со спорадическими случаями заболевания создают особую проблему, потому что неизвестно, существовала ли болезнь в предшествующих поколениях. Во многих таких случаях генетический анализ позволяет выявить мутантный ген у члена семьи, унаследованный от здорового деда с материнской стороны, то есть мутацию *de novo*, которая произошла в двух последних поколениях, так что мутация в других ветвях семьи исключена. Применение прямого анализа гена, основанного на использовании охарактеризованной мутации, позволяет избежать связанных с непрямыми методами проблем, таких как неинформативные семьи, риск ошибочного диагноза при использовании внегенных ПДРФ и трудности, связанные с обследованием спорадических семей. Приблизительно в половине случаев тяжелой гемофилии А для характеристики мутации необходимы более сложные методы, чем те, которыми сейчас располагает большинство обычных лабораторий.

АНТЕНАТАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Современные технологии, включая применение ДНК-технологий, открыли новые возможности для планирования семьи. В семьях с гемофилией в анамнезе стало возможным точно определить женщин — носительниц гена гемофилии. Таким женщинам или женщинам, подозрительным на носительство гена гемофилии, можно провестипренатальную диагностику.

С помощью методов непрямого и прямого анализа генов в настоящее время в большинстве случаев возможно провести антенатальнуюдиагностику в I триместре беременности. Для анализа ДНК материал забирают с помощью биопсии хориона на 10–12-й неделе беременности или путем амниоцентеза после 15-й недели беременности. Преимущество этого метода — ранний диагноз. Важно предоставить будущим родителям информацию (по возможности до зачатия), оценить риск передачи мутации ребенку, картировать мутацию или тип ПДРФ и выбрать оптимальный метод диагностики.

Если ДНК-маркеры недоступны, у плода берут пробы крови для прямого определения активности FVIII. Из-за физиологически низкой активности FIX у плода и новорожденного эта техника менее примени-

ма для диагностики гемофилии В. На 19–20-й неделе беременности под контролем ультразвукового сканирования забирают кровь посредством пункции пупочной вены и определяют концентрацию FVIII/FIX в плазме крови (FVIII:C/FIX:C) или антиген FVIII/FIX (FVIII:Ag/FIX:Ag). Когда определяют FVIII:Ag/FIX:Ag, то должны быть картированы генетические варианты FVIII/FIX (*Ljung R. et al.*, 1982). Очевидным недостатком постановки диагноза на основании исследования фетальной крови является то, что он не может быть поставлен ранее II триместра беременности; также существует риск ментальных и психосоматических последствий в сочетании с риском позднего прерывания беременности.

Общая частота осложнений у матери и плода при амниоцентезе составляет 0,5–1%, а при пункции ворсин хориона — 1–2%. Забор крови у плода заканчивается потерей плода в 1–6% случаев.

ДОИМПЛАНТАЦИОННАЯ ДИАГНОСТИКА

При экстракорпоральном оплодотворении (ЭКО) возможно безопасное для дальнейшего развития плода изъятие одной клетки из каждого 8-клеточного эмбриона для диагностики пола плода и наличия патологических генов, в том числе и генов гемофилии. В матку затем помещают неповрежденный эмбрион.

ГЛАВА 3

Система свертывания крови и лабораторная диагностика гемофилии

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ СИСТЕМЫ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ

Кровь — оригинальная ткань организма человека, относится к соединительной ткани и всегда находится в жидком (агрегатном) состоянии для выполнения своих функций. Имеющаяся в организме человека система свертывания крови (гемостаза) сохраняет текучесть крови в нормальных условиях, но свертывает ее при повреждении сосуда, ограничивая тем самым избыточную кровопотерю, опасную для организма. Механизмы гемостаза могут рассматриваться как целесообразная биологическая защитная реакция в ответ на повреждение стенки сосуда.

В обеспечении нормального гемостаза участвуют:

- кровеносные сосуды (эндотелиальные клетки и сократительная функция сосудов);
- первичный гемостаз, приводящий к образованию тромбоцитарной пробки, рыхлой, но способной быстро закрыть место повреждения сосуда;
- коагуляция, образующая фибриновую сеть, которая стабилизирует тромбоцитарную пробку;
- антикоагулянты — ингибиторы свертывания, предотвращающие чрезмерный рост сгустка;

- фибринолиз, растворяющий фибриновый сгусток и способствующий восстановлению просвета (реканализации) сосуда.

Сокращение кровеносных сосудов (вазоконстрикция) ограничивает кровопотерю и является сложным процессом, происходящим с участием многих биологически активных веществ, в том числе серотонина и тромбоксана А₂.

Первичный гемостаз — процесс, приводящий уже через несколько минут после повреждения сосуда к образованию рыхлой тромбоцитарной пробки, временно останавливающей кровотечение. Тромбоцитарная пробка хрупкая и быстро разрушается током крови. В первичном гемостазе выделяют три этапа: адгезию, секрецию и агрегацию тромбоцитов.

Адгезия. В норме циркулирующие в кровотоке тромбоциты не прилипают к стенке сосуда и имеют форму, близкую к шаровидной. Для осуществления адгезии тромбоцитов необходимо выполнение ряда условий. В организме имеется две разновидности фактора Виллебранда (vWF): циркулирующая в плазме и находящаяся в субэндотелии. vWF, циркулирующий в плазме, связывается с тромбоцитами напрямую. vWF, расположенный в субэндотелии, сначала должен активироваться коллагеном, а затем уже связаться с рецептором на поверхности тромбоцита с помощью гликопротеина (GP) Ib. vWF — это многоцепочечный белок, который состоит из сотен одинаковых субъединиц, причем каждая субъединица имеет участки для связывания с коллагеном, гепарином, FVIII и тромбоцитами. Адгезированные тромбоциты образуют псевдоподии и изменяют форму — становятся более плоскими (рис. 3).

Активация тромбоцитов.

Тромбоциты циркулируют в крови в неактивном состоянии. Они становятся активными в результате появления в крови химических агентов, в том числе некоторых лекарственных средств, или нарушения целостности сосудистой стенки. Эти внешние воздействия (стимулы) на тромбоцит активируют

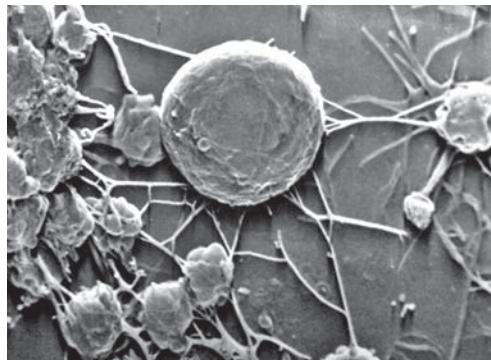


Рис. 3. Активированные тромбоциты с псевдоподиями в процессе адгезии к стеклу (в центре малый лимфоцит). Сканирующая электронная микроскопия. Увеличение ×5000

специфические тромбоцитарные рецепторы и включают сложную систему внутриклеточной передачи сигналов активации. vWF активирует тромбоциты после связывания с рецептором GPIb. Существуют и другие физиологические активаторы тромбоцитов, причем их принято разделять на сильные (тромбин, коллаген) и слабые (адреналин, аденозин динуклеотид фосфат — АДФ) (табл. 1). Между сильными и слабыми активаторами имеется существенная разница: сильные активаторы в конечном итоге приводят к необратимой активации и реакции освобождения (высвобождения) тромбоцита (РОТ), а слабые — к обратимой активации тромбоцитов и только к изменению формы тромбоцита.

Таблица 1. Некоторые физиологические активаторы тромбоцитов и их значение

| Сила активатора | Название активатора | Обратимость активации | Эффект активации |
|-----------------|---------------------|-----------------------|--|
| Сильные | Коллаген | Необратимая активация | РОТ |
| | Тромбин | | |
| Слабые | Адреналин | Обратимая активация | Приводит только к изменению формы тромбоцита |
| | АДФ | | |

Секреция тромбоцитов. Активированные тромбоциты высвобождают содержимое своих гранул, которые бывают двух типов: α -гранулы и плотные гранулы. В α -гранулах тромбоцитов содержатся такие факторы, как фибриноген, vWF, плазминоген, α -2-антiplазмин, ингибитор активатора плазминогена-1 (PAI-1), FV, фактор 4 тромбоцитов, тромбоцитарный фактор роста, факторы адгезии, связанные с мемраной (P-селектин и др.). В плотных гранулах тромбоцитов содержатся вещества, способные активировать тромбоциты: АДФ, АТФ, серотонин, ионы Ca^{2+} (рис. 4).

В дальнейшем происходит переход фосфолипидов из внутреннего листка бислоя мембраны тромбоцита во внешний — так называемая flip-flop (подъем—провал) реакция. В результате этой реакции тромбоцит становится готовым к процессу гемостаза, прежде всего благодаря доступности на поверхности гликопротеина GPIb/IIIa, являющегося фактически тромбоцитарным рецептором. В дальнейшем именно GPIb/IIIa усиливает адгезию тромбоцитов к субэндотелию и необходим для агрегации тромбоцитов.

Агрегация тромбоцитов является последней фазой первичного гемостаза. В этой фазе тромбоциты склеиваются между собой и образуют тромбоцитарную пробку. Как было сказано выше, процессу агрегации тромбоцитов обязательно должны предшествовать их активация и

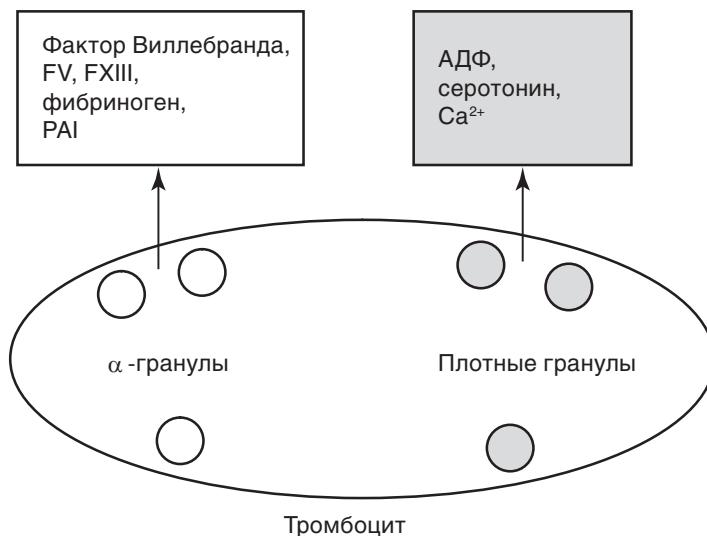


Рис. 4. Схематическое изображение РОТ

выдвижение на поверхность тромбоцита GPIb/IIIa. Для агрегирования тромбоциты связываются между собой с помощью фибриногена или vWF с помощью мостиков между рецепторами GPIb/IIIa на различных тромбоцитах. Схематически этот процесс изображен на рис. 5.

Процессы агрегации тромбоцитов могут усиливаться с помощью АДФ и тромбоксана A₂, вырабатываемых самими активированными тромбоцитами. Происходит усиление агрегации с помощью вовлечения других тромбоцитов. Процессы агрегации могут и ингибироваться, например, простациклином, выделяемым неповрежденными эндотелиальными клетками. Тромбоцитарная пробка может только временно остановить кровотечение, так как она недостаточно прочная. Для придания прочности тромбоцитарной пробке необходим фибриновый каркас. При появлении такого каркаса пробка становится окончательной. Фибриновый каркас продуцируется системой свертывания.

Свертывание (коагуляция). Конечным этапом свертывания крови является образование фибринового каркаса, который стабилизирует рыхлую тромбоцитарную пробку и превращает ее в плотный сгусток. Такой сгусток может существовать длительно и не вымывается током крови. Система свертывания состоит из факторов свертывания крови (табл. 2). Согласно международным правилам, факторам свертывания крови присвоены названия и соответствующие обозначения римскими цифрами.

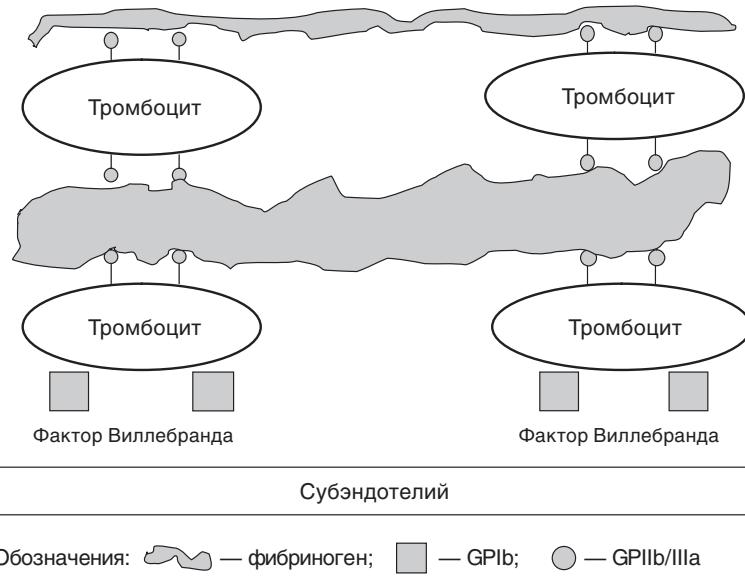


Рис. 5. Схематическое изображение процесса агрегации тромбоцитов

Таблица 2. Номенклатура факторов свертывания крови

| Цифровое обозначение фактора | Принятое наименование | Период полужизни в плазме после внутривенного введения | Минимальная концентрация или активность, необходимая для остановки кровотечения, % |
|------------------------------|------------------------------------|--|--|
| I | Фибриноген | 4–5 сут | 0,8 г/л |
| II | Протромбин | 2–4 сут | 30 |
| III | Тканевый тромбопластин | 2–4 сут | 30 |
| V | Ас-глобулин, проакцептерин | 24–34 ч | 10–15 |
| VII | Проконвертин | 2–4 ч | 5–10 |
| VIII:C | Антигемофильтный глобулин | 12–18 ч | 20–35 |
| IX | Фактор Кристмаса | 20–30 ч | 20–30 |
| X | Фактор Стюарта–Прауэра | 48–56 ч | 10–20 |
| XI | РТА-фактор | 60 ч | ? |
| XII | Фактор Хагемана, контактный фактор | 50–70 ч | – |
| XIII | Фибринстабилизирующий фактор | Около 4–5 сут | 3–5 |

Большинство факторов свертывания крови являются белками, циркулирующими в плазме в небольшом количестве в виде неактивных проэнзимов. Когда запускается свертывание, факторы начинают акти-

вировать друг друга, причем это происходит в определенной последовательности. Принципиально важным моментом является осуществление некоторых процессов коагуляции непосредственно на поверхности активированных тромбоцитов, из которых к этому времени уже составлена тромбоцитарная пробка. В этом локальном процессе участвуют только так называемые витамин К-зависимые факторы свертывания крови, которые притягиваются отрицательным поверхностным зарядом активированных тромбоцитов. К витамин К- зависимым факторам относят факторы II, VII, IX и X. Происходит местное накопление факторов свертывания крови, которое затем превышает ингибирующую активность антикоагулянтных систем. Такой механизм можно рассматривать как приближение процессов свертывания к месту повреждения стенки сосуда. Важным представляется вопрос, как долго будет работать система свертывания крови. После запуска системы свертывания крови продукция фибрина контролируется положительной обратной связью. Выключение продукции фибрина осуществляется системой антикоагуляции.

Активация свертывания. При повреждении кровеносных сосудов становится возможным контакт крови и расположенного в субэндотелии тканевого фактора (TF — tissue factor). TF — липопротеин, содержащийся во всех тканях организма. Особенно богаты им головной мозг, легкие и плацента. Пусковым моментом для начала свертывания крови является связывание FVII и TF, в результате чего FVII активируется. Активированный фактор на схемах обозначается как FVIIa. Возникший комплекс TF-FVIIa быстро активирует факторы свертывания FIX и FX, а сам инактивируется ингибитором пути тканевого фактора (TFPI — tissue factor pathway inhibitor). Путь активации свертывания крови через FVII получил название внешнего пути свертывания (рис. 6).

Имеется еще один путь активации свертывания крови — альтернативный, который получил название внутреннего пути. Деление ферментативных каскадов на внешний и внутренний искусственно, так как не существует *in vivo*, однако значительно облегчает интерпретацию лабораторных тестов *ex vivo*. Внутренний путь инициируется контактом крови с чужеродной поверхностью, например коллагеном. Начальным звеном этого процесса является активация прекалликреина в калликреин. В дальнейшем коллаген активирует FXII, который является первым действующим фактором при свертывании крови по внутреннему пути. FXII активирует FXI, который в свою очередь активирует FIX. Последующие процессы протекают одинаково во внутреннем и внешнем пути (рис. 7).

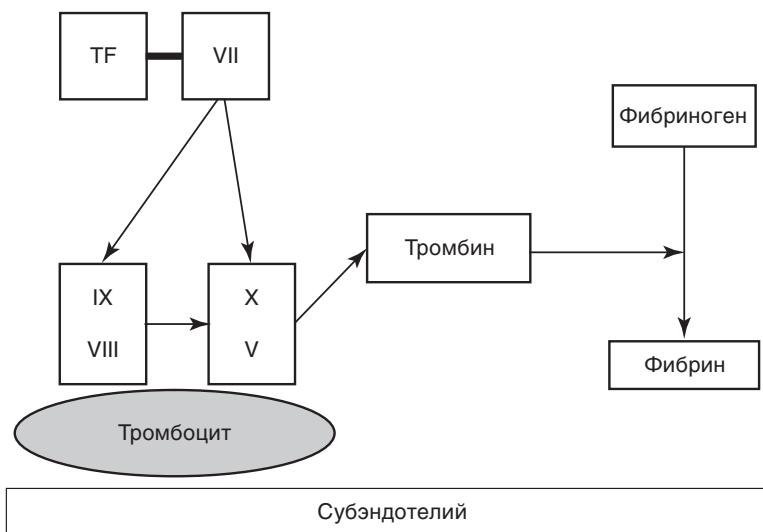


Рис. 6. Внешний путь свертывания крови

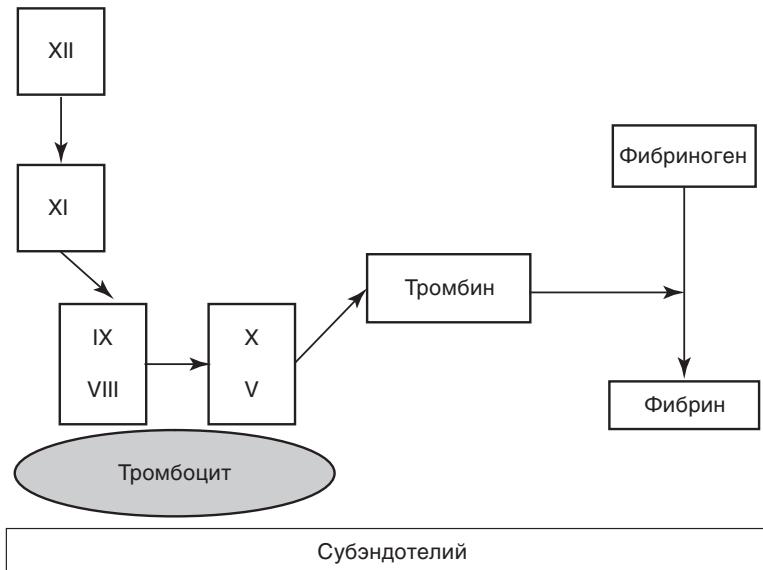


Рис. 7. Внутренний путь свертывания крови

Механизмы усиления сигнала и распространения свертывания крови.

После включения пускового сигнала механизмы свертывания поддерживаются с помощью положительной обратной связи. Процесс свертывания крови продолжается на поверхности активированных тромбоцитов. FIX активирует FX, который переводит FII (протромбин) в его активную форму — тромбин. Последний активирует FXI, который активирует FIX. Тромбин, кроме того, активирует FVIII и FV, являющиеся ускорителями (акселераторами) FIX и FX. Комплекс, состоящий из FIX, FVIII и ионов Ca^{2+} , получил название теназного комплекса. Комплекс, состоящий из FX, FV и ионов Ca^{2+} , часто называют протромбиназным комплексом. Поддерживающий механизм продолжает продукцию тромбина, который стимулирует еще большее образование фибрина.

Значение витамин К-зависимых факторов свертывания крови.

Некоторые факторы свертывания крови (II, VII, IX и X) и ингибиторы (протеины C и S) осуществляют свою функцию только в присутствии витамина K. Витамин K является необходимым кофактором для синтеза области с γ -глютамильными остатками, которая способствует присоединению этих факторов свертывания крови к фосфолипидной поверхности тромбоцитов с помощью ионов Ca^{2+} . Локализация факторов IX, X, II на отрицательно заряженной поверхности активированных тромбоцитов и их взаимодействие способствует локализации процесса свертывания в месте повреждения сосуда.

Тромбин является важным фактором гемостаза и осуществляет многочисленные функции. Среди этих функций: участие в продукции фибрина; активация факторов XI, VIII, V; отщепление FVIII от белка-носителя — vWF; активация тромбоцитов, антитромботическая функция. Последняя функция осуществляется тромбином на поверхности эндотелиальных клеток, где он связывается с тромбомодулином и превращается в антикоагулянтный фактор, который активирует инибитор свертывания протеин C, превращая его в активированный протеин C (APC).

Фибрин. Тромбин активирует фибриноген, превращая его в фибрин. Это происходит после отщепления пептидов, содержащих полимеризацию. В результате этого формируется растворимый фибрин в виде длинной волокнистой структуры. Тромбин активирует FXIII, который образует прочные ковалентные связи между волокнами фибринова. На каждую субъединицу фибриногена приходится шесть перекрестных мостиков, и таким образом создается прочная сеть нерастворимого фибринова. На этом процесс коагуляции заканчивается.

Антикоагулянтные системы. Антикоагулянтная система ограничивает процессы свертывания только областью повреждения стенки сосуда

и предотвращает тромбообразование. Ингибиторы свертывания активируются на поверхности эндотелиальных клеток. Имеется несколько природных антикоагулянтов.

Антитромбин — белок, который синтезируется в печени и циркулирует в плазме. Антитромбин — наиболее важный ингибитор FXa и тромбина. Кроме того, он способен подавлять активные формы других факторов внутреннего пути свертывания — XII, XI, IX. При наследственном дефиците антитромбина существует повышенный риск венозной тромбоэмболии. Протеины C и S — белки, синтезируемые в печени и циркулирующие в плазме. Протеин C циркулирует в плазме как неактивный проэнзим и становится активным при действии тромбина, связанного с тромбомодулином, на поверхности эндотелиальных клеток. Активированный протеин C ингибирует FVIII и FV путем протеолитического расщепления. Протеин S является кофактором APC при инактивации FVIII. Лица с врожденным дефицитом протеина C или S имеют высокий риск развития венозной тромбоэмболии. Ингибитор внешнего пути (EPI) или ингибитор TF синтезируется эндотелиальными клетками и мегакариоцитами. Может находиться в тромбоцитах или циркулировать в плазме. EPI образует комплекс с FXa, который ингибирует комплекс TF—FVIIa.

Фибринолиз. С помощью фибринолиза происходит расщепление фибринна на так называемые продукты деградации фибринна (ПДФ). Система фибринолиза имеет важное биологическое значение, так как способна очистить сосуды от тромбов. Имеются как активаторы фибринолиза, так и ингибиторы. Активаторы фибринолиза, в том числе и самый мощный из них — тканевой активатор плазминогена (ТАП), превращают плазминоген в активную форму — плазмин, в свою очередь способный разрушить фибрин с образованием ПДФ (рис. 8). Ингибиторы фибринолиза подавляют эту реакцию, но они неэффективны до тех пор, пока существует поверхность, покрытая фибрином. Для

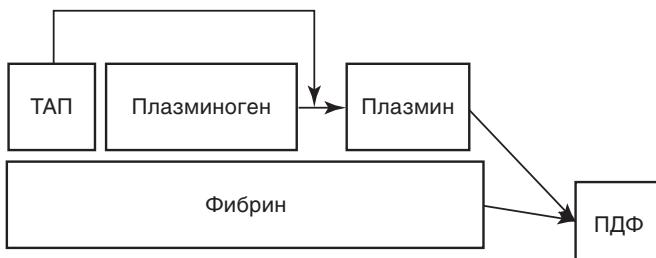


Рис. 8. Схематическое изображение процесса фибринолиза

физиологической активации системы фибринолиза обязательно требуется наличие фибриновой сети. Кроме ТАП, среди сильных активаторов фибринолиза имеется и урокиназа, которая синтезируется в почках и действует непосредственно в почечных канальцах.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСТАЗА

Первичный гемостаз может быть оценен с помощью таких несложных скрининговых тестов, как время кровотечения (ВК) и количество тромбоцитов, которые можно определить в большинстве лабораторий, а также с помощью специальных тестов [фактор Виллебранда (vWF) и функция тромбоцитов], которые можно выполнить только в специализированных лабораториях.

Процесс коагуляции можно оценить с помощью определения активированного частичного тромболастинового времени (АЧТВ), протромбинового времени (ПВ) и исследования протромбинового комплекса (ПК), применяемого в некоторых странах. Эти параметры дают суммарную оценку некоторых факторов свертывания крови. Факторы могут быть определены и раздельно, но это можно выполнить только в специализированных лабораториях.

Не разработаны скрининговые тесты для выявления нарушений антикоагулянтной системы. Ингибиторы свертывания могут быть определены только с помощью специальных тестов.

Оценку состояния фибринолитической системы можно провести только с помощью специальных исследований с определением в плазме энзимов, активаторов и ингибиторов фибринолиза.

СКРИНИНГОВЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСУДИСТОГО И ТРОМБОЦИТАРНОГО КОМПОНЕНТОВ ГЕМОСТАЗА

ВК — это время от момента нанесения раны кожи до момента остановки вытекания крови. ВК характеризует функциональную активность тромбоцитов и взаимодействие тромбоцитов с сосудистой стенкой. ВК удлиняется при тромбоцитопении, тромбоцитопатиях, болезни Виллебранда, нарушениях проагрегантных свойств сосудистой стенки. Недостатки метода — невозможность его стандартизации, низкая чувствительность и низкая специфичность. Метод является наиболее

доступным и дешевым скрининговым методом. После постановки диагноза нет необходимости повторять это исследование. Удлинение ВК может служить основанием для углубленного исследования гемостаза у больного.

Методика определения ВК. Уколочная проба по Дуке: после укола кончика пальца или мочки уха иглой на глубину 3–4 мм самостоятельно выступившую из раны кровь снимают кружком из фильтровальной бумаги, поворачивая его каждые 30 с. В норме диаметр капель крови на фильтровальной бумаге небольшой, их размер начинает уменьшаться через 1–1,5 мин после прокола, кровотечение полностью останавливается через 2,5–4 мин.

Одним из способов определения ВК является модифицированный метод Айви: после наложения манжетки на верхнюю часть плеча и создания в ней давления 40 мм рт.ст. делается разрез на коже сгибательной поверхности предплечья (1 × 9 мм) с помощью одноразового скарификатора. При определении ВК по этой методике норма составляет 3–8,5 мин. ВК стандартизовано для количества тромбоцитов более $100,0 \times 10^9/\text{л}$. Более низкое количество тромбоцитов приводит к удлинению ВК.

Определить количество тромбоцитов можно с помощью подсчета в мазке периферической крови, в камере Горяева, в автоматических анализаторах клеток крови. В норме количество тромбоцитов составляет $100,0–450,0 \times 10^9/\text{л}$.

Методики подсчета количества тромбоцитов. В мазке периферической крови подсчитывают количество тромбоцитов по отношению к 1000 эритроцитов. Зная абсолютное количество эритроцитов в 1 мкл крови, вычисляют количество тромбоцитов в 1 мкл крови. Подсчет проводят под иммерсионной системой микроскопа с использованием сетчатого окуляра или вкладного окошка.

Для подсчета тромбоцитов в камере Горяева кровь разводят 5–7% раствором трилона В для предотвращения свертывания крови и агглютинации тромбоцитов, заполняют камеру и подсчитывают тромбоциты по обычному правилу для подсчета клеток в камере Горяева.

В настоящее время широкое распространение получил метод определения количества тромбоцитов с помощью автоматических гематологических анализаторов. Использование некоторых анализаторов позволяет определить не только количество тромбоцитов, но и средний объем тромбоцита и построить график распределения тромбоцитов по объему. Этот метод определения количества тромбоцитов считается наиболее точным.

СКРИНИНГОВЫЕ ТЕСТЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПЛАЗМЕННОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА

Время свертывания крови (ВС) дает общее представление о коагуляции. ВС — это время от момента взятия крови до появления сгустка. ВС косвенно свидетельствует о дефиците некоторых факторов свертывания крови. Методы определения ВС просты и доступны, но обладают низкой чувствительностью и специфичностью. После постановки диагноза нет необходимости повторять этот скрининговый тест. У здоровых людей ВС составляет 5–8 мин.

Методики определения ВС. Наиболее простым и удобным является метод Моравица: на часовое стекло наносят каплю крови диаметром 4–6 мм, взятой из пальца или мочки уха. Тонким запаянным концом стеклянной пастеровской пипетки проводят каждые 30 с по поверхности капли. ВС определяют в момент появления первых фибриновых нитей, тянущихся за капилляром.

ВС крови можно быстро оценить с помощью пробы по Ли–Уайту. Эта пробы является ориентировочным тестом, отражающим только выраженные нарушения в системе свертывания, однако она может быть применена в качестве теста 1-го уровня из-за простоты выполнения. По 1 мл венозной крови помещают в две пробирки с коническим дном, одну из которых оставляют в вертикальном положении, а другую плавно покачивают, достигая угла 45°. После того как кровь в покачиваемой пробирке свернется, начинают покачивать другую пробирку, стоявшую вертикально. Время, в течение которого кровь свернулась в первой пробирке, является началом свертывания и составляет 4,5–5 мин, а ВС во второй пробирке — окончанием свертывания и составляет 6–8 мин.

С помощью АЧТВ определяют суммарное содержание всех факторов внутреннего пути свертывания — от активации FXII до образования растворимого фибрина (рис. 9). Естественно, что FVII и FXIII не входят в число суммарно определяемых факторов с помощью АЧТВ. Дефицит одного или нескольких факторов внутреннего пути приводит к удлинению АЧТВ, которое однозначно указывает на тенденцию к кровоточивости. При гемофилии АЧТВ удлиняется. АЧТВ может удлиняться при наличии волчаночного антикоагулянта, обуславливающего повышенное тромбообразование. АЧТВ удлиняется при лечении гепарином и варфарином. При тяжелых формах болезни Виллебранда АЧТВ может быть удлинено в связи с низким содержанием FVIII в плазме. АЧТВ не

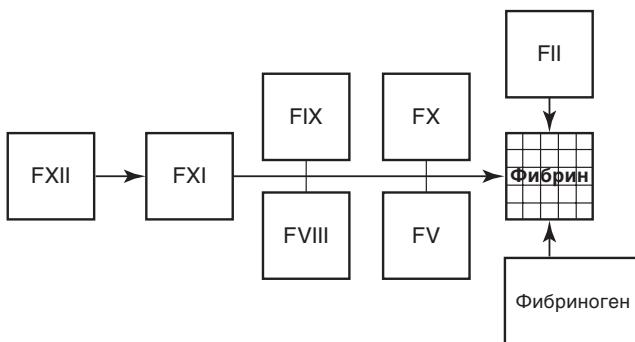


Рис. 9. Факторы, дефицит которых приводит к удлинению АЧТВ

удлиняется при болезнях, связанных с нарушением первичного звена гемостаза.

Методика определения АЧТВ. Для проведения пробы используют активирующий агент (измельченный оксид кремния или каолин) — заменитель фосфолипидов мембранные тромбоцита, кальций и цитратную плазму больного или нормальную плазму. После добавления активирующего агента к плазме открывается активный сериновый центр FXII, что приводит к последующей активации факторов свертывания крови внутреннего и общего путей. Активатор заменяет фосфолипид тромбоцитарной мембрани, который связывает активированные факторы IX, X, V и II для ускорения образования сгустка в присутствии добавленного кальция. Окончание свертывания регистрируют в секундах. Величина АЧТВ в норме составляет 25–38 с. При дефиците факторов ПК, ВМК, факторов XII, XI, IX и VIII, а также X, V, II и I АЧТВ удлиняется.

ПВ — тест, позволяющий оценить FVII (внешний путь коагуляции) и факторы общего пути свертывания — факторы X, V, II и I. Техника выполнения: в плазму пациента добавляют TF и кальций. TF активирует FVII, который в свою очередь активирует факторы общего пути свертывания (факторы X, V, II и ионы Ca^{2+}), что приводит к образованию тромбина. Последний трансформирует фибриноген в фибрин. На ПВ не влияет дефицит факторов внутреннего пути свертывания крови. В норме ПВ составляет 10–14 с. ПВ увеличено у лиц с наследственным дефицитом факторов VII, X, V, II и I или приобретенным комбинированным дефицитом факторов (дефицит витамина K или пероральное применение антикоагулянтов).

ПВ может быть пересчитано в **международное нормализованное отношение** (МНО). В последнее время все чаще переходят на применение МНО. Это дает возможность сравнить результаты, полученные в лабораториях, использующих различные тест-системы. МНО рассчитывают следующим образом: $MNO = PO^{MIC} / PO_{normal}$, где ПО (протромбиновое отношение) = ПВ больного (с) / ПВ стандартной плазмы здоровых людей (с), МИЧ — международный индекс чувствительности, соотносящий активность TF у животных со стандартом TF у человека. У здоровых людей МНО составляет около 1,0. Величину МНО можно использовать для контроля действия антикоагулянтов, вводимых перорально (варфарин). У больных, получающих полные дозы варфарина, МНО должно составлять от 2 до 3 в зависимости от показаний. Использование МНО рекомендовано ВОЗ для достижения более точного контроля при лечении антикоагулянтами, а также для обеспечения сравнимости данных различных лабораторий.

Недавно появились портативные приборы для определения МНО в домашних условиях, что важно для контроля длительного приема антикоагулянтов (например, варфарина).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПЛАЗМЕННОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА

Клоттинговые методы

В диагностике свертывающей системы крови это самые широко используемые в настоящее время методы. Клоттинговые методы основаны на детекции сгустка по боковому светорассеянию при длине волны 660 нм. Регистрируется время образования фибринового сгустка. В зависимости от наличия в реакционной пробе тех или иных активаторов или ингибиторов, вносимых при проведении исследования, можно оценивать активность отдельных звеньев гемостаза. Клоттинговые методы позволяют выполнить протромбиновый тест (ПО, протромбиновый тест по Квику, МНО), определить концентрацию фибриногена, АЧТВ, тромбиновое время (ТВ), активность антитромбина III, FVIII и FIX, волчаночного антикоагулянта и др. Производство различными фирмами коагулометров и выпуск к ним наборов реагентов и контрольных материалов сделали клоттинговые исследования распространенными, быстрыми, точными, воспроизводимыми и достаточно информативными для клиники.

Метод с хромогенным субстратом

Поскольку некоторые факторы свертывающей и противосвертывающей систем гемостаза являются ферментами, существует принципиальная возможность оценить их по ферментативной активности. Для этого нужно к конкретному фактору подобрать такой субстрат, чтобы в результате ферментативной реакции образовалось вещество, хорошо поглощающее свет в видимой области спектра. При проведении колориметрических измерений обычно применяют длину волны 405 нм. По скорости образования этого вещества можно судить о ферментативной активности фактора. На этом принципе основаны методы определения активности антитромбина III, FVIII и FIX, определение плазминогена и а₂-антiplазмина и др. Для этого метода разработаны специальные наборы с хромогенными субстратами с указанием методики определения. Хромогенные субстраты представляют собой синтетические олигопептиды, как правило, три- или тетрапептиды, имитирующие фрагмент естественного субстрата, к которому амидной связью присоединен хромофор (р-нитроанилин, рNA). В связанной с белком форме рNA бесцветен, при расщеплении под действием фермента он высвобождается, давая желтое окрашивание, которое можно наблюдать при помощи спектрофотометра (максимум световой абсорбции при длине волны 405 нм). В оптимальных тест-системах степень увеличения световой абсорбции прямо пропорциональна активности фермента, действующего на субстрат, что удобно для вычислений.

Турбидиметрический метод

В турбидиметрическом анализе используется явление рассеяния света твердыми частицами, находящимися во взвешенном состоянии. Обычно применяют источники света в двух диапазонах с длиной волн 575 и 800 нм. Метод, в котором используется интенсивность прошедшего света, называется турбидиметрией, а метод с измерением под углом в 90° — нефелометрией. При турбидиметрических измерениях величина, называемая мутностью, соответствует оптической плотности.

Определение FVIII с использованием хромогенного субстрата

Определение FVIII основано на том, что количество образующегося FXa при активации плазменного гемостаза пропорционально содержанию FVIII в исследуемой пробе (рис. 10). Фактически данный тест характеризует функциональную активность FVIII, так как реакция про-

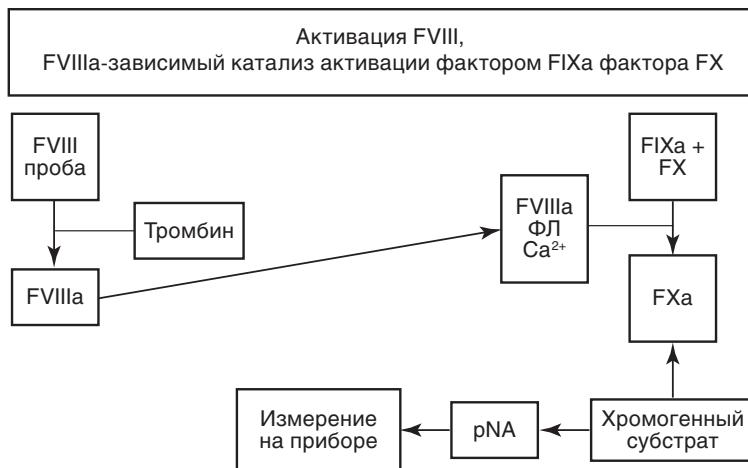


Рис. 10. Принцип определения активности FVIII с использованием хромогенного субстрата

исходит в условиях, близких к физиологическим, с наличием кофакторов и ионов Ca^{2+} .

Тест можно выполнять как на специальных приборах для исследования гемостаза, так и на обычных приборах, основанных на фотометрическом принципе. Исследование с хромогенными субстратами позволяет измерять не только снижение активности, но и ее повышение, что важно для диагностики тромбозов.

В настоящее время методы определения FVIII, как коагуляционные (заменные), так и с хромогенными субстратами, не являются стандартизованными. Одна технология позволяет выявить патологию, а другая нет. Сейчас проводится работа по стандартизации методов. До получения результатов стандартизации рекомендуется использовать метод с хромогенными субстратами только как ориентировочный тест, для оценки активности FVIII после введения препаратов, а не на нужды первичной диагностики.

Анализ конкретного фактора свертывания крови

Функциональную активность факторов свертывания крови определяют в клинических лабораториях с помощью модифицированных методов АЧТВ и ПВ. Модификация включает добавление к реакционной смеси плазмы с известным дефицитом интересующего фактора свертывания крови. Эта плазма называется субстратом и содержит

нормальное количество всех факторов свертывания крови за исключением одного, содержание которого нужно измерить. Корrigирующий эффект плазмы больного на пролонгированное время плазмы-субстрата сравнивают с корrigирующими эффектом известной концентрации исследуемого фактора в нормальной плазме (например, FVIII — 100, 75, 50, 25, 10, 5 и 1%). Результаты выражают в процентах от активности стандартной нормальной плазмы; 1 мл смешанной нормальной плазмы равен 100% активности, или 1 ЕД/мл.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТОВ И АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ГЕМОФИЛИИ

Даже при наличии ярких клинических проявлений диагноз любого геморрагического заболевания должен быть подтвержден с помощью лабораторных тестов. Выполнение всех известных лабораторных тестов у больного не оправдано и экономически нецелесообразно. Поэтому для диагностики геморрагических заболеваний, в том числе и гемофилии, разработаны алгоритмы. Ниже представлен алгоритм диагностики гемофилии, предусматривающий три уровня диагностики.

1-й уровень. Тесты 1-го уровня проводят для диагностики любого геморрагического заболевания, в том числе и гемофилии. К ним относятся АЧТВ, ПВ, ТВ, ВК, определение концентрации фибриногена.

2-й уровень. Тесты 2-го уровня выполняют:

- при удлинении АЧТВ, выявленном на 1-м уровне обследования;
- отсутствии изменений лабораторных тестов 1-го уровня на фоне наличия положительных анамнестических сведений и (или) клинических проявлений геморрагического синдрома.

К тестам 2-го уровня относят определение активности факторов VIII, IX, XI и XII (клотtingовым методом), определение ристоцетин-кофакторной активности vWF.

3-й уровень. Тесты 3-го уровня выполняют при снижении активности FVIII или FIX, выявленной на 2-м уровне. К тестам 3-го уровня относят:

- качественный тест на ингибитор (тест смешивания);
- при положительном качественном teste на ингибитор проводится количественное определение ингибитора (метод Бетезда).

При оценке результатов лабораторных тестов следует помнить, что у детей первых 6 мес жизни активность FIX ниже, чем у более старших

детей. Чтобы избежать диагностических ошибок, рекомендуется повторно определить активность FIX после 6–12 мес жизни.

Врачи общей практики могут использовать в своей работе ограниченное количество лабораторных тестов, а их трактовку проводить в соответствии с данными, приведенными в табл. 3. Как правило, этого бывает вполне достаточно для того, чтобы заподозрить гемофилию и направить больного к гематологу.

Таблица 3. Оценка основных лабораторных показателей для диагностики гемофилии

| Тест | Показатель при гемофилии |
|------------------------|--|
| Количество тромбоцитов | Норма |
| ВК | Норма |
| ПВ | Норма |
| АЧТВ | Удлинено |
| ПВ (МНО) | Норма |
| Активность FVIII | Снижена при гемофилии А. Норма при гемофилии В |
| Активность FIX | Снижена при гемофилии В. Норма при гемофилии А |

Пробы на определение ингибиторов

Пробы на определение ингибиторов к факторам свертывания крови бывают качественными и количественными. Ингибитор может быть определен по отношению к отдельным факторам свертывания крови, например факторам V, VIII, IX.

За 1 единицу Бетезды (БЕ) принято такое количество антител, которое блокирует 50% активности фактора свертывания в контрольной плазме. Метод определения ингибитора по методу Бетезда основан на teste смешивания. Этот метод применим для определения активности ингибитора к любому фактору свертывания. Плазму больного последовательно разводят до концентрации, которая блокирует 50% или менее активности фактора в контрольной плазме, после чего, зная степень разведения плазмы больного, можно вычислить активность ингибитора. Для большей точности рекомендуют учитывать результаты 2–3 последовательных разведений и вычислять среднее арифметическое значение. Считается, что образец с остаточной активностью фактора, составляющей 50% от нормальной активности, содержит 1 БЕ ингибитора в 1 мл. Титр ингибитора равен обратной величине разведения тестируемой плазмы, которая нейтрализует 50% активности фактора

нормальной плазмы (например, FVIII). Ингибитор может определяться и в Оксфордских единицах. Возможен перевод Оксфордской единицы в БЕ. Одна Оксфордская единица ингибитора (Великобритания) соответствует 1,21 БЕ (США).

В настоящее время для определения титра ингибитора рекомендуют использовать метод Бетезда в модификации Ниймеген.

ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНТРОЛЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ

Постоянная заместительная терапия гемофилии должна сопровождаться контролем ее эффективности. Прежде всего об эффективности лечения врач может судить по состоянию больного: отсутствию жалоб и геморрагических проявлений. Необходимость в лабораторном контроле эффективности проводимого лечения возникает:

- при смене препарата или подборе препарата конкретному больному;
- недостаточной эффективности лечения, в том числе при ингибиторной форме гемофилии;
- в процессе проведения ИИТ;
- при подготовке и проведении оперативного лечения;
- при активной кровопотере (например, после травмы), значительно увеличивающей потребление факторов свертывания крови.

Существуют следующие лабораторные показатели контроля терапии.

Ответ — максимальное повышение прокоагулянтной активности фактора после инфузии концентрата дефицитного фактора в дозе 1 МЕ/кг. Как правило, оценка ответа проводится через 30 мин после окончания инфузии. Возможны значительные колебания этого показателя в связи с индивидуальными особенностями фармакокинетики препарата.

Восстановление активности FVIII или FIX в организме (*in vivo* гесогену — IVR) отражает соотношение определяемого (фактического) пика прокоагулянтной активности фактора к его расчетной величине.

Исследование восстановления FVIII в крови проводят следующим образом. Известно, что введение больному гемофилией концентрата FVIII в дозе 1 МЕ/кг приводит к повышению активности FVIII в крови в 1,5–2 раза, а период полувыведения FVIII составляет 12 ч.

Проведение теста восстановления активности FVIII предусматривает определение его активности в плазме, взятой непосредственно перед введением препарата и через определенные строго фиксированные про-

межутки времени, например через 15 мин, 6, 12, 24 и 48 ч. С помощью полученных данных проводят расчет и строят график. По этому графику в дальнейшем можно рассчитать ожидаемую активность препарата. Ниже приводится формула для расчета степени восстановления фактора:

$$B = \frac{(C_2 - C_1) \times M}{D},$$

где,

B — степень восстановления активности фактора, %;

C_1 — активность фактора перед введением больному препарата, %;

C_2 — активность фактора после введения больному препарата, %;

M — масса тела больного, кг;

D — доза введенного препарата, МЕ.

Тест восстановления активности желательно проводить неоднократно на протяжении жизни больного. Например, это имеет принципиальное значение в педиатрии в связи с ростом ребенка. Тест восстановления активности фактора необходимо проводить при отсутствии у больного геморрагических проявлений, вызывающих потребление факторов.

Ожидаемое повышение активности фактора свертывания крови может быть приблизительно оценено врачом с учетом возраста больного и количества введенного концентрата фактора (в МЕ).

Повышение активности FVIII в крови после введения концентрата FVIII зависит от возраста. Так, введение концентрата **FVIII** в дозе 1 МЕ/кг приводит к повышению активности FVIII на 1% у детей в возрасте от 1 года до 2 лет, на 1,5% — у детей в возрасте 3–4 лет и на 2% — у детей старше 4–5 лет.

Введение концентрата **FIX** в дозе 1 МЕ/кг приводит к повышению активности FIX в крови на 0,9–1%.

Период полувыведения. Определяют активность FVIII или FIX перед введением препарата, через 15 мин после введения, затем через определенные промежутки времени, последнее определение делают перед следующим введением препарата. Рассчитывают время полувыведения препарата у конкретного больного.

Показаниями к изучению периода полувыведения препарата являются:

- требования протокола лечения;
- предстоящее оперативное лечение;
- лечение тяжелых геморрагических проявлений;
- контроль эффективности ИИТ.

ГЛАВА 4

Клинические проявления гемофилии

КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕМОФИЛИИ

Общепризнанной международной классификации гемофилии не существует. ВОЗ предложила разделение гемофилии по степени тяжести в зависимости от активности фактора, начала первых геморрагических проявлений, их вида и выраженности (табл. 4).

Выделяют три степени тяжести гемофилии в зависимости от активности FVIII или FIX в плазме больного. Активность факторов в плазме (FVIII:C или FIX:C) определяют в МЕ, при этом 1 МЕ соответствует активности фактора в 1 мл нормальной плазмы.

Кроме указанной выше классификации, в практике используют еще несколько рабочих группировок.

Группировка гемофилии

I. Наследственная.

II. Приобретенная.

Группировка гемофилии по типу

Гемофилия А — снижение активности FVIII.

Гемофилия В — снижение активности FIX.

Сочетанная гемофилия А и В — снижение активности FVIII и FIX.

Группировка в зависимости от наличия и активности ингибитора

Неосложненная ингибитором гемофилия (ингибитор не определяется или менее 0,6 БЕ).

Ингибиторная гемофилия:

- низко реагирующий больной — титр ингибитора никогда не превышал 5 БЕ;
- высоко реагирующий больной — титр ингибитора хотя бы однократно превышал 5 БЕ.

Таблица 4. Классификация гемофилии по степени тяжести

| Степень тяжести гемофилии | Концентрация FVIII/FIX в плазме крови, МЕ/дл | Клинические проявления |
|-----------------------------|--|--|
| Тяжелая | <1 | Выраженный кожный геморрагический синдром по гематому типу. Кровоизлияния в мягкие ткани, мышцы. Рецидивирующие гемартрозы с поражением нескольких суставов. Тяжелые кровотечения из слизистых оболочек. Почкиные кровотечения. Тяжелые послеоперационные кровотечения |
| Средней тяжести (умеренная) | 1–5 | Кожный геморрагический синдром по гематому типу. Кровоизлияния в мягкие ткани и мышцы после значительной травмы. Рецидивирующие гемартрозы с поражением 1–2 (реже больше) суставов. Кровотечения из слизистых оболочек. Тяжелые послеоперационные кровотечения |
| Легкая | 5–30 | Длительные кровотечения после травм и хирургических операций. Другие геморрагические проявления бывают редко |

ПАТОГЕНЕЗ ГЕМОРРАГИЧЕСКОГО СИНДРОМА

Кровоточивость может быть обусловлена дефектом любого компонента нормального (физиологического) механизма гемостаза. Дефекты могут быть наследственными или приобретенными и обычно классифицируются в зависимости от места действия гемостатического механизма следующим образом: дефекты сосудов, тромбоцитов (количественные и качественные), факторов свертывания крови, фибринолиза (избыточный фибринолиз).

Дефекты сосудов наследственного характера представляют собой структурную патологию сосудистой стенки (например, аномалию коллагена); дефекты сосудов приобретенного характера являются результатом воспалительных или иммунных нарушений, поражающих кровеносные сосуды. Приобретенные дефекты сосудов встречаются в клинической практике чаще наследственных и называются сосудистыми пурпурами.

Дефекты тромбоцитов — это изменение их количества (тромбоцитопения — снижение количества тромбоцитов менее $150,0 \times 10^9/\text{л}$) или качества (тромбоцитопатия). Приобретенные нарушения тромбоцитов наблюдаются значительно чаще, чем врожденные.

Дефекты свертывания крови могут быть наследственными или приобретенными. Последние встречаются значительно чаще. Нарушения свертывания крови возникают:

- при **абсолютной недостаточности синтеза** одного из факторов свертывания крови;
- **пониженном синтезе фактора** (или факторов) свертывания крови;
- **образовании аномальной молекулы фактора** свертывания крови;
- **повышенном разрушении факторов свертывания крови** при патологическом состоянии активации свертывания крови (диссеминированное внутрисосудистое свертывание) с последующим быстрым клиренсом;
- **нарушении активности фактора** (факторов) свертывания крови за счет приобретенных циркулирующих ингибиторов (антител).

Фибринолитические дефекты характеризуются избыточной фибринолитической активностью, которая приводит к тяжелому геморрагическому диатезу. К этим дефектам относят:

- наследственный дефицит α_2 -антiplазмина, проявляющийся длительной тяжелой кровоточивостью вследствие неконтролируемого содержания плазмина в кровообращении;
- избыточное образование активаторов плазминогена (например, урокиназы);
- недостаточность инактивации активаторов плазминогена, связанную с отсутствием ингибиторов или нарушением механизма их выведения (например, при болезни печени).

ГЕМОРРАГИЧЕСКИЙ СИНДРОМ ПРИ ГЕМОФИЛИИ

Средний возраст, в котором отмечаются первые проявления гемофилии, при тяжелой форме гемофилии составляет 9 мес, при среднетяжелой и легкой формах — 22 мес. Первыми симптомами чаще всего бывают кровотечения из мягких тканей (41%), кровотечения в связи с пункцией, инъекцией или хирургической операцией (16%) и кровотечения из ротовой полости (11%) (Ljung R. et al., 1990). Кровоизлияния в мышцы и суставы, столь характерные для гемофилии, первыми проявлениями болезни,

как правило, не являются. Частота различных по степени тяжести форм гемофилии А и В и основные геморрагические проявления в различные возрастные периоды представлены в табл. 5.

Таблица 5. Частота различных форм гемофилии по степени тяжести и клинические проявления, в том числе ранние

| Показатель | Гемофилия | | |
|---|------------------|------------------------------------|---------------|
| | тяжелая | умеренная | легкая |
| Гемофилия А, % больных | 70% | 15% | 15% |
| Гемофилия В, % больных | 50% | 30% | 20% |
| Появление кровоточивости | | | |
| Возраст начала, лет | До 1 | 1–2 | Старше 2 |
| Геморрагические проявления в периоде новорожденности | | | |
| После циркумцизии | Часто | Часто | Отсутствуют |
| Внутричерепные кровоизлияния | Изредка | Редко | Редко |
| Геморрагические проявления в другие периоды детства | | | |
| Кровоизлияния в мышцы и суставы | Спонтанные | После легкой травмы или спонтанные | После травмы |
| Внутричерепные кровоизлияния | Высокий риск | Умеренный риск | Редко* |
| Послеоперационные кровотечения | Часто | Часто | Редко* |
| Кровотечения из ротовой полости** | Часто | Часто | Редко* |

* При FVIII более 25% или FIX более 15%;

** После травмы или экстракции зубов.

Хотя у 20% детей, больных гемофилией, отмечаются проявления геморрагического синдрома уже в неонатальном периоде, болезнь на этой стадии распознается редко. При тяжелой форме гемофилии в неонатальном периоде бывают выраженные гематомы под апоневрозом и даже внутричерепные кровоизлияния, подкожные и внутрикожные кровоизлияния, иногда отсроченные кровотечения из пупочного канатика. Однако у многих больных гемофилией при рождении и в первый год жизни отсутствуют выраженные геморрагические проявления. Клиническая практика показывает, что, чем легче степень гемофилии, тем позднее появляется выраженный геморрагический синдром, хотя случайные порезы и травмы вызывают сильные кровотечения даже при легких формах заболевания. Выраженность геморрагического синдрома в зависимости от степени снижения активности FVIII представлена в табл. 6.

У больных с легкой формой гемофилии, у которых активность FVIII или FIX составляет 5–25% от нормы, обычно не отмечается ни тяжелых кровотечений, ни кровоизлияний в суставы. Кровотечения у таких больных связаны прежде всего с травмой или хирургической операцией. У таких больных также отмечаются почечные и желудочные кровотечения. В то же время у таких больных кровотечение после удаления зуба может угрожать жизни.

Таблица 6. Выраженность геморрагического синдрома в зависимости от степени снижения активности FVIII

| Активность FVIII, % | Проявления геморрагического синдрома |
|---------------------|--|
| 50–200 | Нормальный гемостаз |
| 25–50 | Тенденции к кровотечениям при массивных травмах |
| 5–25 | Тяжелые кровотечения при травмах и операциях, в том числе и малых |
| 1–5 | Умеренные гемартрозы и спонтанные кровоизлияния. Сильные кровотечения после небольших повреждений и операций |
| Менее 1 | Гемартрозы, глубокие гематомы, угрожающие жизни кровотечения |

Ниже представлены возможные виды геморрагических эпизодов при гемофилии.

- Гемартрозы.
- Мышечные гематомы.
- Гематурия.
- Кровотечения из слизистых оболочек.

Кровотечения из ротовой полости.

- Десневые кровотечения.
- Носовые кровотечения.
- Желудочно-кишечные кровотечения.

Кровоизлияния высокого риска.

- Внутричерепные кровоизлияния, кровоизлияния в спинной мозг.
- Ретрофарингеальные кровоизлияния.
- Ретроперитонеальные кровоизлияния.

Кровоизлияния, вызывающие поражение периферических нервов.

- Кровоизлияния в *musculus iliopsoas* с поражением бедренного нерва.
- Кровоизлияния в ягодицы с поражением седалищного нерва.
- Кровоизлияния в икроножную мышцу с поражением большеберцового нерва.
- Кровоизлияние в переднюю поверхность ног с поражением промежностного нерва.
- Кровоизлияния в сгибательные мышцы предплечья с поражением срединного или локтевого нерва.

Иногда при легкой форме гемофилии болезнь диагностируется поздно и обнаруживается только в связи с травмой или операцией, в результате которых у этих больных возникают серьезные проблемы в виде массивных кровотечений.

У больных с тяжелой формой гемофилии после самой ничтожной травмы, а иногда даже и без видимой причины начинаются обильные и обширные кровоизлияния в мягкие ткани и мышцы, которые могут быть очень болезненными. Помимо потери крови, эти кровоизлияния в ткани могут вызывать такие серьезные дефекты сдавливания, как поражение нервов с последующим парезом и даже образование так называемых псевдоопухолей, представляющих наполненные кровью кисты (см. ниже рис. 13).

Легчайшее повреждение, например небольшой порез, способно вызвать не поддающееся контролю кровотечение, которое может длиться неделями. До применения современных методов лечения многие дети, больные гемофилией, умирали от кровотечения, вызванного нечаянным прикусом языка или губ.

Любая хирургическая операция, даже такая малая, как экстракция зуба, предпринятая без предварительного лечения, приводит к возникновению кровотечения и может закончиться летально. У больного гемофилией могут быть также кровотечения из мочевыводящих путей и желудочно-кишечного тракта, кровоизлияния в брюшную полость и жизненно важные органы. При всех острых абдоминальных болях у больного гемофилией прежде всего следует заподозрить внутреннее кровотечение. При применении адекватной заместительной терапии абдоминальные симптомы обычно быстро исчезают. Если, несмотря на проводимую заместительную терапию, симптомы нарастают, а другие признаки кровотечения отсутствуют, то возникает вопрос о необходимости проведения лапаротомии под защитой концентратов FVIII или FIX. Кровоизлияние в пояснично-подвздошную мышцу — явление нередкое и часто ошибочно принимается за кровоизлияние в тазобедренный сустав. Пациенты страдают от сильной боли в паравертебральной области, которая обычно опухает. Тазобедренный и коленный суставы находятся в состоянии контрактуры. Такие кровотечения надо соответствующим образом лечить, поскольку, как полагают, они предрасполагают к образованию подвздошных кист.

Внутричерепное кровоизлияние — самая частая причина смерти при гемофилии, поэтому при травме головы, даже незначительной, профилактическую заместительную терапию следует начать как можно раньше.

ПОРАЖЕНИЕ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОГО АППАРАТА ПРИ ГЕМОФИЛИИ

Характерными симптомами гемофилии являются кровоизлияния в суставы — **гемартрозы**. Чаще всего они возникают, когда ребенок начинает ходить. Наиболее часто поражаются коленные (44%), локтевые (25%) и голеностопные (15%) и суставы, значительно реже — плечевые (8%) и тазобедренные (5%). Позвоночник и лучезапястные суставы поражаются крайне редко и только в результате травм. Острые кровоизлияния в суставы обычно возникают без видимой травмы. Сустав становится ригидным, увеличенным в размерах, горячим на ощупь и болезненным при движении. Как правило, сустав остается в слегка согнутом состоянии, движениям препятствуют тугоподвижность и боль.

Единичные эпизоды кровоизлияний в суставы сравнительно безвредны для больного. Кровь реабсорбируется, отек спадает, восстанавливается нормальная подвижность и функция сустава. Рентгенологических изменений практически не отмечается. Если же кровоизлияния повторяются, то могут поражаться различные структуры сустава, в частности, при отсутствии адекватной заместительной терапии может развиваться необратимое поражение сустава — **гемофилическая артропатия**. Артропатия развивается постепенно, поражая суставную капсулу и хрящ, а также прилегающие к суставу кости и мягкие ткани.

После неоднократных кровоизлияний суставная капсула становится утолщенной и меняет свой цвет под действием гемосидерина, который после разрушения гемоглобина поглощается капсуллярными фагоцитами, придавая капсуле сустава характерный шоколадный цвет. Суставная капсула в дальнейшем все больше воспаляется, часто приобретая типичную бархатистую поверхность. Более поздние стадии артропатии характеризуются ограниченной подвижностью сустава, выраженным фиброзом суставной капсулы и окружающих мягких тканей.

Хрящ сустава дегенерирует и разрушается после повторных кровоизлияний под действием агрессивных активных протеолитических ферментов и коллагеназ, в результате чего прочность хряща уменьшается и после постепенного перерождения хрящ окончательно разрушается.

Параллельно с дегенерацией хряща претерпевает изменения лежащая ниже субхондральная кость, становясь порозной, разреженной из-за резорбции кости и склерозированной вследствие оссификации. Иногда в субхондральной кости образуются кисты, наполненные студенистым детритом.

Функция сустава нарушается, сгибание и разгибание конечности становятся ограниченными, сустав деформируется, расширяясь и принимая неправильные формы при распрямлении конечности. Страдают окружающие мышцы, например, при артропатии коленного сустава происходит выраженная **атрофия мышц бедра** (рис. 11). В прежние годы в случаях тяжелой артропатии коленного сустава финалом такого процесса могла быть полная утрата подвижности — анкилоз.



Рис. 11. Хроническая артропатия. Выраженная атрофия мышц. Наблюдение Е.В. Аверьянова (Киев, Украина). Публикуется с разрешения автора

Хроническая гемофилическая артропатия может сопровождаться выраженным болевым синдромом. Даже простые движения в суставе и сама масса тела могут вызывать боль. Однако зачастую суставы при выраженной хронической гемофилической артропатии безболезненны. Боль возникает при нагрузке и во время эпизодов кровоизлияний. С течением времени больные со множественным поражением суставов становятся глубокими инвалидами, даже если деформированные суставы не болят.

ПАТОГЕНЕЗ ГЕМОФИЛИЧЕСКОЙ АРТРОПАТИИ

На основании многолетнего наблюдения за больными гемофилией разного возраста, анализа рентгенологических и морфологических данных, результатов консервативного и оперативного лечения в различных клинических ситуациях, лечения и профилактики типичных осложнений заболевания, а также изучения опыта отечественных и

зарубежных специалистов группа ученых под руководством проф. Ю.Н. Андреева разработала концепцию патогенеза осложнений гемофилии, в том числе и гемофилической артропатии.

В соответствии с предложенной концепцией гемофилия рассматривается как состояние резко сниженной адаптации организма к травме вследствие выраженной врожденной гипокоагуляции крови. В частности, предполагается, что АГФ — один из важнейших факторов, обеспечивающих защиту организма от неблагоприятных изменений внешней и внутренней среды. В популяции людей с интактной системой свертывания крови это проявляется в виде закономерного повышения концентрации FVIII в ответ на стресс, в том числе хирургическое вмешательство. Мальчики, страдающие гемофилией, не рождаются инвалидами. Необходимы определенные условия, при которых состояние резко сниженной адаптации переходит в тяжелейшее калечащее заболевание.

Предполагается, что при гемофилии нарушен как сам процесс свертывания крови, так и более тонкая, пока недостаточно изученная взаимосвязь между коагуляционным, тромбоцитарным и сосудистым звеном гемостаза. Для срыва адаптации и выведения гемостаза из нестабильного равновесия необходимы дополнительные неблагоприятные факторы.

В обобщенной форме особенности патогенеза гемофилической артропатии представлены на рис. 12.

Одним из ведущих факторов, вызывающих серьезные нарушения механизмов адаптации при гемофилии, является воспаление. На фоне воспаления кровоточивость тканей становится неконтролируемой. Если имеется очаг хронического воспаления, то эпизоды кровотечений при гемофилии приобретают часто рецидивирующий характер, избирательную локализацию.

Согласно предложенной Ю.Н. Андреевым и соавт. концепции, в патогенезе гемофилической артропатии ведущее значение имеют следующие факторы:

- посттромбопатическое воспаление;
- аутосенсибилизация;
- оструя и хроническая гипоксия тканей;
- нарушение биомеханики движений;
- нарушение статики.

Роль и значение этих факторов меняются в процессе развития артропатии.

Первые гемартрозы у больных с тяжелой гемофилией могут выявляться в раннем детском возрасте, когда организм плохо адаптирован к

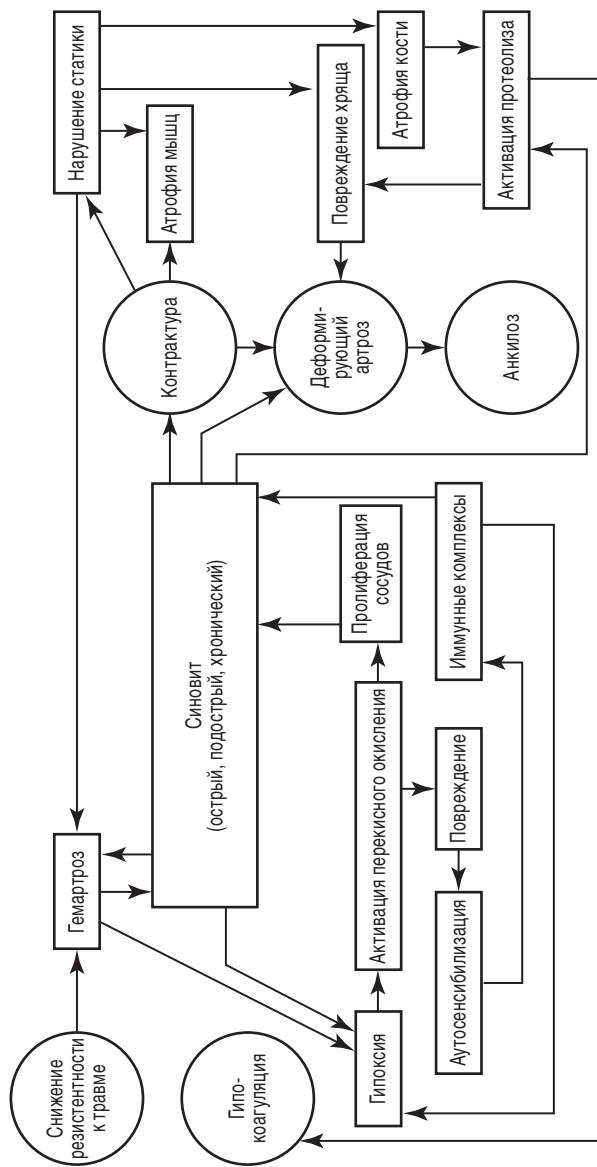


Рис. 12. Схема патогенеза артропатии при гемофилии (цит. по Андреев Ю.Н. и соавт., 2001)

неблагоприятным воздействиям и подвержен реактивным изменениям. Чаще других поражаются менее защищенные мягкими тканями и легко ранимые коленные, голеностопные и локтевые суставы. Поддерживает и усиливает кровоточивость воспаление синовиальной оболочки, возникающее в ответ на гемартроз. Если воспаление купировано в острой и подострой фазах, хронический синовит не развивается и гемартрозы полностью прекращаются на многие годы. При переходе процесса в хроническую fazу гемартрозы приобретают рецидивирующий характер.

Причины перехода воспаления в хроническую fazу, fazу гипертрофии синовиальной оболочки и ее псевдоангиоматозной трансформации точно не установлены, но наибольшее значение имеют перманентная гипоксия тканей и аутосенсибилизация.

Гипоксия тканей при гемартрозе носит смешанный характер. Первоначально гипоксия обусловлена механическим сдавлением регионарных сосудов, затем нарушается транскапиллярный обмен газов вследствие интерстициального отека тканей. Это приводит к тяжелым метаболическим изменениям, запуску перекисного окисления, поддерживающего развитие воспаления и пролиферативных процессов.

Длительно не рассасывающаяся в суставе кровь подвергается аутолизу, приобретает чужеродные для организма свойства, что инициирует реактивные изменения синовиальной оболочки, выработку антител, образование иммунных комплексов, содержание которых повышается в 2–5 раз по сравнению с нормой и в периферической крови, и в синовиальной жидкости.

Дополнительной сенсибилизации и нарушению микроциркуляции способствует гемостатическая терапия, проводимая факторами свертывания крови, получаемыми из плазмы доноров или с помощью рекомбинантной технологии и являющимися для больного чужеродным белком. Иммунные механизмы, по-видимому, ответственны за переход процесса в хроническую fazу, развитие прогрессирующего склероза сосудов, вплоть до их полной облитерации.

Вследствие гипоксии отдельные участки синовиальной оболочки некротизируются, служат источником спонтанных кровотечений, способствуют рубцово-спаечным изменениям в суставе, переходу процесса из экссудативной в адгезивную fazу.

При хроническом синовите рецидивы гемартрозов обусловлены:

- механической травмой гипертрофированной синовии;
- периодическим обострением воспаления;
- активацией протеолитических ферментов.

Протеолитические ферменты участвуют в деструкции хрящевых и костных компонентов сустава.

На определенном этапе заболевания патогенетически оправдано применение синовэктомии (*Андреев Ю.Н. и др., 2002*). Основная цель ранней синовэктомии — предупредить рецидивы гемартрозов, деформирующие изменения, нарушения биомеханики движений и статики. Последним в значительной степени способствует развитие у больных гемофилией сгибательных контрактур.

В генезе деструктивно-дегенеративных изменений имеет значение и прогрессирующая атрофия костной ткани, дезорганизация ее трабекулярной структуры вследствие нейротрофических нарушений, хронической недогрузки пораженной конечности. С помощью морфологических исследований установлено, что при гемофилии этот процесс сопровождается массивными внутрикостными кровоизлияниями и активацией остеолитических ферментов.

Изучение динамики развития гемофилической артропатии показало важность профилактики и лечения вторичных изменений суставов (вальгусная деформация, контрактура, дислокация и др.).

Течение патологического процесса и его особенности позволяют выделить несколько **основных форм гемофилической артропатии**.

1. Острый гемартроз (первичный, рецидив).
2. Постгеморрагический синовит.
 - А. Острый.
 - Б. Подострый.
 - В. Хронический:
 - а) синовиально-экссудативная фаза;
 - б) синовиально-адгезивная фаза.

- Г. Иммуноревматоидный синдром.
3. Деформирующий артоз.
4. Анкилоз (фиброзный, костный).

Частыми последствиями гемофилической артропатии являются вальгусная (реже варусная) деформация, повреждение менисков, миогенные, артrogenные контрактуры и др.

ПСЕВДООПУХОЛИ

Значительный практический интерес представляло выяснение природы спонтанных гематом и формирование одного из тяжелых и своеобразно протекающих их последствий — псевдоопухолей.

Наблюдение за течением гемофилии у лиц различного возраста показало, что при этом заболевании существует вероятность развития не связанных с травмой кровоизлияний (гематом) различной локализации: внутристенных, субпериостальных, параоссальных, межмышечных. В ряде случаев они сопровождаются патологическими переломами.

Обширные внутристенные кровоизлияния с формированием псевдоопухоли характерны для препубертатного периода (чаще в возрасте 10–15 лет), что обусловлено анатомо-физиологическими особенностями: богатой васкуляризацией и повышенным травматизмом эпиметафизарных зон, легким развитием у детей асептических некрозов и остеолитических процессов на фоне атрофических изменений в костной системе.

Для пубертатного периода (старше 15 лет) более характерно спонтанное развитие субпериостальных, межмышечных гематом, патологических переломов с последующим формированием псевдоопухолей другого типа. Особенно часто псевдоопухоли развиваются у пациентов с астеническим типом конституции. Как правило, поражения локализуются в области мышц, несущих на себе наибольшую физическую нагрузку: подвздошно-поясничной, приводящих и четырехглавой мышц бедра, трехглавой мышц голени. Гематома нарушает кровоснабжение соответствующего отдела кости и мягких тканей. В зоне повреждения наблюдаются асептический некроз, склеротические изменения тканей, образование экзостозов, гетеротопических оссификатов, в некоторых случаях возникают патологические переломы.

Ю.Н. Андреевым и соавт. была разработана классификация псевдоопухолей с учетом характера поражения и его локализации (табл. 7).

Таблица 7. Классификация гемофилических псевдоопухолей (цит. по Андреев Ю.Н. и др., 2001).

| Тип псевдоопухоли | Локализация |
|---|---|
| I. Костная ложная киста аневризматического типа (детский тип) | Пяточная кость, мыщелки бедра, фаланги пальцев |
| II. Субпериостальная, саркомоподобная псевдоопухоль | Верхний метафиз большеберцовой кости, подвздошная кость, надколенник, плечо |
| III. Перелом — псевдоопухоль | Трубчатые кости, чаще бедро |
| IV. Гигантская псевдоопухоль смешанного типа | Бедро, кости таза, плюсна, фаланги пальцев |
| V. Параосальная псевдоопухоль | Бедро, плечо |
| VI. Простая геморрагическая ложная киста | |

В процессе трансформации гематомы в псевдоопухоль выделяют три фазы: 1) начальная, или обратимая, 2) необратимая, 3) фаза осложнений.

Обратимая фаза характеризуется формированием вокруг гематомы грануляционного вала. В качестве основных механизмов этого процесса рассматриваются аутосенсибилизация, воспаление и хроническая гипоксия тканей с соответствующими им местными циркуляторными и метаболическими изменениями. Лечение главным образом консервативное: интенсивная гемостатическая, кортикоидная и местная лучевая терапия, гипербарическая оксигенация.

Фаза необратимых изменений наступает с момента образования вокруг гематомы фиброзной капсулы (3–6 мес от начала заболевания). Резорбция кровяного дегрита и некротических масс прекращается, но продолжается всасывание сыворотки с растворенными в ней некротоксинами. Псевдоопухоль в этой фазе представляет собой ложную геморрагическую кисту. Капсула ее представлена соединительной тканью различной степени зрелости — от молодой грануляционной до зрелой фиброзной. В зависимости от происхождения и топической локализации в капсулу включено большее или меньшее количество элементов костной и мышечной ткани. Лечение в большинстве случаев хирургическое. При отсутствии соответствующей помощи псевдоопухоль может достигать громадных размеров, массы 10–15 кг (рис. 13) и вступает в fazu oсложнений.

Фаза осложнений. Особенности этой фазы в определенной степени зависят от локализации псевдоопухоли. При поражении области таза отмечают массивное разрушение крыла подвздошной кости, дислокацию аорты, мочеточников,



Рис. 13. Псевдоопухоль. Наблюдение Е.В. Аверьянова (Киев, Украина). Публикуется с разрешения автора

почек, кишечную непроходимость и др., при поражении конечностей — патологический перелом, ишемическую контрактуру, гангрену. Самые частые осложнения при любой локализации псевдоопухоли — кровотечение вследствие разрыва капсулы, нагноение, сепсис. Единственным средством спасения жизни больных в фазе осложнений является операция.

ГЛАВА 5

ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОФИЛИИ

ГРУППА ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОФИЛИИ

Препараты для лечения гемофилии принято классифицировать на две группы: получаемые из плазмы доноров и получаемые с помощью рекомбинантной ДНК-технологии (рис. 14). Препараты FVIII, производимые из плазмы человека, различаются прежде всего по содержанию vWF, который играет важную роль в функционировании FVIII. vWF стабилизирует гетеродимерную структуру FVIII, защищает от преждевременной и неспецифической деградации, оказывает влияние на конформацию молекулы FVIII и снижает иммуногенность FVIII. Кроме этого, при производстве плазматических препаратов FVIII применяют различные методы вирусинактивации. При определенных условиях эти методы могут оказывать влияние на структуру FVIII и приводить к индукции новых антигенных структур (*Smales C. et al.*, 2000). В 90-е годы XX в. было описано появление ингибиторов при использовании двух пастеризованных продуктов и при этом было сделано предположение, что нагревание белка FVIII в растворе при одновременном консервировании сахарами приводит к его модификации гликозилированием (*Yee T. et al.*, 2002).

Рекомбинантные препараты FVIII получают из культур клеток животных, поэтому тонкая структура данных белков и природных молекул FVIII различается (например, по форме гликозилирования). Кроме того, среди рекомбинантных препаратов FVIII существуют продукты с неизмененными полипептидами FVIII (полноцепочечный FVIII, октоког альфа) и препараты с удаленным В-доменом FVIII (мокротоког альфа). Предполагают, что отсутствие В-домена ответственно за изменения в фармакокинетике (*Gruppo R. et al.*, 2003). Данные, полученные *in vitro*, указывают на то, что антитела пациентов с ингибиторами имеют более высокую реактивность в отношении этого типа препарата (*Astermark J. et al.*, 2003).

По специфической активности, измеряемой в МЕ на 1 мг белка, препараты классифицируют по низкой, средней и высокой активности (см. рис. 14).



Рис. 14. Группа препаратов для заместительной терапии гемофилии, полученных из плазмы доноров и с помощью рекомбинантной ДНК-технологии

ОСОБЕННОСТИ ПРОИЗВОДСТВА СОВРЕМЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОФИЛИИ

В мире известно около 80 препаратов для заместительной терапии гемофилии. Большинство препаратов получают из плазмы доноров. В настоящее время технология производства концентратов факторов из плазмы доноров значительно усовершенствована, что сделало препараты эффективными и безопасными. В качестве примера на рис. 15 приводится схема многоэтапной технологии производства препарата Гемоктин® («Биотест Фарма ГмбХ», Германия). Отчетливо видно, что с самого начала производства повышенное внимание уделяется безопас-

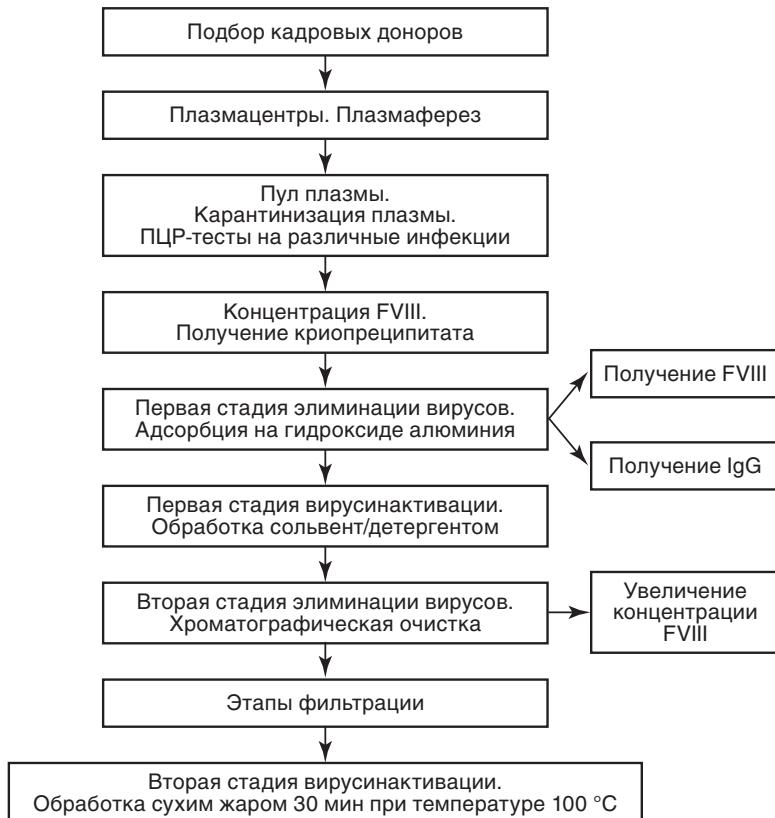


Рис. 15. Схема производства препарата Гемоктин

ности препарата. Подбор кадровых доноров, карантинизация плазмы, этапы элиминации и инактивации вирусов сделали препарат Гемоктин абсолютно безопасным для больных. С начала использования в 1993 г. препарата Гемоктин в Европе не было зарегистрировано ни одного случая передачи трансмиссивных инфекций.

С целью обеспечения безопасности препарата и его качества при производстве используют плазму, преимущественно полученную с помощью плазмафереза в донорских центрах Германии, Бельгии, Австрии и США. Донорские центры имеют государственную лицензию и регулярно инспектируются органами надзора в сфере здравоохранения и отделом контроля качества компании «Биотест Фарма ГмбХ».

Ниже описаны отдельные мероприятия для обеспечения гарантии наиболее высокого стандарта безопасности.

В производстве препарата Гемоктин используется плазма квалифицированных доноров. Квалифицированные доноры — это доноры, сдающие плазму регулярно, как правило, каждый месяц, а не однократно. Донор допускается к сдаче плазмы только после проведения тщательного обследования. Переработка первичной донорской плазмы производится только тогда, когда донор был повторно обследован в отношении вирусологических маркеров.

Проводится вирусологическая проверка плазмы каждого отдельного донора. Плазму каждого донора проверяют методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в отношении маркеров на антитела к вирусу гепатита В и С, ВИЧ I и II типов, а также определяется активность аланин-аминотрансферазы (АЛТ). При получении положительных результатов донор исключается, а его плазма утилизируется.

Используются методы отсроченного контроля (look-back), т.е. карантинизация плазмы. Компания «Биотест Фарма ГмбХ» располагает складом для обеспечения карантинизации всех поступающих донаций на срок не менее 60 дней (inventory hold). Если в течение этого срока возникнут признаки вирусной инфекции у донора (сероконверсия), то донорский центр должен незамедлительно известить об этом компанию. После получения сообщения находящиеся на хранении отдельные донации плазмы должны быть отсортированы и исключены из дальнейшей переработки.

Тестирование минипуллов и производственных пуллов на инфекции с помощью ПЦР. ПЦР на сегодняшний день является наиболее чувствительным методом обнаружения вирусных нуклеиновых кислот. Лаборатория компании «Биотест Фарма ГмбХ» использует ПЦР для обнаружения ДНК-содержащих вирусов гепатита В и парвовируса В19 и РНК-содержащих вирусов ВИЧ и гепатита А. После сбора проб плазмы ограничен-

ногого количества доноров в мини-пул проводят первые тесты на наличие инфекций с помощью ПЦР. При положительном результате ПЦР мини-пул плазмы изымается. Мини-пулы с отрицательным результатом ПЦР собираются в производственный пул. Перед началом фракционирования проводят дальнейшее тестирование с помощью ПЦР. В случае положительного результата ПЦР (практически невероятный случай) пул плазмы должен быть уничтожен. В табл. 8 представлены тесты для выявления трансмиссивных инфекций и кратность их проведения при производстве препарата Гемоктин.

Таблица 8. Тестирование плазмы, пулов плазмы и конечного продукта на наличие трансмиссивных инфекций при производстве препарата Гемоктин

| Маркер | Донация | Мини-пул | Производственный пул | Конечный продукт |
|----------------------------------|---------|----------|----------------------|------------------|
| Антитела к ВИЧ I и II типов | • | | • | • |
| Антитела к гепатиту С (anti-HCV) | • | | • | • |
| HBsAg | • | | • | • |
| Активность АЛТ | • | | | |
| Возбудитель сифилиса | • | | | |
| ВИЧ (ПЦР) | | • | • | |
| Вирус гепатита, ПЦР | | | | |
| A | | • | | |
| B | | • | • | |
| C | | • | • | |
| Парвовирус B19, ПЦР | | • | | |

В производство препарата Гемоктин включены два метода, различающиеся по механизму действия для инактивации вирусов: сольвент-детергентный метод для инактивации потенциально имеющихся оболочечных вирусов (ВИЧ, вирусы гепатита В и С) и метод термообработки сухим жаром (при 100 °С в течение 30 мин) для дополнительной инактивации потенциально имеющихся безоболочечных вирусов (вирус гепатита А). Комбинация сольвент-детергентного метода и термообработки сухим жаром (100 °С) на сегодняшний день представляет собой мировой стандарт производства плазматических концентратов FVIII. Данные методы вирусинактивации полностью соответствуют требованиям Федерального ведомства по вакцинам и сывороткам Германии о мероприятиях по уменьшению риска использования лекарственных средств, опублико-

ванным в Федеральном вестнике в 1994 г. Согласно этим требованиям, в способ производствия препаратов фактора свертывания крови обязательно должны быть включены две различные стадии инактивации или удаления вирусов. При этом один из методов должен инактивировать или удалять оболочечные вирусы, а другой метод — безоболочечные вирусы. Эффективность отдельных стадий должна быть валидирована в соответствующих экспериментальных условиях. При этом эффективность инактивации или удаления вирусов указывают в степени десятичного логарифма (\log_{10}). В табл. 9 представлены требования к удалению или инактивации оболочечных и безоболочечных вирусов.

Таблица 9. Требования к эффективности удаления или инактивации оболочечных и безоболочечных вирусов в соответствии с требованиями Федерального ведомства по вакцинам и сывороткам Германии (\log_{10})

| Вирусы | | Количество стадий, снижение вирусной нагрузки, \log_{10} |
|----------------|----|--|
| Оболочечные | => | 2, каждая минимум с 4 \log_{10} |
| | => | Суммарное уменьшение минимум 10 \log_{10} |
| Безоболочечные | => | 1, минимум с 4 \log_{10} |
| | => | Суммарное уменьшение минимум 6 \log_{10} |

В табл. 10 приведены результаты инактивации и удаления различных вирусов в процессе производства препарата Гемоктин.

Развитие рекомбинантной ДНК-технологии получения белков позволило наладить производство различных препаратов, в том числе и факторов свертывания крови. Как основное достижение при этом рассматривается увеличение доступности таких препаратов.

Процесс производства современных рекомбинантных факторов свертывания крови очень сложен и предусматривает последовательную смену нескольких стадий (рис. 16).

Прежде всего выделяют человеческий ген, кодирующий синтез дефицитного FVIII или FIX. Затем встраивают ДНК дефицитного фактора в клетку лабораторного животного (например, китайского хомячка), продуцирующую фактор. Следующий этап включает замораживание и хранение клеток, продуцирующих рекомбинантный фактор. Клетки после размораживания помещают в специальный биореактор, в котором происходит выделение рекомбинантного FVIII или FIX из клеток в питательный раствор. Затем проводят очистку полученного белка с помощью различных методов, в том числе методом хроматографии. Может быть предусмотрено несколько ступеней очистки. Для обеспечения максимальной безопасности препарата в

Таблица 10. Результаты инактивации и удаления вирусов в процессе производства препарата Гемоктина

| Производственная стадия | Снижение вирусной нагрузки (степень \log_{10}) | | | | |
|--|---|--|-----------------------------------|--|--|
| | ВИЧ (РНК-содержащий оболочечный вирус) | PSR (ДНК-содержащий оболочечный вирус) | BVDV (модельный вирус гепатита C) | VSV (РНК-содержащий оболочечный вирус) | Sindbis (РНК-содержащий оболочечный вирус) |
| Адсорбция на Al(OH) ₃ | | | <1,0 | | 1,6 |
| Обработка сольвентом/дегергентом | >6,4 | >6,8 | >6,8 | >4,7 | <1,0 |
| Термообработка сухим жаром | >6,6 | 4,6 | >6,6 | >5,8 | >8,4 |
| Вирусинактивация в результате других стадий производства | | | | | |
| Суммарная элиминация | >13,0 | >11,4 | >13,4 | >10,5 | >8,4 |
| | | | | | >7,6 |
| | | | | | >9,7 |

Примечания: PSR — рецептор фосфатидилсерина; BVDV — вирус диареи крупного рогатого скота, РНК-содержащий оболочечный вирус, модель для вируса гепатита C; VSV — вирус везикулярного стоматита; Sindbis — инфекция, вызываемая вирусом *Sindbis*; Reo — *mammalian orthorevirus* (реовирус млекопитающих); HAV — вирус гепатита A.



Рис. 16. Схема технологического процесса производства рекомбинантного FVIII

последнее время в процесс производства введена ультрафильтрация через нанофильтры.

Технологический процесс производства рекомбинантного препарата занимает длительное время. На производство одной партии препарата Когенэйт ФС («Байер», Германия), например, уходит 265 дней.

При любой технологии изготовления концентрата фактора свертывания крови значительное место в его производстве занимают процессы удаления (элиминации) и инактивации вирусов. Методы элиминации и инактивации вирусов при производстве современных препаратов для лечения гемофилии представлены в табл. 11.

Таблица 11. Стадии элиминации и инактивации вирусов в процессе производства некоторых современных препаратов FVIII

| Препарат FVIII | Технология производства | Стадии элиминации вирусов | Стадии инактивации вирусов | |
|----------------|-------------------------|--|----------------------------|----------------------------------|
| | | | I | II |
| Гемоктин | Из плазмы доноров | Отделение криопреципитата. Адсорбция на Al(OH) ₃ . Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | Обработка при температуре 100 °C |
| Гемофил М | Из плазмы доноров | Имуноафинная хроматография. Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | – |
| Коэйт ДВИ | Из плазмы доноров | Отделение криопреципитата. Преципитация с полиэтиленгликолем. Гелевая хроматография | Сольвент/ дeterгент | Обработка при температуре 80 °C |
| Октанат | Из плазмы доноров | Отделение криопреципитата. Адсорбция на Al(OH) ₃ . Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | Обработка при температуре 100 °C |
| Адвейт | Рекомбинантная | Имуноафинная хроматография. Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | – |
| Когенэйт ФС | Рекомбинантная | Имуноафинная хроматография моноклональными антителами. Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | – |
| Рекомбинат | Рекомбинантная | Имуноафинная хроматография. Ионообменная хроматография | Сольвент/ дeterгент | – |

На сегодняшний день считается, что препараты для лечения гемофилии, полученные из плазмы доноров и с помощью рекомбинантной технологии, одинаково безопасны для больных с точки зрения трансмиссии вирусных агентов.

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ЛЕЧЕНИИ ГЕМОФИЛИИ

В настоящее время для лечения гемофилии используют концентраты факторов свертывания крови, применение которых привело к значительному улучшению результатов лечения больных. Многие из известных в мире препаратов стали доступны и в России. Ниже приводятся основные свойства препаратов, зарегистрированных в нашей стране и рекомендованных в «Протоколе ведения больных. Гемофилия», опыт применения которых имеется у российских врачей.

Концентраты FVIII, используемые для лечения гемофилии А

Гемоктин, Наэмостин («Biotest» — «Биотест Фарма ГмбХ», Германия). Номер регистрации: П№ 015587/01. Препарат получают из плазмы доноров. Особенностью препарата является наличие vWF в физиологической концентрации. Безопасность препарата определяется контролем здоровья доноров, тестированием мини-пула плазмы на вирусы гепатита А, В, С, парвовирус В19 и ВИЧ с помощью ПЦР, повторным тестированием производственного пула плазмы на вирусы гепатита В, С и ВИЧ (определение антител и ПЦР), стадиями удаления и инактивации вирусов. Специфическая активность (FVIII:C) 103,5 МЕ на 1 мг белка, средняя активность vWF, определяемая по ристоцитин-кофакторной активности vWF (vWF:RCO), — 31,1 МЕ/мл. Препарат можно хранить при комнатной температуре в течение 2 лет.

Гемофил-М, Hemofil-M («Baxter», США). Номер регистрации: П№ 014383/01. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства препарата используют иммуноаффинную и ионообменную хроматографию. Препарат не содержит vWF. Вирусинактивация обеспечивается сольвент/дeterгентным методом. Специфическая активность (до добавления альбумина) составляет более 2000 МЕ на 1 мг белка.

Козйт ДВИ, Koate DVI («Bayer», США). Номер регистрации: П№ 012353/01. Препарат получают с помощью классического метода фракционирования Кона-Орли и серий последовательного осаждения, центрифugирования, фильтрации, хроматографии. Препарат содержит vWF. При производстве препарата используют две стадии вирусинактивации: обработку сольвент/deterгентом и сухим жаром в течение 72 ч при температуре 80 °C. Специфическая активность составляет 50 МЕ на 1 мг белка.

Иммунат, Immunate («Baxter», Австрия). Номер регистрации: П№ 015027/01-2003. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства используют ионообменную хроматографию. Содержит vWF. Вирусинактивация проводится двумя методами: обработкой полисорбатом 80 и сухим жаром в течение 10 ч при температуре 60 °C. Специфическая активность составляет 70 МЕ на 1 мг белка.

Октанат, Octanate («Octapharma», Австрия). Номер регистрации: П№ 016162/01. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства используют ионообменную хроматографию. Препарат не содержит vWF.

жит vWF в терапевтически активном количестве. Вирусинактивация проводится двумя методами: обработкой сольвент/дeterгентом и сухим нагревом в течение 30 мин при температуре 100 °C. Специфическая активность составляет не менее 100 ME на 1 мг белка.

Фактор VIII Y, Factor VIII Y («Bio Products Laboratory», Англия). Номер регистрации: П-8-242; № 009479. Препарат получают из плазмы доноров. Для получения используют гепарин/глицин. Препарат содержит большое количество vWF, активность которого указывается. Оптимальен для лечения болезни Виллебранда. При производстве препарата используется одна стадия вирусинактивации — сухой нагрев в течение 72 ч при температуре 80 °C. Специфическая активность составляет 2,5–4 ME на 1 мг белка.

Эмоклот ДИ, Emoclot D.I. («Kedrion», Италия). Номер регистрации: П№ 015035/01-2003. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства используется ионообменная хроматография. Препарат содержит vWF. Вирусинактивация проводится двумя методами: обработкой сольвент/дeterгентом и сухим жаром в течение 30 мин при температуре 100 °C. Специфическая активность составляет не менее 80 ME на 1 мг белка.

Агемфил А, Agemfil A (ГНЦ Минздравсоцразвития России). Номер регистрации: ЛС-001796. Получают из плазмы человека. Препарат содержит vWF. Специфическая активность не указывается.

Когенэйт ФС, Kogenate FS («Bayer Healthcare», США). Номер регистрации: П№ 015661/01. Препарат представляет собой стабилизированный сахарозой FVIII (октоког-альфа). Препарат получают с помощью современной рекомбинантной ДНК технологии, не содержит человеческого белка в конечном продукте. Специфическая активность составляет не менее 100 ME на 1 мг белка.

Рекомбинат, Recombinate («Baxter», Австрия), октоког-альфа. Номер регистрации: П№ 015648/01. Препарат получают с помощью современной рекомбинантной ДНК-технологии.

Бериате, Beriate («CSL Behring», Германия). Номер регистрации: ЛСР-007364/09. Получают из плазмы человека. Специфическая активность составляет 165 ME FVIII на 1 мг белка. Препарат содержит vWF, его активность составляет 66 ME vWF:RCo.

Вилате, WILATE («Octapharma», Австрия). Номер регистрации: ЛС-002306. Получают из плазмы человека. Специфическая активность составляет не менее 60 ME FVIII на 1 мг белка и не менее 53 ME vWF на 1 мг белка.

Концентраты FIX, используемые для лечения гемофилии В

Аймафикс ДИ, Aimafix D.I. («Kedrion», Италия). Номер регистрации: П№ 015034/01. Получают из плазмы доноров. В процессе производства препарата используют анионобменную, DEAE сефадекс/сефарозную и гепарин/аффинную хроматографию. В препарат добавляют антитромбин III. При производстве препарата используют две стадии вирус-инактивации: обработку сольвент/детергентом и сухим жаром в течение 30 мин при температуре 100 °C. Специфическая активность составляет 100 МЕ на 1 мг белка.

Октанайн ФС, Octaplyne («Octapharma», Австрия). Номер регистрации: П№ 015193/01. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства используют ионообменную и аффинную хроматографию. При производстве препарата используют одну стадию вирусинактивации — обработку сольвент/детергентом. Термическая инактивация отсутствует. Специфическая активность составляет 50–100 МЕ на 1 мг белка.

Иммунин, Immunine («Baxter», Австрия). Номер регистрации: П№ 013750/01. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства используют двухэтапную хроматографию. При производстве препарата используют две стадии вирусинактивации: обработку полисорбатом 80 и сухим жаром в два этапа — в течение 10 ч при температуре 60 °C под давлением 190 мбар и в течение 1 ч при температуре 80 °C под давлением 375 мбар. Специфическая активность составляет 100 МЕ на 1 мг белка.

Репленин, Replenine VF («Bio Products Laboratory», Англия). Номер регистрации: П№ 009067. Препарат получают из плазмы доноров. В процессе производства применяют металлхелатную хроматографию. Препарат не содержит добавленного альбумина. Вирусинактивация проводят двумя методами: обработкой сольвент/детергентом (удаляют вирусы гепатита В, С, ВИЧ) и нанофильтрацией через поры диаметром 15 нм (удаляют вирус гепатита А и парвовирус В19). Специфическая активность составляет 200 МЕ на 1 мг белка. У детей следует применять с осторожностью в связи с отсутствием опыта.

Агемфил В, Agemfil В (ГНЦ Минздравсоцразвития России). Номер регистрации: П№ 002032/01-2002. Препарат представляет собой концентрат FIX, получаемый из свежезамороженной плазмы доноров. Специфическая активность не сообщается.

Бенефикс, Benefix («Wyeth», США), нонаког альфа. Препарат представляет собой концентрат FIX, получаемый с помощью рекомбинантной ДНК-технологии.

Мононаин, Mononine («CSL Behring», Германия). Номер регистрации: LCP-007-363/09. Препарат получают из плазмы человека. Препарат можно применять в виде длительной инфузии. Специфическая активность составляет 190 МЕ на 1 мг белка.

ПРЕПАРАТЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИНГИБИТОРНОЙ ФОРМЫ ГЕМОФИЛИИ

Антиингибиторный коагулянтный комплекс (АКК)

Основным показанием для применения АКК — препарата ФЕЙБА (FEIBA — Factor Eight Inhibitor Bypass Activity, «Бакстер-Иммуно», США) — является лечение кровотечений при ингибиторной форме гемофилии А и В. Препарат эффективен у больных даже с высоким титром ингибитора (более 50 ЕЕ). Препарат ФЕЙБА содержит FII, FIX и FX в неактивной форме со специфической активностью от 0,7 до 2,5 ЕД на 1 мг белка и FVII и FVIII в активной форме со специфической активностью 0,1 ЕД на 1 мг белка. Начальная доза препарата составляет 50–100 ЕД/кг массы тела больного, может быть повторно введена через 6–12 ч. Суточная доза не должна превышать 200 ЕД/кг массы тела больного. При многократном введении препарата пациенты должны мониторироваться на предмет развития синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС) или даже инфаркта миокарда. Совместное применение с антифибринолитическими препаратами противопоказано.

Рекомбинантный FVIIa (эптаког альфа активированный)

Рекомбинантный активированный FVII (rFVIIa) может применяться для достижения гемостаза у пациентов с высоким титром ингибитора. Начальная доза эптакога альфа составляет 90 мкг/кг массы тела больного на одно болюсное введение, которое рекомендуется повторить через 2–3 ч. Частота введения препарата и длительность терапии указаны в инструкции к препаратам, определяются клинической эффективностью и могут быть индивидуальными. Возможно однократное введение

препарата НовоСэвен в дозе 270 мкг/кг массы тела больного. В РФ зарегистрированы два препарата эптакога альфа: НовоСэвен® («Ново Нордиск», Дания) и Коагил-VII (ЗАО «ГЕНЕРИУМ», Россия).

Внутривенный иммуноглобулин

Больные с ингибиторной формой гемофилии без кровотечений нуждаются в менее интенсивной терапии. Была продемонстрирована эффективность внутривенного иммуноглобулина в снижении, а иногда и устраниении ингибитора к FVIII, что связано, вероятнее всего, с присутствием у больных с ингибиторной формой гемофилии анти-идиопатических антител. Это особенно важно в ситуациях с приобретенными антителами. Иммуносупрессивная терапия, направленная на устранение ингибиторных антител, может быть усиlena путем применения короткого курса глюокортикостероидов или их сочетания с цитостатическими препаратами (циклофосфан, винクリстин, циклоспорин).

ДРУГИЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОФИЛИИ

Местные гемостатические препараты. Гемостатическую губку и фибриновый клей применяют в качестве дополнительных гемостатических средств при проведении хирургических операций, в том числе удаления зубов.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ГЕМОФИЛИИ

Разработка новых рекомбинантных препаратов проводится некоторыми фармацевтическими компаниями, в том числе отечественными. По мере увеличения объема выпуска рекомбинантных факторов свертывания крови возможно снижение их стоимости. В настоящее время стоимость 1 МЕ концентрата фактора свертывания крови из плазмы составляет в России 9–10 руб., а рекомбинантного — 17–25 руб.

Разработка препаратов пролонгированного действия привела уже сегодня к созданию пегелированных форм концентратов факторов свертывания крови, использование которых позволяет увеличить интервалы между введениями. Это имеет значение для больных любого возраста,

но особенно важно для детей. Проводятся исследования по увеличению полужизни препаратов.

Разработка термостабильных препаратов, не требующих хранения в холодильнике, сделает более удобным хранение лекарственных средств. Уже сейчас многие препараты можно хранить при комнатной температуре. Например, Гемоктин можно хранить 2 года при комнатной температуре и 1,5 года при температуре 30 °С.

Разработка препаратов, не требующих внутривенного введения (подкожных, пероральных), сможет значительно упростить лечение гемофилии, так как при этом отпадает необходимость венозного доступа.

Разработка новых препаратов для лечения ингибиторной гемофилии

Временного снижения титра ингибитора можно добиться, применивая фрагменты FVIII. Рекомбинантная технология позволяет получать небольшие фрагменты FVIII, несущие эпитопы, с которыми реагируют антитела пациента. Такие фрагменты FVIII можно вводить больным, чтобы нейтрализовать ингибитор (*Scandella D. et al.*, 1988).

Другим препаратом, действующим в обход FVIII, является активированный фактор FX в комбинации с фосфолипидами и рекомбинантным TF человека. В эксперименте на собаках показано, что такое сочетание обеспечивает эффективный гемостаз на модели гемофилии (*Giles A. et al.*, 1988; *Gomperts E. et al.*, 1991).

Таким образом, когда создалось впечатление, что заместительная терапия гемофилии достигла своего предела, вдруг появились новые оригинальные направления развития, позволяющие ее совершенствовать.

ГЛАВА 6

Лечение гемофилии

ПРОТОКОЛ ВЕДЕНИЯ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Большим достижением явилось создание группой специалистов из ведущих учреждений страны и утверждение Минздравсоцразвития России 30 декабря 2005 г. «Протокола ведения больных. Гемофилия». Впервые Протокол был опубликован в журнале «Проблемы стандартизации в здравоохранении» (2006 № 3.), а затем выпущен отдельным изданием. Позднее на основе этого документа был подготовлен ГОСТ Р 52600.3-2008 «Гемофилия» и приказ № 705 от 14 ноября 2007 г. «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с наследственным дефицитом фактора свертывания крови VIII, дефицитом фактора свертывания крови IX, болезнью Виллебранда». Эти документы должны были решить ряд задач: установить единые требования к диагностике и лечению больных гемофилией; рекомендовать алгоритмы диагностики и лечения больных; определить набор препаратов для лечения гемофилии; унифицировать расчеты стоимости медицинской помощи; сформировать лицензионные требования и условия осуществления медицинской деятельности; осуществить контроль объема, доступности и качества медицинской помощи, оказываемой больному в медицинском учреждении в рамках государственных гарантий обеспечения граждан бесплатной медицинской помощью. В Протоколе содержатся все необходимые требования и рекомендации по ведению больных, приводятся образцы документации, определены организации, осуществляющие контроль.

Принципиально важным является включение в протокол домашнего лечения. Больные тяжелой и среднетяжелой формами гемофилии, в том числе ингибиторной формой, после проведения соответствующего обучения и получения письменного информированного согласия могут самостоятельно распознавать ранние признаки кровотечений и вводить необходимое количество концентратов факторов свертывания крови непосредственно у себя дома. Протокол служит руководством к действию врачам-гематологам и всем специалистам, работающим с больными гемофилией.

ЛЕЧЕНИЕ ГЕМОФИЛИИ ПО ТРЕБОВАНИЮ (ON DEMAND)

При развитии геморрагического синдрома или при необходимости экстренных хирургических операций больной нуждается в проведении заместительной терапии концентратами FVIII или FIX. При назначении препаратов, содержащих FVIII или FIX, необходимо помнить, что 1 МЕ FVIII, введенная из расчета на 1 кг массы тела пациента, повышает активность FVIII в плазме на 2%, а 1 МЕ FIX/кг массы тела больного повышает активность FIX в плазме крови на 1%. Согласно «Протоколу ведения больных. Гемофилия», расчет дозы препарата на одно введение проводится следующим образом.

При гемофилии А

При *тяжелой* форме:

$$X = M \times L \times 0,5.$$

При *средней и легкой* формах:

$$X = M \times (L - P) \times 0,5,$$

где X — доза концентрата FVIII для однократного введения, МЕ; M — масса тела больного, кг; L — необходимая активность FVIII в плазме, %; P — исходная активность FVIII в плазме пациента, %.

При гемофилии В

При *тяжелой* форме:

$$X = M \times L \times 1,2.$$

При *средней и легкой* формах:

$$X = M \times (L - P) \times 1,2,$$

где X — доза концентрата FIX для однократного введения, МЕ; M — масса тела больного, кг; L — необходимая активность FIX в плазме, %; P — исходная активность FIX в плазме пациента, %.

При этом необходимая активность FVIII или FIX в плазме больного зависит от локализации и степени выраженности геморрагического

синдрома (табл. 12), а также от объема и травматичности предстоящего оперативного вмешательства.

Таблица 12. Необходимая активность FVIII или FIX в зависимости от локализации геморрагического синдрома

| Локализация кровотечения/ кровоизлияния | Гемофилия А | Гемофилия В |
|--|------------------------------------|----------------------------------|
| | необходимая активность FVIII, % | необходимая активность FIX, % |
| Сустав | 40 | 40 |
| Мышца (кроме подвздошной) | 40 | 40 |
| Подвздошная мышца: | | |
| начальная активность | 80–100 | 60–80 |
| активность, поддерживающая состояние | 30–60 | 30–60 |
| Центральная нервная система: | | |
| начальная активность | 80–100 | 60–80 |
| активность, поддерживающая состояние | 50 | 30 |
| Глотка, горло и другие органы шеи: | | |
| начальная активность | 80–100 | 60–80 |
| активность, поддерживающая состояние | 50 | 30 |
| Желудочно-кишечный тракт: | | |
| начальная активность | 80–100 | 60–80 |
| активность, поддерживающая состояние | 50 | 30 |
| Глаз | 80–100 | 60–80 |
| Почки | 50 | 40 |
| Глубокий порез | 50 | 40 |

Необходимо помнить, что препараты FVIII/IX вводятся внутривенно медленно, со скоростью не более 3 мл/мин у взрослых и 100 МЕ/мин у детей.

Профилактическое лечение гемофилии

Идея профилактического лечения гемофилии была предложена в Швеции в 1965 г.

A. Ahlberg доказал, что хронические изменения суставов редко наблюдаются у больных с гемофилией средней тяжести с активностью FVIII или FIX 1–4%. Таким образом, сначала возникла теоретическая предпосылка превращения тяжелой формы гемофилии в более легкую с помощью регулярного профилактического введения препаратов.

В 60-х и начале 70-х годов XX в. препараты FVIII были доступны в ограниченном количестве и профилактическое лечение невозможno было осуществлять эффективно у большинства больных, а интервалы между курсами лечения иногда достигали 4–10 дней. Кроме того, к началу программы профилактического лечения возраст некоторых мальчиков составлял 7–13 лет и у них уже были дефекты суставов. Однако профилактическое лечение привело к значительному улучшению состояния даже таких больных (*Nilsson I. et al.*, 1970; *Nilsson I.*, 1981).

В 1972 г. было начато профилактическое лечение больных гемофилией. Цель профилактического лечения заключалась в том, чтобы начать лечение **как можно раньше, до поражения суставов**. В настоящее время такое лечение начинают в возрасте 1–2 лет, оно может продолжаться по меньшей мере до 20 лет, а нередко и дольше. Режим, которого придерживаются на сегодняшний день: 25–40 МЕ FVIII на 1 кг массы тела больного (обычно 3 раза в неделю) при гемофилии А и 25–40 МЕ FIX на 1 кг массы тела больного 2 раза в неделю при гемофилии В. Активность FVIII или FIX в плазме больного должна быть не ниже 1–2%. Это означает, что болезнь пациента с точки зрения свертывающей активности может быть переведена из тяжелой формы в среднетяжелую или легкую.

Были разработаны три модели профилактического лечения. **Шведская модель** предусматривает постепенное введение профилактики и начало ее у детей раннего возраста. Концентраты факторов вводят в дозе 25–40 МЕ/кг 3 раза в неделю при гемофилии А и 2 раза в неделю при гемофилии В. **Голландская модель** предусматривает начало профилактического лечения как можно раньше после первого кровотечения. Доза препарата зависит от тяжести геморрагического эпизода и составляет от 15 до 30 МЕ/кг. **Канадская модель** отстаивает идею индивидуализированной профилактики. Лечение начинают с введения препаратов 1 раз в неделю. При неэффективности такого лечения частоту введений и дозу повышают. Эта модель наиболее целесообразна с точки зрения стоимости–эффективности, если средства, выделяемые на лечение больного гемофилией, ограничены.

Профилактическая заместительная терапия может быть первичной и вторичной. **Первичную профилактику** начинают у детей, не имеющих признаков поражения суставов и хронического их воспаления (синовита), до первого кровоизлияния в сустав или после однократного кровоизлияния в один или два сустава. Первичная профилактика может проводиться до окончания роста ребенка или пожизненно. **Вторичную профилактику** проводят после развития повторных кровоизлияний в

суставы. Она также может проводиться до окончания роста ребенка или пожизненно.

Нежелательные явления наблюдаются при профилактическом лечении не чаще, чем при лечении по требованию.

Показано, что начатое рано, в 1–2-летнем возрасте, профилактическое лечение высокими дозами позволяет поддерживать у пациента концентрацию FVIII или FIX более 1 МЕ/дл (или активность более 1%) и тем самым фактически избежать кровоизлияний в суставы. На ранних этапах применения профилактического лечения было высказано предположение, что если такое лечение станет общепринятым, то это приведет к значительному улучшению его результатов, повышению качества жизни больных и их социальной адаптации. Если вводить концентраты FVIII или FIX в дозе, достаточна высокой для того, чтобы поддерживать концентрацию дефицитного фактора в плазме больного более 5 МЕ/дл (активность более 5%), то последствий тяжелой гемофилии можно избежать. Возникла идея, что в будущем станет возможным имплантировать пациенту систему для непрерывной инфузии FVIII или FIX и тем самым поддерживать их постоянную активность около 5%. Это позволит снизить общее количество концентратов FVIII или FIX, необходимое для профилактического лечения. У больного тяжелой формой гемофилии с массой тела 60 кг при введении концентрата FVIII в дозе 40 МЕ/кг 3 раза в неделю еженедельная потребность в препарате составляет 7200 МЕ. Если FVIII вводить в виде непрерывной инфузии для поддержания постоянной концентрации дефицитного фактора в плазме крови 5 МЕ/дл, то можно снизить потребление FVIII до 1700 МЕ в неделю.

Вопрос, каким образом следует продолжать профилактическое лечение у взрослых больных, начатое в детском возрасте, так и остается открытым. Существует четыре возможности профилактического лечения у взрослых, больных гемофилией:

- продолжение профилактического лечения в том виде, в котором оно проводилось с детского возраста;
- продолжение вторичной профилактики;
- периодическая профилактика;
- эпизодическая профилактика.

Критерием эффективности профилактического лечения служит частота возникновения геморрагических эпизодов: если при проведении профилактической терапии у пациента возникает более двух спонтанных кровотечений/кровоизлияний в год, то такая заместительная терапия считается неэффективной и требует индивидуального изменения режима введения или дозы препаратов.

Домашнее лечение гемофилии

Домашнее лечение гемофилии подразумевает введение препаратов для заместительной терапии на дому самим больным или его родственниками, предварительно обученными технике внутривенного введения лекарственных средств. Домашнее лечение может быть как по требованию, так и профилактическим.

Основная идея домашнего лечения заключается в предотвращении различных геморрагических эпизодов и их последствий, что имеет еще большее значение, чем их лечение.

Задачи домашнего лечения гемофилии:

- предотвратить массивные кровотечения путем оказания немедленной помощи при первых признаках возникновения кровотечений;
- сэкономить время и расходы на транспортировку больного в больницу и обратно, а также затраты на обслуживание больного в стационаре;
- сократить пропуски занятий в школе (институте) или на работе;
- освободить больного от постоянной зависимости от лечебного учреждения, чтобы он мог жить полноценной жизнью.

Основные показания для проведения домашнего лечения:

- профилактическая заместительная терапия;
- профилактика и остановка кровотечений при ушибах, неглубоких ранах, признаках начинающихся гематом мягких тканей конечностей, гемартрозах без выраженного болевого синдрома, физиологическом выпадении зубов, незначительных травмах слизистых оболочек полости рта и носа, значительных физических нагрузках.

Противопоказания для проведения домашнего лечения:

- кровоизлияния в центральную нервную систему;
- гемартрозы с выраженным болевым синдромом;
- тяжелые травмы;
- желудочно-кишечные кровотечения;
- почечные кровотечения;
- массивные гематомы мягких тканей;
- забрюшинные гематомы;
- кровоизлияния в органы грудной клетки;
- кровотечения в брюшную полость;
- гематомы органов брюшной полости;
- кровоизлияния в другие жизненно важные органы.

В настоящее время в Швеции и многих других странах лечение гемофилии проводят преимущественно на дому, сначала родители делают

мальчику инъекции до тех пор, пока ему не исполнится 10–12 лет и он не сможет делать себе инъекции сам. Некоторым самым маленьким детям имплантируется специальный венозный катетер — port-a-cath, чтобы упростить инъекции. Больные ежемесячно сообщают в медицинский центр о кровотечениях, пропуске занятий в школе или работы и о сделанных инфузиях. Дважды в год больных вызывают на осмотр, и их состояние оценивают различные специалисты центра гемофилии. Состояние суставов и мышц проверяет ортопед, кроме того, регулярно проводятся рентгенологические исследования. Измеряют массу тела и рост больного, следят за лабораторными показателями (показатели гемограммы, активность ферментов печени, наличие антител к гепатиту С, В, ВИЧ, количество CD4 \pm и CD8 \pm лимфоцитов). Больному делают его обычную инфузию концентрата FVIII/IX, определяют активность FVIII/IX до и после инфузии. Проводят тесты на наличие антител к FVIII/IX. Через определенные промежутки времени проводят фармакокинетические исследования, чтобы подобрать правильную дозу препарата и интервалы между инфузиями.

Лечение ингибиторной гемофилии

Риск развития ингибитора. Основная проблема лечения гемофилии — появление у некоторых больных антител к FVIII/FIX-ингибиторам. Проблема трансмиссивных инфекций, прежде всего гепатитов, утрастила свою актуальность, поскольку за последние 18 лет не было зарегистрировано ни одного случая их передачи с препаратами. В связи с этим представляется удачным высказывание J. Epstein: «Сегодня СПИД и другие вирусные инфекции находятся под контролем, в то время как развитие ингибитора является самым серьезным осложнением, связанным с лечением факторами свертывания крови».

Наличие ингибитора значительно отягощает течение гемофилии: повышает риск возникновения длительных некупируемых кровотечений, которые приводят к развитию артропатии, хронического синовита, псевдоопухолей и других осложнений; увеличивает количество госпитализаций пациентов; требует изменения тактики гемостатической терапии; увеличивает стоимость лечения больных.

Появление ингибитора может быть заподозрено у больного гемофилией в тех случаях, когда:

- кровотечение у больного продолжается, несмотря на проводимое лечение недостающим концентратом фактора свертывания крови в расчетной дозе и при правильном режиме введения;

- для остановки кровотечения требуется все большее количество препарата.

Факторы риска развития ингибитора принято разделять на генетические и связанные с лечением; и те и другие факторы могут быть благоприятными (не приводящими к развитию ингибитора) и неблагоприятными (приводящими к развитию ингибитора). К генетически обусловленным благоприятным прогностическим факторам относят отсутствие ингибитора у членов семьи, активность FVIII или FIX 2% и более, европеоидную расу больного, малые делеции, мутации C1–C2 доменов, миссенс-мутации. К генетически обусловленным неблагоприятным прогностическим факторам относят наличие ингибиторов у членов семьи, что повышает риск их развития у больного в 3 раза, активность FVIII или FIX 1–2% и менее, афроамериканскую или испанскую расу больного, большие делеции, инверсию интрона 22, инверсию интрона 1. К благоприятным негенетическим факторам (связанным с лечением) относят постоянное лечение одним и тем же препаратом, более 100 дней введения препарата, регулярную профилактику, начатую в возрасте старше 1 года, отсутствие нарушений в иммунной системе, применение плазматических препаратов(?) (требует доказательства). К неблагоприятным негенетическим факторам относят частую смену препаратов, первые 10–50 дней введения препаратов, лечение по требованию, хирургическое лечение, инфекции, вакцинации, применение рекомбинантных препаратов(?) (требует доказательства).

Зарегистрированы возрастные пики появления ингибитора: в первые 10 лет жизни ребенка (чаще в возрасте 1,7–3,3 года) — в 73% случаев; в 50–60 лет вследствие кумулятивного эффекта общего количества инфузий факторов, более частого проведения оперативных вмешательств различного характера (Hay C., 2006).

Вероятность формирования ингибитора зависит и от возраста больного, в котором сделали первое введение фактора: при введении препарата в возрасте до 1 мес ингибиторы развиваются в 41% случаев, 1–6 мес — в 30% случаев, 6–12 мес — в 29% случаев.

Если заместительную терапию впервые начинают больному гемофилией при хирургическом вмешательстве, риск возникновения ингибитора повышается до 65% по сравнению с началом обычной терапии без операции как профилактической (22%), так и по требованию (23%).

Риск развития ингибиторов выше у ранее не леченных пациентов (previously untreated patients — PUPs) и составляет примерно 30% (Saint-Remy J. et al., 2004). Ингибитор образуется в большинстве случаев после первых введений концентрата фактора, как правило, у детей раннего

возраста. К высокому риску относят период, в течение которого проводят первые 20 введений препарата. У взрослых пациентов с гемофилией, перенесших многократные переливания препаратов крови (previously treated patients — PTPs), обнаружение ингибиторов является более редким событием. В исследованиях с участием PTPs частота обнаружения ингибиторов составила менее 3%. Ингибиторная форма гемофилии встречается главным образом у пациентов с гемофилией А, прежде всего у пациентов с тяжелой формой заболевания (активность FVIII менее 1%).

В начале терапии заболевания у пациента с гемофилией А рекомендовано проводить исследование на наличие ингибиторов каждые 3–5 дней введения фактора. Если однажды тест на наличие ингибиторов впервые оказывается положительным и при повторном определении это подтверждается, заместительную терапию FVIII необходимо прервать.

Кроме того, было показано, что ранняя профилактика может свести к минимуму развитие ингибиторов у больных гемофилией А, даже если они имеют мутацию гена FVIII, несущую высокий риск развития ингибиторов, а проведение регулярного профилактического лечения снижает риск развития ингибиторов на 60% по сравнению с лечением по требованию (Gouw S. et al., 2006).

Как было сказано ранее, возникновение ингибиторов обусловлено различными факторами, но можно считать, что наиболее доказана роль генетических факторов и проводимой заместительной терапии (Schwaab R. et al., 1995; Aledort L. et al., 1998; Astermark J. et al., 1999; Hay C. et al., 1997; Bagnall R. et al., 2002; Goodeve A., 2003; Cox-Gill J., 1999; Ivaskevicius V. et al., 2001).

В плане заместительной терапии гемофилии было показано, что частота появления ингибиторов зависит также от происхождения и состава препарата FVIII (Lorenzo J. et al., 2001; Van der Bom J. et al., 2003).

Проведенные в Европе многоцентровые исследования по использованию у больных гемофилией А различных по типу препаратов FVIII (плазматических или рекомбинантных) позволили сделать вывод о том, что лечение рекомбинантными препаратами значительно чаще по сравнению с плазматическими вызывает индукцию ингибиторов (Aledort L., 2004; Lusher J., 2004; Guerois C. et al., 1995; Yee T. et al., 1997; Addiego J. et al., 1992).

Анализ большого количества данных свидетельствует о том, что плазматические концентраты FVIII, содержащие vWF, не только являются менее иммуногенными, чем рекомбинантные, но и успешно используются для лечения ингибиторных форм гемофилии А (Lusher J. et al., 1993; Lusher J. et al., 2003; Rothschild C. et al., 1998; Kasper C. et al., 1975).

Поиск удачной модельной системы для сравнительного исследования иммуногенности препаратов FVIII велся давно. Было предложено оценивать иммуногенность различных концентратов FVIII на так называемой мышино-гемофильной модели (*Behrmann M. et al.*, 2002). Мышь с гемофилией имеет дефект гена FVIII и не может синтезировать функционально активный FVIII. Такую мышь можно использовать в качестве модельной системы при исследовании реакции иммунной системы на введение различных препаратов FVIII. Мышиная модель интересна еще и тем, что все мыши с гемофилией имеют идентичный дефект гена в отличие от очень гетерогенной популяции людей с гемофилией. Таким образом, при использовании мышевой модели различные иммунологические реакции на введение FVIII соотносятся исключительно с различной иммуногенностью самих препаратов FVIII.

Было показано, что не только рекомбинантные препараты FVIII, но и плазматические препараты, не содержащие vWF, обладают сильной иммуногенностью. Плазматические препараты со значительным содержанием vWF (например, Гемоктин и др.) вызывают значительно более слабый иммунный ответ. При этом добавление vWF к препаратам без естественного содержания vWF (например, рекомбинантным препаратам FVIII) приводит к значительному снижению иммунного ответа.

Вопрос о влиянии типа препарата на частоту появления ингибиторов обсуждается уже давно. Почти 10 лет назад по инициативе Международного общества тромбоза и гемостаза (International society on thrombosis and haemostasis — ISTH) было начато проспективное многоцентровое исследование с участием PUPs из центров гемофилии Германии, Швейцарии и Австрии. Оценка результатов исследования показала, что при использовании рекомбинантных концентратов риск возникновения ингибиторов гораздо выше (*Kreuz W.*, 2004).

Несмотря на достоверность полученных результатов, недостаток данного исследования (вполне объяснимый из-за участия в исследовании множества лечебных учреждений в разных странах) состоял в том, что пациенты сравниваемых групп получали большое количество различных плазматических и рекомбинантных препаратов.

Этот недостаток был устранен в работе J. Goudemand и соавт. (2006).

Результаты проведенного во Франции ретроспективного исследования с участием PUPs имеют высокую ценность прежде всего потому, что пациенты получали лечение только одним плазматическим и двумя рекомбинантными препаратами. Использовавшийся плазматический препарат под названием VIII-LFB® аналогичен Гемоктину и представляет

собой физиологический комплекс молекулы FVIII с молекулой vWF, в процесс его производства также включена хроматографическая очистка и обработка сольвентом/детергентом и сухим жаром с целью вирусной инактивации (*Saenko E. et al.*, 2002). В качестве рекомбинантных препаратов использовали Рекомбинат и Когенэйт, очищенные с помощью моно-клональных антител и стабилизированные человеческим альбумином (*Gomperts E. et al.*, 1992; *Boedeker B.*, 1992; *Lusher J.*, 2002). В течение 1988–2002 гг. 148 больных с тяжелой формой гемофилии А получали лечение в 24 центрах лечения гемофилии во Франции. Пациенты были разделены на две группы: в 1-ю группу были включены 62 пациента, получавшие плазматический препарат VIII-LFB®, во 2-ю группу — 86 пациентов, получавших рекомбинантные препараты, из них 24 пациента получали Когенэйт и 62 пациента — Рекомбинат. Полученные в результате анализа данные представлены в табл. 13.

Таблица 13. Частота возникновения ингибиторов при лечении тяжелой гемофилии А плазматическими и рекомбинантными концентратами FVIII

| Тип концентрата FVIII | Частота возникновения ингибиторов | | | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|----|-------------------------------------|----|---|----|
| | Всего (титр $\geq 0,6$ БЕ) | | Высокий титр ингибиторов (>5 БЕ) | | Высокий титр ингибиторов (>5 БЕ) и ИИТ | |
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| Плазматический (VIII-LFB, $n = 62$) | 7 | 11 | 3 | 5 | 4 | 6 |
| Рекомбинантный ($n = 86$) | 27 | 31 | 13 | 15 | 19 | 22 |

Кроме того, был рассчитан адьюстированный относительный риск (adjusted relative risk — RRa) возникновения ингибиторов при использовании препаратов различных типов (табл. 14).

Таблица 14. Относительный риск (RRa) возникновения ингибиторов при лечении тяжелой гемофилии А плазматическими и рекомбинантными концентратами FVIII

| Титр ингибитора | RRa | | <i>p</i> |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|----------|
| | плазматический FVIII | рекомбинантный FVIII | |
| Все ингибиторы (титр $\geq 0,6$ БЕ) | 1,0 | 2,4 | 0,049 |
| Высокий (>5 БЕ) | 1,0 | 2,6 | 0,157 |
| Высокий (>5 БЕ) и/или ИИТ | 1,0 | 3,2 | 0,045 |

Как видно из данных, представленных в табл. 14, у пациентов, получавших рекомбинантные препараты FVIII, риск развития ингибиторов был в 2,4–3,2 раза выше, чем у пациентов, которых лечили плазматическим препаратом, содержащим vWF.

Таким образом, в данном многоцентровом сравнительном ретроспективном исследовании были обобщены данные по развитию ингибиторной формы гемофилии А у сравнительно большого числа пациентов. Показано, что существует прямая связь между типом препарата FVIII и частотой развития ингибиторов. Установлено, что при назначении рекомбинантных препаратов FVIII имеется больший риск развития ингибиторной формы гемофилии А.

Полученные результаты авторы объясняют следующими **различиями плазматических и рекомбинантных препаратов**.

1. Плазматические препараты обладают иммуномодулирующей активностью и содержат vWF. Иммуномодулирующая активность связана прежде всего с наличием в препарате трансформирующего фактора роста β (TGF- β — transforming growth factor beta). Помимо TGF- β , в плазматических продуктах содержатся и другие цитокины, обладающие иммуномодулирующими свойствами. vWF защищает FVIII от антител к нему (*Behrman M. et al.*, 2002; *Goudemand J. et al.*, 2006). Это происходит за счет связывания vWF с доменом C2 молекулы FVIII, который наиболее часто является мишенью ингибиторов.

2. Рекомбинантные препараты обладают по сравнению с плазматическими гораздо более высокой аффинностью к фосфолипидам, что коррелирует с повышением частоты образования ингибиторов.

3. Было установлено, что около 25% молекул FVIII в рекомбинантных продуктах не способны связываться с молекулами vWF больного, что приводит к сильному иммунному ответу на данные препараты.

Выявление высокого титра ингибиторов может явиться основанием для назначения плазматических препаратов FVIII с vWF с целью достижения иммунной толерантности у пациентов с ингибиторной формой гемофилии А.

Лечение больных ингибиторной гемофилией в РФ проводится в соответствии с «Протоколом ведения больных. Гемофилия». Предусмотрены следующие два принципа терапии.

1. Остановка кровотечения:

1) инфузия повышенных доз (в 2,5–3 раза выше обычных) концентратов FVIII/IX при титре ингибитора <5 БЕ;

2) использование препаратов шунтирующего действия при любом титре ингибитора, в том числе и низком:

- эптаког альфа (активированный) (Коагил-VII, НовоСэвен) 90–120 мкг/кг каждые 2–3 ч или 270 мкг/кг однократно;
- антиингибиторный коагулянтный комплекс (ФЕЙБА) 75–100 Ед/кг каждые 12 ч;
- факторы свертывания крови II, IX, X в комбинации (Уман Комплекс) 75 МЕ/кг каждые 12 ч.

2. Элиминация ингибитора: индукция иммунной толерантности (ИИТ).

Лечение пациентов с ингибиторной формой гемофилии в РФ, по данным ГНЦ Минздравсоцразвития России (сентябрь 2010 г.), проводится в виде домашнего лечения эптаког альфа (активированным) у 54% больных, ИИТ — у 24% больных и другими видами терапии — у 22% больных (Зозуля Н.И., 2010).

Основными протоколами ИИТ являются следующие.

- **Боннский протокол**, предусматривающий при высоком титре (≥ 5 БЕ) 100–150 МЕ FVIII/кг каждые 12 ч, при низком титре (< 5 БЕ) — 50–100 МЕ FVIII/кг ежедневно или через день. При кровотечении использование rFVIIa 90–120 мкг/кг каждые 2 ч или ФЕЙБА 50–100 Ед/кг до купирования геморрагического синдрома.
- **Мальмё протокол**, предусматривающий экстракорпоральную иммуноадсорбцию протеином А, иммуносупрессивную терапию (циклофосфан, преднизолон), FVIII в нейтрализующей дозе и дозе обеспечения гемостаза (40–100%), внутривенный иммуноглобулин G.
- **Ван Крефельд (Van-Creveld)** протокол (низкодозный), предусматривающий введение 25 МЕ FVIII/кг каждый день.

Таблица 15. Эффективность элиминации ингибиторов в результате применения различных протоколов ИИТ

| Протокол ИИТ | Критерии эффективности терапии | Эффективность элиминации ингибиторов, % |
|-----------------------|--|---|
| Боннский протокол | – элиминация ингибиторов; – нормальный период полувыведения FVIII; – нормальный FVIII-recovery | 91–100 |
| Протокол Мальмё | – нормальный период полувыведения FVIII; – нормальный FVIII-recovery | 62,5 |
| Протокол Ван Крефельд | – титр ингибиторов < 2 БЕ; – FVIII-recovery: 50% от нормального значения; – период полувыведения > 6 ч | 87 |

Следует отметить, что сравнительная оценка эффективности различных протоколов ИИТ (табл. 15) очень сложна. Причинами этого являются небольшое число включенных в исследования пациентов (низкая статистическая достоверность), различные критерии эффективности, разный анамнез у отдельных пациентов (критерии включения/исключения из исследования), большое число использованных в исследованиях концентратов FVIII при сравнительно небольшом числе пациентов. Необходимо учесть, что использование протокола Мальмё в основном описано у пациентов, имеющих ингибиторы в течение длительного времени. Он не является терапией выбора для детей после первого обнаружения ингибиторов. Средство выбора для элиминации ингибиторов FVIII у детей — Боннский протокол, если это позволяют экономические условия.

Трудности в проведении ИИТ заключаются в необходимости ежедневного лечения больного в течение 2–36 мес и значительных расходах на лечение. Наряду с интенсивностью иммунной реакции на введенный экзогенный FVIII, существует **ряд факторов, влияющих на эффективность ИИТ:**

- титр ингибиторов в начале ИИТ: при титре ингибитора ≥ 50 БЕ вероятность успеха только 13%, при титре ингибитора ≤ 10 БЕ уже 69%. Средняя продолжительность до успешного окончания ИИТ также зависит от титра ингибитора: при титре ≥ 10 БЕ — 21,7 мес, при ≤ 10 БЕ — 14,4 мес;
- промежуток времени между первым обнаружением ингибитора и началом ИИТ (прогноз при длительной задержке начала лечения ухудшается);
- схема дозирования FVIII (см. ниже);
- возраст пациентов (более молодые пациенты, как правило, имеют лучший прогноз);
- прерывание ИИТ и инфекционные проблемы (инфекции в месте установки центрального катетера) как отрицательный прогностический параметр;
- тип используемого для проведения ИИТ концентрата фактора (с vWF или без него).

Последнее положение интенсивно обсуждается в течение ряда лет. В некоторых исследованиях показано, что при применении препаратов, содержащих vWF, даже у пациентов с плохим прогнозом можно достичь иммунной толерантности (Kreuz W. et al., 2001; Gringeri A. et al., 2005).

Отрицательными прогностическими параметрами для пациентов являются:

- возраст старше 6 лет;
- начало ИИТ спустя более чем 1 год после обнаружения ингибитора;
- титр ингибитора >200 БЕ в анамнезе;
- титр ингибитора к моменту начала ИИТ >10 БЕ;
- неудача предшествующей ИИТ другим препаратом FVIII.

Зависимость успеха индукции иммунной толерантности от типа применяемого препарата FVIII

Достижение иммунной толерантности по Боннскому протоколу зарекомендовало себя как наиболее удачный режим терапии для элиминации ингибиторов. Однако в течение более 20 лет применения этого протокола эффективность данной терапии менялась с течением времени и была не в последнюю очередь связана с модернизацией препаратов FVIII. Так, при использовании до 1990 г. препаратов FVIII со средней степенью очистки, содержащих vWF, успех терапии составлял 90%. В последующие 9 лет, в период с 1990 по 1999 г., для достижения иммунной толерантности начали использовать высокоочищенные плазматические и рекомбинантные препараты FVIII без vWF, и процент успеха значительно снизился. Исходя из этого негативного опыта, некоторые большие центры гемофилии в Германии в последние 3–4 года вновь перешли на применение плазматических продуктов с vWF при сокращении использования рекомбинантных препаратов FVIII, что привело к уменьшению числа неудач ИИТ.

В табл. 16 обобщены результаты, полученные в центрах гемофилии Бонна и Бремена (Германия).

Таблица 16. Эффективность ИИТ в зависимости от типа продукта FVIII в центрах гемофилии Бонна и Бремена (Германия)

| Параметр | Период | | |
|--|--|--|---|
| | до 1990 г. | 1990–1999 гг. | с 1999 г. |
| Количество пациентов с ингибиторной формой гемофилии А | 51 | 29 | 42 |
| Примененный препарат | Средней степени очистки (содержащий vWF) | Плазматический препарат высокой очистки + рекомбинантный (без vWF) | Препарат, содержащий vWF, + рекомбинантный препарат FVIII |
| Успех ИИТ, % | 86 | 55 | 43 (рекомбинантный FVIII) 82 (плазматический FVIII) |
| Неудача ИИТ, % | 14 | 44 | 57 (рекомбинантный FVIII) 18 (плазматический FVIII) |

W. Kreuz и соавт. выявили тенденцию снижения эффективности ИИТ после 1990 г. с 91 до 29% (табл. 17).

Прежде всего это было связано с внедрением в терапевтическую практику препаратов FVIII, не содержащих vWF. У ряда пациентов, получавших в процессе ИИТ рекомбинантные или плазматические концентраты FVIII без vWF, достичь иммунной толерантности удалось только при замене на препарат, содержащий vWF (Гемоктин). В этих проблемных случаях успешный ответ был достигнут у 8 из 10 пациентов, так что процент успешного ответа на терапию вновь возрос и составил 88%.

Таблица 17. Эффективность ИИТ, проводимой в центре гемофилии Франкфурта-на-Майне (Германия) в различные периоды

| Период, год | Тип концентрата FVIII | Пациенты с завершенной ИИТ-терапией | Успешный ответ на терапию, % |
|-------------|--|-------------------------------------|------------------------------|
| 1979–1993 | Плазматические FVIII (с vWF) | 19/21 | 91 |
| С 1993 | Плазматические FVIII (с vWF) | 2/2 | 100 |
| | FVIII высокой очистки (без vWF), например рекомбинантный FVIII | 4/14 | 29 |
| | Переход на плазматические FVIII с vWF | 8/10 | 80 |
| Всего | | 14/16 | 88 |

Сходные результаты были получены при более позднем ретроспективном анализе результатов ИИТ с использованием Гемоктина у 10 пациентов с высоким титром ингибитора в различных медицинских центрах Германии. При этом, как правило, речь шла об ИИТ второй линии после неудачи первого курса другими концентратами FVIII (*Bidingmaier C. et al., 2007*).

У большинства этих больных был определен тип мутации. В соответствии с Боннским протоколом всем больным проводилась ИИТ Гемоктином, причем причины перевода пациента на Гемоктин были различны. Так, в пяти случаях ИИТ была начата с применением концентрата рекомбинантного FVIII, но у 1 пациента развилась аллергическая реакция, а у 4 больных ИИТ оказалась неэффективной.

Полная ремиссия после проведения ИИТ (отсутствие ингибитора, нормализация восстановления и периода полужизни FVIII) была достигнута у 9 из 10 больных в течение 11 мес. В одном случае была достигнута неполная ремиссия (неопределенный титр ингибиторов, период полужизни и восстановление были близки к нормальным значениям).

На рис. 17 представлена схема ИИТ с применением препарата Гемоктин с самого начала лечения больного ингибиторной гемофилией с инверсией интрана 22, а на рис. 18 — схема лечения более сложного случая: начало терапии рекомбинантным FVIII и далее переход на Гемоктин из-за неэффективности предшествующего лечения.

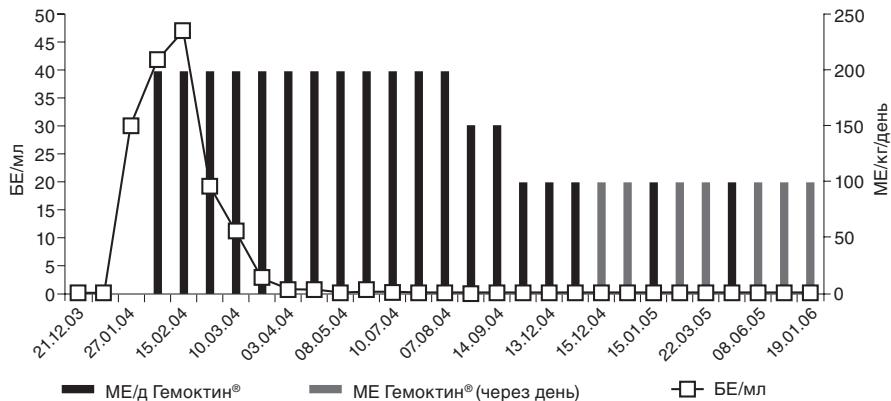


Рис. 17. ИИТ препаратом Гемоктин у пациента с ингибиторной гемофилией и инверсией интрана 22

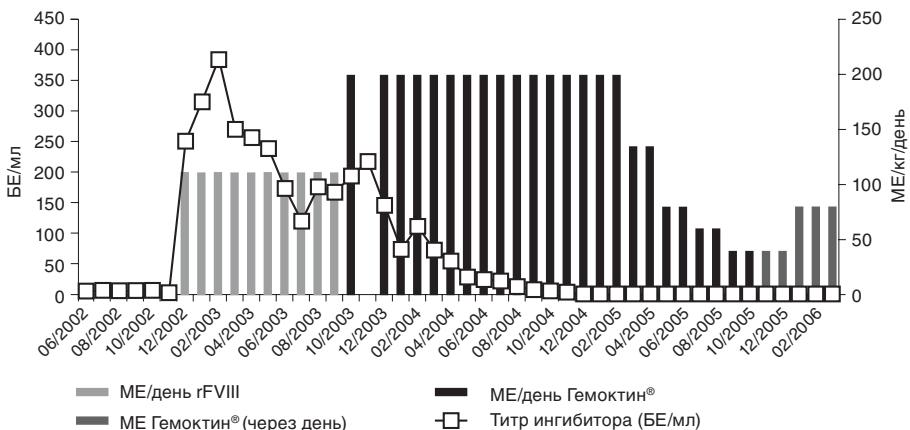


Рис. 18. ИИТ изначально рекомбинантным FVIII, а затем препаратом Гемоктин из-за неэффективности предыдущей терапии

Схема дозирования FVIII в Боннском протоколе

Схемы дозирования FVIII и препаратов с шунтирующей активностью различаются в зависимости от типа ингибиторов (высоко или низко реагирующие пациенты) и возраста (дети или взрослые). В табл. 18 и 19 представлены схемы дозирования FVIII с целью элиминации ингибиторов, в табл. 20 — схемы терапии острых кровотечений.

Таблица 18. Схема дозирования при ИИТ по Боннскому протоколу для детей

| Тип ингибитора | Дозирование FVIII |
|------------------------------------|---|
| Высокореагирующие пациенты (>5 БЕ) | 100–200 МЕ FVIII/кг массы тела дважды ежедневно внутривенно до подтверждения отсутствия ингибитора и достижения нормальных значений восстановления и периода полуыведения (и сохранения в течение нескольких месяцев); затем постепенное снижение до профилактической дозы |
| Низкореагирующие пациенты (<5 БЕ) | 50–100 МЕ FVIII/кг массы тела трижды в неделю внутривенно до подтверждения отсутствия ингибитора и достижения нормальных значений восстановления и периода полуыведения; при росте титра ингибиторов доза может быть увеличена до 100 МЕ/кг массы тела ежедневно; если титр возрастет более 5 БЕ, то терапию надо продолжать так, как рекомендовано для высокореагирующих пациентов |

Примечание. При повышенной частоте кровотечений в процессе ИИТ можно применить АКК дважды в день в максимальной дозе 50 Ед/кг массы тела. Профилактику препаратом с шунтирующей активностью следует прекратить после снижения титра ингибиторов до 2 БЕ. Данные 2006 г. показали, что профилактическое введение эптакога альфа (активированного) в дозе ежедневно 90 мкг/кг массы тела тоже эффективно.

Таблица 19. Схема дозирования при ИИТ по Боннскому протоколу для взрослых

| Тип ингибитора | Дозирование FVIII |
|------------------------------------|--|
| Пациенты с сильным ответом (>5 БЕ) | 100–150 МЕ FVIII/кг массы тела дважды ежедневно внутривенно до подтверждения отсутствия ингибитора и достижения нормальных значений восстановления и периода полуыведения (и сохранения в течение нескольких месяцев); затем постепенное снижение до профилактической дозы |
| Пациенты со слабым ответом (<5 БЕ) | Элиминающая терапия не проводится; доза FVIII как при профилактической терапии |

Примечание. При повышенной частоте кровотечений в процессе ИИТ можно применить АКК-комплекс дважды в день в максимальной дозе 50 Ед/кг массы тела. Профилактику препаратом с шунтирующей активностью следует прекратить после снижения титра ингибиторов до 2 БЕ. Данные 2006 г. показали, что профилактическое введение эптакога альфа (активированного) в дозе ежедневно 90 мкг/кг массы тела тоже эффективно.

Таблица 20. Терапия кровотечений в процессе ИИТ

| Тип ингибитора | Терапия кровотечений |
|-------------------------------------|--|
| Пациенты высоко-реагирующие (>5 БЕ) | AKK: начальная доза 100 ЕД/кг массы тела; поддерживающая доза максимально дважды 100 ЕД/кг массы тела в день. Эптаког альфа (активированный): 90–120 мкг/кг массы тела каждые 2 ч (например, 2–3 введения до остановки кровотечения) |
| Пациенты низко-реагирующие (<5 БЕ) | – Концентрат FVIII до достижения гемостатического эффективного титра. – При необходимости препараты с шунтирующей активностью: AKK, эптаког альфа (активированный), как при лечении высоко реагирующих пациентов |

Практические рекомендации по проведению ИИТ

1. Подготовка к проведению ИИТ

В случае подтвержденного наличия ингибитора следует немедленно начать проведение ИИТ (введение концентрата FVIII в обычной профилактической дозе надо прекратить, чтобы не провоцировать бустерный эффект).

С целью проведения ИИТ с как можно более не осложненным течением следует обратить внимание на следующие аспекты:

- необходимо разъяснить пациенту, родителям и осуществляющему уход персоналу смысл ИИТ, рассказать об организационно-технических сложностях (к этому относится, например, возможность родителя делать инъекции ребенку 3 раза в день) и возможных осложнениях. Важно заручиться адекватным содействием пациента для обеспечения успеха терапии при длительном ее проведении;
- обеспечение хорошей доступности к периферическим венам для ежедневных инъекций FVIII. Если это не может быть обеспечено, то FVIII следует вводить через центральный венозный доступ (порт);
- обеспечение проведения самостоятельного домашнего лечения (наличие необходимого количества концентрата фактора и возможностей его хранения, ведение регулярной документации заместительной терапии, инъекции концентрата через периферические вены или центральный венозный порт, обеспечение асептических условий применения при внутривенном введении через порт);
- наличие и своевременное получение концентрата фактора;
- досягаемость центра гемофилии в случаях экстренной необходимости;

- установление хорошего контакта с региональным врачом-гематологом.

2. Проведение ИИТ

Кровотечения/оперативные вмешательства при ИИТ

При кровотечениях непосредственно перед началом ИИТ можно проводить терапию с помощью описанных в табл. 20 мероприятий. При этом следует учитывать, что при использовании препарата АКК содержащиеся в нем следы FVIII могут обусловить бустерный эффект. В случае если это произойдет, необходимо взвесить возможность применения эптакога альфа (активированного). ИИТ следует проводить препаратом, содержащим vWF, например Гемоктином. Начальная дозировка FVIII приведена в табл. 18 и 19. Важно, чтобы в случае кровотечений и оперативных вмешательств ИИТ последовательно проводилась без прерывания.

Контроль развития ингибиторов при ИИТ

После начала ИИТ следует контролировать титр ингибиторов и активность FVIII в первые 14 дней 1 раз в неделю, затем рекомендуется проводить анализ с интервалом в 2 нед. У низкореагирующих пациентов данные показатели определяют через 24–48 ч после последнего введения фактора FVIII. У высокореагирующих пациентов оба показателя и АЧТВ следует определять через 12 ч после последнего введения FVIII.

В начале терапии ИИТ проведение контроля с небольшими указанными выше интервалами необходимо по следующим причинам:

- мониторинг возможного бустерного эффекта (это может быть решающим для изменения терапии, когда низкореагирующий пациент становится высокореагирующим);
- следует избегать слишком высокого уровня FVIII в случае быстрого снижения титра ингибитора.

3. Течение ИИТ

Процесс ИИТ контролируют путем регулярного определения титра ингибиторов и 12-часовых показателей FVIII (остаточная активность FVIII спустя 12 ч после последнего введения и непосредственно перед следующей инфузией = 12-часовое восстановление). Часто проходит несколько месяцев, пока титр ингибиторов уменьшается ниже значения 2 БЕ (у детей это происходит, как правило, раньше).

Когда этот показатель достигнут, можно провести измерение 30-минутного восстановления.

Дозу FVIII можно постепенно снижать, если:

- показатель 30-минутного восстановления и полуыведение в норме и остается постоянным в течение 2–3 мес;

- показатель 12-часового восстановления в течение 2–3 мес постоянно находится выше 30% FVIII.

После этого дозу снижают самое раннее каждые 2–4 нед на 10% (под контролем 12-часового восстановления).

У взрослых пациентов из-за высокой разовой дозы это не представляет проблемы. У детей при уменьшении дозы следует обратить внимание на следующее: если первая разовая доза составляет 1000 МЕ, то следующая разовая доза может составлять 750 МЕ (т.е., например, надо иметь в запасе упаковки Гемоктина по 250, 500 и 1000 МЕ). Так как в детском возрасте снижение титра ингибиторов происходит стремительно, то необходим регулярный контроль ингибиторов и уровня 12-часового восстановления.

Первое снижение разовой дозы следует проводить вечером, последующие этапы снижения следует чередовать утром и вечером. Если снижение дозы влечет отчетливое снижение 12-часового восстановления или повышение титра ингибиторов, необходимо снова увеличить дозу FVIII.

Если достигается разовая доза 50 МЕ/кг массы тела, то можно заменить двукратное введение в дозе 50 МЕ/кг массы тела на однократное введение в дозе 100 МЕ/кг массы. На этом этапе важно соблюдать суммарную ежедневную дозу. После этого дозу можно постепенно уменьшать до значения 30–50 МЕ/кг массы тела каждые 2 дня.

После достижения дневной разовой дозы 100 МЕ/кг массы (как указано выше) можно измерять полуыведение FVIII (30 мин, 2, 8, 16 и 24 ч после инфузии; без обычного 3-дневного ожидания, как при определении профилактической дозы).

Чего следует избегать при терапии ИИТ?

Чтобы не подвергать опасности успех достижения ИИТ, следует обращать внимание на следующие моменты:

- обязательно должно быть исключено прерывание ИИТ (например, из-за инфицирования в месте введения центрального катетера или недостаточного содействия пациента или отсутствия того же самого препарата FVIII, который используется с начала ИИТ);
- необходимо исключить вакцинацию, так как это приводит к стимуляции иммунной системы;
- необходимо избегать применения иммунодепрессантов (например, кортикостероидов);
- нельзя слишком быстро уменьшать дозу FVIII — это может привести к повторному росту титра ингибиторов;

- после успешного завершения ИИТ следует продолжить обычную заместительную терапию в профилактической дозе тем же самым препаратом. Если препарат по каким-либо причинам меняют на другой, то это может опять привести к появлению ингибиторов, так что титр ингибиторов следует регулярно контролировать (в течение 6 нед каждые 14 дней, затем в течение последующих 3 мес каждый месяц, после этого — ежеквартально).

Таким образом, при начале проведения заместительной терапии необходимо учитывать факторы риска возможного развития ингибитора; необходима своевременная диагностика наличия ингибиторов; при обнаружении ингибитора тактика терапии должна быть изменена у каждого пациента; выбор метода лечения должен быть индивидуальным и обоснованным.

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ ИНГИБИТОРНОЙ ГЕМОФИЛИИ

Плазмаферез

Если кровотечение продолжается, несмотря на активную терапию, возможна более агрессивная терапия в форме экстракорпорального плазмафереза через колонки со стафилококком А, предназначенные для удаления ингибиторных антител IgG. Эта терапия тяжела и может вызвать значительное повышение температуры и гипотензию, вызванную выделением протеина стафилококка А из твердофазного матрикса хроматографических колонок. Однако метод может быть жизнеспасающим средством в безнадежных ситуациях, а его эффективность повышена с помощью сопутствующей терапии концентратами, содержащими FVIII, и/или внутривенным иммуноглобулином.

Экстракорпоральная иммуноабсорбция

Альтернативным плазмаферезу методом является экстракорпоральная иммуноабсорбция для удаления антител к FVIII или FIX. Это выполняется с помощью экстракорпоральной абсорбции антител к протеин-А-сепарозе (*Nilsson I. et al.*, 1984b,c; *Nilsson I., Berntorp E.*, 1990; *Nilsson I.*, 1992). Белок А связывается с фрагментом Fc антител IgG подклассов 1, 2 и 4. Метод эффективен для временного удаления антител даже при наличии их высокого титра и таким образом подготавляет

пациента к заместительной терапии в связи с тяжелыми кровотечениями или предстоящим серьезным оперативным вмешательством. Этот метод применяется также в качестве первого этапа ИИТ у больных с первоначально высокими титрами антител.

Другая методика заключается в специфической иммуноабсорбции для удаления антител. Метод удаления антител к FIX из цельной крови в процессе непрерывного прохождения крови над иммобилизованным FIX был разработан в Центре гемофилии в Мальмё (*Nilsson I. et al.*, 1984). Разрабатывается возможность использования иммобилизированного FVIII (рекомбинантный FVIII) в непрерывной экстракорпоральной системе с цельной кровью, чтобы удалять антитела к FVIII.

ОСОБЕННОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ ХИРУРГИЧЕСКИХ МАНИПУЛЯЦИЙ У БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Сегодня стало возможным проводить все виды хирургических вмешательств у больных гемофилией. Чтобы сделать операции максимально безопасными для больных, необходимо проводить их в условиях специализированных отделений, имеющих опыт лечения больных гемофилией. Особенностью хирургического лечения больных гемофилией является необходимость предоперационной подготовки больного, правильное интраоперационное ведение и поддержка повышенной концентрации в плазме FVIII или FIX в течение 2–4 нед после операции с постоянным мониторингом.

ГЕМОСТАТИЧЕСКОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ОПЕРАТИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ

Гемостатическое обеспечение оперативных вмешательств у больных гемофилией требует решения трех важных вопросов:

- 1) при каких значениях FVIII или FIX в плазме обеспечиваются условия для надежного гемостаза при хирургических вмешательствах различного типа;
- 2) как долго необходимо поддерживать повышенную концентрацию FVIII или FIX в послеоперационном периоде;

3) из чего следует исходить в определении сроков окончания специальной гемостатической терапии, назначенной по поводу хирургического вмешательства.

Наиболее быстро потребление FVIII или FIX в организме больного происходит во время операции и в ближайшие часы после нее, когда полупериод биологической активности ($T/2$), например, FVIII достигает иногда 1,5 ч вместо исходных 6–8 ч. В процессе гемостатической терапии $T/2$ удлиняется до 12–24 ч и при отсутствии кровотечения остается в пределах, близких к средней величине, до полного заживления тканей.

Можно заранее рассчитать, при какой дозе FVIII или FIX концентрация в крови больного будет оставаться в заданных пределах в течение определенного отрезка времени, например 24 ч. На основании этих данных была разработана тактика гемостатической терапии у больных гемофилией, нуждающихся в проведении хирургической операции. Проведение гемостатической терапии осложняется наличием индивидуальной фармакокинетики введенных препаратов у конкретных больных. Это положение обосновало необходимость проведения динамического контроля за содержанием FVIII или FIX в крови больного.

Сопоставление клинических и биохимических данных позволило выделить в гемостатической терапии при хирургических вмешательствах три периода.

Операционный период. Начинается с введения за 30 мин до операции FVIII или FIX в количестве, необходимом для повышения его концентрации в крови больного до избранной величины. Этот период характеризуется значительными колебаниями показателей свертывающей системы крови вследствие стресса и операционной кровопотери и требует наиболее интенсивной гемостатической и гемотрансфузационной терапии.

Ближайший послеоперационный период. Характеризуется напряженiem и нестабильностью процессов гемостаза вследствие преобладания в организме больного катаболических процессов, воспалительных изменений в области операции, усиленного потребления FVIII или FIX в процессе свертывания крови. В зависимости от характера и степени сложности хирургического вмешательства этот период может продолжаться от 1 до 5 дней после операции. Об окончании катаболической фазы свидетельствуют полное прекращение болей в послеоперационной ране, нормализация температуры тела, стойкое удлинение $T/2$ FVIII до 17 ч и более. Эффективность гемостаза в этот период в значительной

степени определяет течение репаративных процессов в поврежденных тканях.

Период выздоровления. Начинается с момента окончания второго периода и продолжается до завершения основных репаративных процессов в поврежденных во время операции тканях. В этом периоде интенсивность гемостатической терапии постепенно снижают.

Исследования показали, что тактика гемостатической терапии во время операции и в катаболической фазе послеоперационного периода может видоизменяться в зависимости от объема и характера хирургического вмешательства.

Выделено четыре категории хирургических вмешательств по степени риска.

Наивысшая категория риска. К операциям такого риска относят:

- радикальное удаление обширных псевдоопухолей таза и конечностей;
- эвакуацию обширных нагноившихся гематом в сочетании с тотальным иссечением грануляционного вала;
- эндопротезирование коленного и тазобедренного суставов и подобные им операции.

Операционная кровопотеря при операциях этого типа составляет от 75 до 200% объема циркулирующей крови (ОЦК) пациента. Надежный гемостаз может быть получен при повышении FVIII во время операции и последующие 5 дней до 70–100%. Поддерживающие дозы факторов вводят в середине, конце операции и в последующем через каждые 12 ч в течение катаболической фазы и через 24 ч в анаболической фазе. Общая длительность терапии 3 нед. На курс лечения требуется 600 МЕ FVIII на 1 кг массы тела больного.

Высокая категория риска. К операциям такого вида относят реконструктивные операции на коленном и тазобедренном суставах, открытую репозицию и открытый остеосинтез диафизарных переломов бедра, плеча, костей голени, удаление расслаивающих забрюшинных гематом и подобные им операции. Величина операционной кровопотери составляет 25–50% ОЦК пациента. Надежный гемостаз достигается при повышении FVIII во время операции и последующие 3 дня (катаболическая фаза) до 50–70%. Поддерживающие дозы антителемоильных препаратов вводят в конце операции, через каждые 12 ч в катаболической фазе и через каждые 24 ч в анаболической фазе. Общая длительность терапии от 2 до 3 нед в зависимости от репаративных особенностей поврежденных тканей. В среднем на курс лечения требуется 500 МЕ FVIII на 1 кг массы тела больного.

Средняя категория риска. К этой группе риска относят операции на голеностопном и локтевом суставах, удаление небольших геморрагических кист и подобные им операции. Операционная кровопотеря, как правило, не превышает 15% ОЦК пациента. Надежный гемостаз может быть получен при повышении FVIII до 25–40% во время операции и последующий день. Поддерживающие дозы факторов вводят через каждые 24 ч, как в катаболической, так и в анаболической фазах послеоперационного периода. Общая длительность гемостатической терапии не превышает 7–10 дней. На курс лечения требуется 300 МЕ FVIII на 1 кг массы тела больного.

Умеренная категория риска. К этой группе риска относят небольшие по объему и малотравматичные операции типа удлинения ахиллова сухожилия и все операции, обычно выполняемые в амбулаторных условиях. Кровопотеря, как правило, не превышает 100–150 мл. Гемостаз достигается при повышении FVIII до 30–40%.

Поддерживающие дозы антигемофильных препаратов вводят через каждые 24 ч в течение всего послеоперационного периода, который составляет 5–7 дней. На курс лечения требуется 170 МЕ FVIII на 1 кг массы тела больного.

В табл. 21 приведены принципы заместительной терапии при тяжелых и легких хирургических вмешательствах у больных с тяжелыми формами гемофилии А и В.

Таблица 21. Принципы заместительной терапии во время различных по тяжести хирургических операций при тяжелой форме гемофилии А и В

| Показатель | Гемофилия А | | Гемофилия В | |
|--|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | тяжелая операция | легкая операция | тяжелая операция | легкая операция |
| В день операции | | | | |
| Желаемый уровень (VIII:C/IX:C), % | 50–150 | 40–50 | 50–150 | 40–50 |
| Первоначальная доза (VIII/IX), МЕ/кг | 50–60 | 25–40 | 60–70 | 30–40 |
| Поддерживающая доза (VIII/IX), МЕ/кг | 25–30 | 20–30 | 30–40 | 20–30 |
| Интервал, ч | 4–6 | 4–8 | 8–12 | 8–12 |
| 2–7-й день после операции | | | | |
| Желаемый уровень (VIII:C/IX:C), % | 40–60 | 30–50 | 40–60 | 30–50 |
| Поддерживающая доза (VIII/IX), МЕ/кг | 20–40 | 15–20 | 30–40 | 15–20 |
| Интервал, ч | 4–8 | 6–12 | 12–24 | 24 |
| 8-й день и далее после операции | | | | |
| Желаемый уровень (VIII:C/IX:C), % | 15–25 | | 15–25 | |
| Поддерживающая доза (VIII/IX), МЕ/кг | 10–15 | | 10–20 | |
| Интервал, ч | 12–24 | | 24–48 | |

При экстракции зуба FVIII или FIX назначают в виде разовой дозы, рассчитанной так, чтобы повысить активность фактора в плазме больного до 50–100% от нормы. Транексамовую кислоту применяют в качестве ингибитора фибринолиза внутривенно в дозе 10 мг на 1 кг массы тела больного перед экстракцией зуба, после чего препарат назначают в таблетках — по 2–3 таблетки по 0,5 г 3 раза в день в течение 1 нед. Дальнейшего дополнительного введения фактора FVIII или FIX не требуется, и больной переводится на обычную терапию.

В случаях легкой формы гемофилии дозировка может быть сокращена в соответствии с исходной концентрацией FVIII или FIX у конкретного больного.

Необходимо подчеркнуть важность длительной послеоперационной заместительной терапии в хирургическом лечении больных гемофилией, которая предупреждает развитие поздних гематом, особенно после тяжелых операций.

ХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ БОЛЬНЫХ С ПОРАЖЕНИЯМИ ОПОРНО-ДВИГАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

Хирургическое лечение больных гемофилией с поражением опорно-двигательного аппарата может быть консервативным, так называемым бескровным хирургическим и оперативным.

Консервативное лечение включает:

- гемостатическую терапию препаратами FVIII или IX при кровоизлияниях и кровотечениях различной локализации и степени тяжести;
- применение нестероидных противовоспалительных средств;
- гипербарическую оксигенацию в лечении осложнений гемофилии.

Бескровные методы ортопедического лечения — это:

- внутрисуставное введение лекарственных препаратов противовоспалительного, антифибринолитического и хондропластического действия;
- химическая синовэктомия (синовиоартез);
- этапные гипсовые повязки.

Оперативное лечение включает:

- открытые методы операций (синовэктомия, артропластика, тотальное эндопротезирование суставов, различные методы открытого остеосинтеза, экстирпация псевдоопухоли и др.);

- эндоскопические (артроскопические) операции (синовэктомия, дебридмент и др.);
- применение дистракционно-компрессионных аппаратов (крепление с помощью спиц и стержней) при поражениях суставов и переломах костей конечностей.

СТОМАТОЛОГИЧЕСКАЯ ПОМОЩЬ БОЛЬНЫМ ГЕМОФИЛИЕЙ

Раньше оказание стоматологической помощи больным гемофилией осуществлялось в стационаре. Как показал опыт работы по организации стоматологической помощи больным гемофилией в Республиканском центре по лечению гемофилии (Российский НИИГТ ФМБА России, Санкт-Петербург), данный вид специализированной помощи может успешно оказываться амбулаторно (*Волокитина Н.В.*, 2010).

Например, в 2009 г. в этом центре стоматологическая помощь амбулаторно была оказана 1383 пациентам с наследственными коагулопатиями (1060 взрослым и 323 детям). Всего было зарегистрировано 4290 посещений, в том числе было выполнено 763 удаления зубов. Из общего количества посещений 1572 посещения пришлось на 302 больных гемофилией.

Хирургическая стоматологическая помощь в Республиканском центре также оказывается амбулаторно. Перед удалением зуба больным гемофилией обязательно вводят концентрат FVIII или FIX (в средней дозе 40 МЕ/кг). Для анестезии применяют местные анестетики. С гемостатической целью широко используют таблетированные препараты транексамовой кислоты, для остановки кровотечений из лунки зуба — фибриновый клей (Тиссукол Кит®, «Бакстер», Австрия), раствор капрофера, гемостатическую губку с гентамицином/канамицином.

Важным является применение профилактических стоматологических программ, включающих:

- плановые осмотры больных гемофилией стоматологом 2 раза в год;
- плановые санации полости рта, которые позволяют снизить риск возникновения серьезной зубной патологии и удаления зубов;
- правильную гигиену полости рта;
- рациональное питание больного;
- курсы поливитаминов и микроэлементов (фтор, кальций, железо).

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ ГЕМОФИЛИИ

Генная терапия как наука появилась в 90-х годах XX в. Основная задача этой науки — введение генетического материала (ДНК или РНК) в клетку, в результате чего меняется ее функция и появляется синтез белка, за который ответствен этот ген. В процессе развития генной терапии исследователям пришлось преодолеть немало трудностей. Как доставить лечебный ген в клетку больного, в клетку какой ткани и органа поместить генетический материал, какова будет реакция иммунной системы организма на внедрение чужеродного гена? Эти и масса других, технических вопросов предстояло решить ученым, занимающимся генной терапией.

Вносимый извне ген (терапевтический) должен обладать некоторыми свойствами. Желательно, чтобы ген был долгоживущим, тогда его можно будет реже вводить больному. Ген должен встроиться в ДНК клетки между уже имеющимися генами, не помешать удвоению ДНК и делению клетки.

Из существующих способов доставки гена в клетку самым эффективным оказался способ доставки терапевтического гена с помощью вирусов. Могут быть использованы различные вирусы: адено-вирусы, ретровирусы, лентивирусы и даже искусственно созданные вирусы. С целью переноса гена было исследовано три типа вирусных препаратов:

- адено-вирусный;
- аденоассоциированный вирус (AAV);
- ретровирусы, классические онковирусы (например, мышиный вирус лейкемии Молони) и лентивирус (например, ВИЧ I типа).

Адено-вирусный препарат

В настоящее время наибольшая эффективность трансдукции (перемещения) генетического материала достигается при помощи адено-вирусных препаратов, однако формирование у реципиента иммунного ответа на эти препараты препятствует их использованию *in vivo*. Иммунный ответ развивается даже в случае использования новых форм — так называемых хелпер-зависящих адено-вирусных препаратов, при конструировании которых от исходного вирусного генома остаются только нуклеотидная последовательность, обеспечивающая обратную транскрипцию, и последовательность, кодирующая процесс «распаковки» вируса (*Chuah M. et al., 2003; Brown B. et al., 2003; Muriuve D., 2004*).

При введении препарата развивается иммунная тромбоцитопения, достигающая максимума в течение 24–48 ч после введения, и появляются признаки гепатотоксичности. В дальнейшем может развиться системный воспалительный синдром, который в конечном счете приведет к смерти (Raper S. et al., 2003). Поэтому, пока не разработаны методы для уменьшения или устранения острого токсического эффекта введения аденоовируса, для этого типа препаратов не могут быть начаты клинические испытания, в том числе и для переноса гена гемофилии *in vivo*.

Аденоассоциированный вирусный препарат

AAV — непатогенный, стабильный вирус маленького размера, против которого большинство людей не защищено. Этот вирус содержит внутри только два собственных гена, кодирующих синтез белка и белковой оболочки. Эти непатогенные парвовирусы позволили дойти до клинических испытаний, в том числе и для переноса гена гемофилии, например, хороший эффект получен при переносе препаратом AAV2 трансгена FIX в печень (High K. et al., 2003).

Фирма «Avigen» решила использовать модифицируемую форму этого вируса для транспортировки терапевтического гена в ДНК клетки-мишени.

Интересная идея возникла и была реализована фирмой «Avigen»: при разработке векторной системы для генной терапии на основе AAV оба вирусных гена были удалены и заменены нужным терапевтическим геном. Это сделало риск иммунной реакции минимальным.

Оказалось, что векторная система доставки AAV компании «Avigen» способна доставлять гены в клетки разнообразных тканей, включая мышцы, печень, кожу и др. Особенно удобно введение в мышцу, так как может быть сделано обычным шприцем. Терапевтический ответ после однократного введения зависел от дозы и максимально продолжался до 18 мес.

Вирусная безопасность примененной векторной системы AAV определяется:

- применением непатогенного вируса;
- удалением из этого вируса собственных генов;
- отсутствием вирусных компонентов в производстве.

Ученые компании «Avigen» и Детской больницы в Филадельфии разработали генно-терапевтический метод (рис. 19) для лечения гемофилии В с использованием однократной внутримышечной инъекции вектора AAV, содержащего ген FIX. Сначала опыты проводили на мышах,

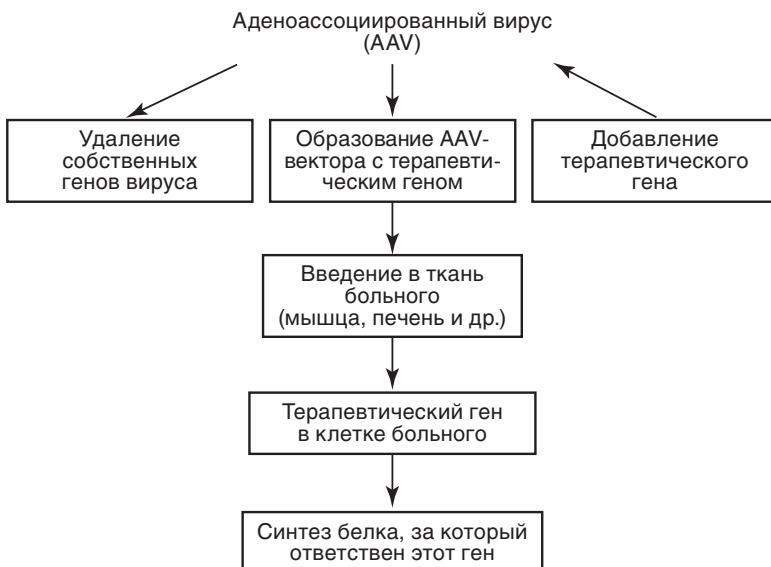


Рис. 19. Схема экспериментальной генной терапии гемофилии

а затем и на более крупных животных — собаках. В результате работы был получен эффект у экспериментальных животных с гемофилией В. Максимальное время эффективности такого лечения было 9 мес при отсутствии токсичности. Это послужило основанием для проведения клинических испытаний.

Препарат для лечения гемофилии В генным способом получил название «Coagulin-B». После получения соответствующих разрешений начались клинические испытания препарата Coagulin-B. Сначала препарат вводили внутримышечно, но эффект был кратковременным и иногда требовалось довольно много внутримышечных инъекций. Затем было получено разрешение на проведение клинического испытания препарата, адаптированного для введения в печень через печеночную артерию. Увеличение активности FIX было отмечено при любых способах доставки гена, но именно при введении в печень был достигнут терапевтический уровень (10%).

В 1999 г. Avigen совместно со Школой медицины Стенфордского университета и Детской больницей Филадельфии начали первое клиническое испытание на людях. Было отобрано 9 человек, которых разделили на три группы по вводимой дозе препарата. Таким образом, была

доказана безопасность малых доз препарата, и ученые перешли к введению больших доз. У больных удалось получить выработку FIX, действие препарата было кратковременным, о серьезных побочных действиях не сообщалось. Позднее было показано, что потеря выработки FIX, вероятно, связана с клеточным иммунным ответом, направленным против белков капсида вируса, находящихся на поверхности преобразованных гепатоцитов (*Mingozzi F. et al.*, 2005).

К большому сожалению, компании «Avigen» не удалось решить проблему продолжительного действия препарата. В мае 2004 г. было принято решение о прекращении клинического испытания. Компания изменила направление научных исследований: она прекратила работу с гемофилией и начала работать только с неврологическими болезнями. Компания достигла в разработке генной терапии гемофилии определенных результатов, и можно надеяться, что эти достижения помогут другим исследователям.

Ретровирусные препараты

Ретровирусы изучаются в контексте генной терапии уже более 25 лет. Первоначально в экспериментальных работах по лечению гемофилии А у мышей использовались оригинальные онкоретровирусные препараты (*Van den Driessche T. et al.*, 1999). В настоящее время существует повышенный интерес к развитию лентивирусных препаратов, благодаря эффективной трансфекции (введению нуклеиновой кислоты) в непролиферирующие клетки, включая стволовые клетки и гепатоциты (*Zufferey R. et al.*, 1997; *Capowski E. et al.*, 2007). Значительным преимуществом этих векторных конструкций является эффективное включение в геном реципиента, хотя это же их свойство определяет и побочные эффекты.

Причины неудач генной терапии гемофилии тщательно анализируются, и намечаются пути их преодоления.

Несмотря на некоторый успех генной терапии как гемофилии В, так и гемофилии А на большинстве животных моделей, для возможности использования их в клинической практике необходимо решить несколько проблем.

Наиболее сложная проблема, с которой столкнулась генная терапия гемофилии, — это формирование иммунного ответа реципиента на генный перенос. Как указывалось выше, выраженные иммунные реакции на аденоизирусные частицы, по крайней мере в настоящее время, привели к прекращению дальнейших испытаний этих препаратов.

Возможные решения этой проблемы сейчас исследуют как в доклинических, так и в I/II фазе клинических исследований. Эти решения будут включать использование кратковременной иммуносупрессивной терапии на период в несколько недель до и после введения препарата и исследование возможности использования других серотипов препарата, которые ранее не были связаны с инфекциями у людей (*Gao G. et al.*, 2005). До настоящего времени большинство доклинических исследований трансфекции гена гемофилии с препаратором AAV использовали серотип AAV2. Однако при меньшей иммуногенности этот препарат обладал и меньшей устойчивостью в макроорганизме (*Gao G. et al.*, 2006). Исследования препараторов на основе серотипов AAV7 и AAV8 показали хорошие результаты при трансфекции гена FVIII в гепатоциты (*Sarkar R. et al.*, 2004; *Wang L. et al.*, 2005), поэтому предстоящая клиническая оценка этих препараторов у людей с гемофилией ожидается с большим интересом.

Кроме иммунного ответа на систему доставки, организм реципиента отвечает и на сам секретируемый трансгенный продукт, что также является ограничением эффективного использования генной терапии гемофилии (*Brown B. et al.*, 2002). В настоящее время предложены некоторые пути преодоления этой проблемы. Во-первых, выбор пациента с «иммунотolerантным» генотипом гемофилии, то есть длительной предшествующей терапии экзогенными факторами без развития ингибитора, минимизирует риск выработки ингибиторов и на продукт трансгена. Во-вторых, необходимо выбирать такой препарат для генного переноса, который минимально попадает в клетки иммунной системы, например, трансгенная доставка в печень может способствовать устойчивости к трансгенному продукту (*Mingozzi F. et al.*, 2003). Кроме того, могут быть использованы те же приемы, что и при преодолении развития ингибиторных форм гемофилии (*Rawle F. et al.*, 2004; *Cao O. et al.*, 2005; *Ragni M. et al.*, 2005).

Кроме развития иммунного ответа к компонентам генной конструкции, проблему представляет и жизнеспособность, то есть длительность жизни внедренного гена *in vivo*. Пока она остается недостаточной. Тем не менее перспектива развития исследований в области лечения генетически детерминированных заболеваний очевидна и продолжается многими исследовательскими группами.

ГЛАВА 7

Восстановительная терапия и наблюдение больных гемофилией

ЛЕЧЕБНАЯ ГИМНАСТИКА ДЛЯ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Гемофилия — болезнь, затрагивающая в том числе и опорно-двигательный аппарат больного. Из-за частых гемартрозов особенно страдают суставы больных гемофилией. В комплексном лечении больного гемофилией большое значение имеет лечебная гимнастика, основной задачей которой является восстановление функции суставов. Важно, что занятия физическими упражнениями мобилизуют волю больного гемофилией, вселяют в него веру в свои силы и возможности, благотворно влияют на сердечно-сосудистую систему и, главное, способствуют восстановлению функции суставов, повышая качество жизни больного.

Лечебная гимнастика может применяться в повседневной жизни больного гемофилией и в послеоперационном периоде после хирургических операций, в том числе тотального эндопротезирования суставов.

Основным требованием является обязательная консультация врача-специалиста по лечебной физической культуре (ЛФК). В дальнейшем занятия могут проходить под наблюдением методиста по ЛФК или самостоятельно.

В настоящее время возможности проведения лечебной гимнастики значительно расширились благодаря внедрению различных тренажеров.

В повседневной жизни больному гемофилией разрешается выполнять комплекс упражнений, заниматься на тренажерах и посещать бассейн. Упражнения должны быть регулярными, выполняться 1 раз в день. При выполнении упражнений необходимо следить за осанкой и дыханием. Наличие кровотечений и болей в суставах является противопоказанием к проведению лечебной гимнастики, которая должна быть остановлена и может быть возобновлена только через 2–3 дня лечения. Ниже приводится комплекс упражнений, разработанный Р.О. Осиповой — методистом по ЛФК Отделения реконструктивно-восстановительной ортопедии для больных гемофилией ГНЦ Минздравсоцразвития России. Упражнения могут выполняться как без отягощения, так и с отягощением. Применение комплекса упражнений показало высокую эффективность.

Комплекс упражнений для больных гемофилией

Упражнение 1. Лежа на спине или сидя напрягать четырехглавые мышцы обеих ног. Ритмично 100–120 раз. Затем быстро по 10 раз с отдыхом 5 с, всего 100–120 раз. Затем напрячь четырехглавые мышцы и оставаться в статическом положении 5 с, расслабить на 5 с, повторить 50 раз.

Упражнение 2. Лежа на спине проводить сгибание-разгибание пальцев рук и ног одновременно. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 3. Лежа на спине проводить сгибание-разгибание стоп и кистей рук одновременно. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 4. Лежа на спине проводить круговые вращения стопами и кистями одновременно по 5 раз в каждую сторону. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 5. Лежа на спине сгибать и разгибать ноги в коленных суставах попеременно в левой и правой ноге. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 6. Лежа на спине попеременно поднимать вытянутые ноги. Руки вдоль туловища или за головой. Выполняется 10–20 раз каждой ногой.

Упражнение 7. Лежа на правом боку отводить левую ногу вверх не касаясь правой ноги. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 8. Лежа на левом боку отводить правую ногу вверх не касаясь левой ноги. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 9. Лежа на правом боку приподнять прямую левую ногу на 20–30 см от пола. Присоединить к левой ноге правую. Удерживать обе ноги вместе в течение 3 с. Опустить обе ноги.

Упражнение 10. Лежа на левом боку приподнять прямую правую ногу на 20–30 см от пола. Присоединить к правой ноге левую. Удерживать обе ноги вместе в течение 3 с. Опустить обе ноги.

Упражнение 11. Лежа на спине, руки за головой, одновременно разводить ноги в стороны скользящими движениями по коврику. Выполняется 20–30 раз.

Упражнение 12. Лежа на животе попеременно поднимать вверх прямые ноги. Выполняется 20 раз каждой ногой.

Упражнение 13. Лежа на животе отжиматься от пола с выпрямлением рук и прогибанием туловища. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 14. Лежа на спине и держа руки за головой сесть-лечь 10–20 раз.

Упражнение 15. Лежа на спине и держа руки за головой приподнять обе сомкнутые ноги и удерживать над полом на расстоянии 10–20 см в течение 5 с. Выполняется 5–10 раз.

Упражнение 16. Лежа на спине и держа руки за головой сомкнутыми приподнятыми над полом ногами описывать окружности в одну и другую сторону. Выполняется до предела возможностей больного.

Упражнение 17. Лежа на животе с помощью рук, изначально согнутых в локтях, отжиматься от пола. Выполняется до предела возможностей больного.

Упражнение 18. Лежа на животе, руки вдоль туловища. Одновременно отрывать руки и ноги от пола. Удерживать 5 с. Вернуться в исходное положение. Выполняется 5–10 раз.

Упражнение 19. Лежа на спине на вдохе обхватить одно колено руками и максимально привести его к грудной клетке. Другая нога прямая. Удерживать ногу 5 с. Вернуть ногу в исходное положение с одновременным выдохом. Выполняется 5–10 раз каждой ногой.

Упражнение 20. Сидя на полу с выпрямленными ногами руки вытянуть вперед. На выдохе наклониться вперед и коснуться пальцами рук кончиков пальцев ног. Зафиксировать эту позу на 5 с. На выдохе вернуться в исходное положение. Выполняется 5–10 раз.

Упражнение 21. Лежа на спине с согнутыми в коленях ногами и ступнях на полу (руки скрещены на грудной клетке) на вдохе поднять нижнюю часть туловища, прогнувшись в пояснице как можно выше. Удерживать это положение 5 с. На выдохе вернуться в исходное положение. Выполняется 5–10 раз.

Упражнение 22. Лежа на спине вытянуть ноги вперед, руки скрестить перед грудью. Медленно на вдохе переводить скрещенные руки за голову. Вернуться в исходное положение на выдохе. Выполняется 10 раз.

Упражнение 23. Лежа на правом боку согнуть в колене правую ногу. Совершать левой вытянутой ногой движения вперед-назад. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 24. Лежа на левом боку согнуть в колене левую ногу. Совершать правой вытянутой ногой движения вперед-назад. Выполняется 10–20 раз.

Упражнение 25. Сидя на полу с прямыми ногами взяться руками за ступню ноги и постараться поднять ногу вверх максимально разогнув коленный сустав. Выполняется 5–10 раз для каждой ноги.

После 2–3 нед занятий при хорошей переносимости упражнений можно применить отягощение. Такие упражнения способствуют дальнейшему укреплению мышц, улучшают деятельность сердечно-сосудистой системы. Приведенный выше комплекс упражнений (с 1-е по 24-е упражнение) выполняется больным с накладками на руки и ноги массой 0,5 кг. Увеличивать массу накладок до 1 кг можно через 1–2 нед при хорошей переносимости больным упражнений данного комплекса.

Очень важной задачей является реабилитация больных гемофилией после выполнения им тотального эндопротезирования суставов: тазобедренного, коленного, локтевого.

В качестве примера ниже приводится комплекс ЛФК для реабилитации больного после тотального эндопротезирования тазобедренного сустава, также разработанный Р.О. Осиповой.

Комплекс упражнений начального периода

При выполнении комплекса упражнений начального периода необходимо соблюдать следующие принципы, позволяющие дозировать нагрузку:

- лучше заниматься на фоне гемостатической терапии, так как это безопаснее;
- любое упражнение следует начинать со здоровой ноги;
- поднимать оперированный сустав с помощью методиста;
- не сгибать бедро под углом более 90° по отношению к телу;
- не скрещивать ноги;
- расслабляться после каждого упражнения.

1–3-й день занятий

Упражнение 1. Лежа на спине одновременно сгибать и разгибать пальцы обеих ног. Выполняется 15–20 раз.

Упражнение 2. Лежа на спине одновременно сгибать и разгибать стопы обеих ног. Выполняется 15–20 раз.

Упражнение 3. Лежа на спине совершать круговые движения стопами. Выполняется 5 раз в одну и 5 раз в другую сторону.

Упражнение 4. Лежа на спине поочередно сгибать и разгибать ноги в коленных суставах. Пятки не отрываются от постели. Начинать со здоровой ноги. Выполняется 10–15 раз.

Упражнение 5. Лежа на спине поочередно поднимают прямые ноги. Начинать со здоровой ноги. Возможна помощь методиста. Выполняется 10 раз.

Упражнение 6. Лежа на спине поочередное отведение ног в стороны. Возможна помощь методиста. Выполняется 10 раз.

Упражнение 7. Лежа на спине напрягают и расслабляют четырехглавую мышцу одновременно обеих ног. Выполняется 50–100 раз. Повторять многократно в течение дня.

Упражнение 8. Лежа на спине напрягают мышцы передней поверхности бедра одновременно на обеих ногах. Выполняют 20 раз. Повторять многократно в течение дня.

Упражнение 9. Лежа на спине напрягать мышцы передней поверхности бедра одновременно на обеих ногах. Выполняется 20 раз. Повторять многократно в течение дня.

Упражнение 10. Лежа на спине отводить в стороны и сводить прямые ноги без отрыва пяток от постели. Выполняется 10 раз.

Упражнение 11. Сидя на кровати оперированную ногу опустить на подставку. Это положение сохранять 10–15 мин. Выполняется 2–3 раза в день.

Упражнение 12. Встать с помощью методиста с опорой на ходунки или костыли.

3–7-й день занятий

Упражнение 1. Стоя боком к стулу или ходункам и держась рукой за них поднимать колено вверх, сгибая тазобедренный сустав под углом не более 90°. Выполняется 10–15 раз.

Упражнение 2. Стоя боком к стулу или ходункам и держась рукой за них совершать маятникообразные движения ногой вперед–назад. Выполняется 15–20 раз.

Упражнение 3. Стоя боком к стулу или ходункам и держась рукой за них отводить и приводить ноги в сторону. Выполняется 10 раз.

Упражнение 4. Ходьба на костылях. Поставить два костыля вперед. Подтянуть оперированную ногу вперед до линии костылей, после чего поставить здоровую ногу вперед до линии костылей.

Комплекс упражнений основного периода

С помощью выполнения комплекса упражнений основного периода восстанавливается активная подвижность сустава. Для этого применя-

ются активные и пассивные движения с возрастающей нагрузкой. Этот период считается тренировочным, и в основном упражнения проводятся на тренажерах. Упражнения комплекса основного периода выполняются многократно, до уставания больного.

Комплекс упражнений заключительного периода

Основная цель этого комплекса — восстановление мышц, окружающих сустав, и двигательных навыков в оперированном суставе.

Обучение навыку ходьбы. Вырабатываются элементы шага: толчок передним отделом стопы, в конце опорной фазы перенос ноги, вынос голени вперед, опора на пятку, перекат.

Обучение ходьбе по лестнице. При ходьбе вверх и при ходьбе вниз.

Рекомендации при выписке больного из клиники

Заниматься лечебной физкультурой необходимо 1 раз в день, постепенно увеличивая нагрузку.

Костыли, две трости или ходунки следует использовать минимум 3 мес после операции.

После 3 мес можно использовать одну трость. Ее необходимо держать с противоположной стороны по отношению к больной ноге.

Шаги должны быть одинаковыми по длине.

Ногу необходимо ставить одновременно с тростью и обязательно на пятку.

Постепенно необходимо увеличивать дистанцию при ходьбе.

Обязательно устраивать периоды отдыха в течение дня.

Увеличение боли в оперированном суставе свидетельствует о возрастании физической активности.

При возникновении острой боли необходимо прекратить всякую активность и обратиться к врачу.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПО УХОДУ ЗА БОЛЬНЫМИ ГЕМОФИЛИЕЙ

Вакцинация

Вакцинация должна проводиться по обычной схеме. Все вновь диагностированные больные гемофилией должны вакцинироваться против гепатита В. После достижения ребенком возраста 6–7 лет рекомендуется проведение прививки против гепатита А. Детей обычно вакцинируют против столбняка, дифтерии, полиомиелита, кори, эпидемического паротита и краснухи. Можно также вакцинировать детей против тубер-

кулеза и коклюша. Детям с гемофилией прививки делают так же, как любым другим, хотя прививку от столбняка следует делать под защитой заместительной терапии, потому что вакцина оказывает местное раздражающее действие. У детей, больных гемофилией, с низкой активностью фактора (менее 3%) перед инъекцией необходимо однократно ввести концентрат FVIII или FIX в дозе 10–20 МЕ/кг массы тела больного. Вакцинация, которая может потребоваться для поездки за границу, проводится обычным способом, но следует помнить, что гамма-глобулин нельзя вводить внутримышечно. Нет никаких ограничений для проведения реакции Манту и других внутрикожных проб.

Лечение других заболеваний

Консервативное лечение других заболеваний у пациентов с гемофилией проводится без каких-либо особенностей. Однако некоторые препараты отрицательно влияют на процесс гемостаза и при гемофилии противопоказаны или должны назначаться с осторожностью. Больным гемофилией нельзя назначать препараты, содержащие ацетилсалициловую кислоту, отрицательно действующую на систему гемостаза, ингибируя функцию тромбоцитов. Для снятия боли можно рекомендовать препараты, содержащие парацетамол. В некоторых случаях могут быть полезны противовоспалительные нестероидные препараты (ибупрофен и напроксен). Кроме того, следует избегать плазмозамещающих растворов, содержащих декстран, так как декстран отрицательно влияет на функцию тромбоцитов, FW и фибриноген (*Aberg M. et al.*, 1978). При необходимости внутримышечных инъекций обязательно проводится предварительная заместительная терапия.

Посещение детских дошкольных учреждений

Ничто не препятствует больному гемофилией ребенку посещать детский сад. Гемофилия, как и любая хроническая болезнь, естественным образом ведет к некоторой изоляции и излишнему попечительству над ребенком. Посещение детского сада помогает ребенку приобрести навыки социального общения, что положительно влияет на здоровье и побуждает его к активной жизни. Персонал дошкольного учреждения, в том числе медицинский (медицинская сестра, врач дошкольного учреждения), должен знать о заболевании ребенка и иметь выписку с рекомендациями лечащего врача.

Образование

Ребенок, больной гемофилией, должен закончить обязательный курс школьного обучения. Персонал школы и другие ученики должны знать о болезни ребенка от его родителей или педагогов. Если больной ребенок имеет проблемы с передвижением, в школе необходимо воспитывать дух помощи такому ребенку со стороны здоровых сверстников. Если ребенок получает адекватное профилактическое лечение, то ничего другого по медицинским соображениям не требуется. Следует только координировать профилактическое лечение с расписанием занятий по физкультуре. Консультант по школьному образованию и профессиональному обучению должен быть информирован об ограничениях, налагаемых болезнью на ребенка при выборе профессии.

Физическая активность

Фактически больной гемофилией может проводить свободное время самым обычным образом, но следует избегать видов спорта, которые связаны с возможностью травмы от удара, как, например, бокс, хоккей или футбол, или таких опасных, как горные лыжи или гонка на мотоцикле. Плавание, например, служит превосходным упражнением для мышц и суставов. Больные гемофилией школьники могут участвовать почти во всех видах физической подготовки, проводимой в школе.

ГЛАВА 8

Организация специализированной помощи больным гемофилией

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННАЯ ПОМОЩЬ БОЛЬНЫМ ГЕМОФИЛИЕЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

В РФ специализированная помощь больным наследственными коагулопатиями, в том числе гемофилией, оказывается в федеральных гематологических центрах, созданных при НИИ гематологического профиля, региональных центрах и филиалах, в областных и краевых больницах для взрослых и детей. Международная практика показывает, что идеальной формой наблюдения больных гемофилией является наблюдение в так называемых центрах гемофилии. Однако реализовать подобную систему наблюдения в нашей стране не удается из-за огромной территории, низкой плотности населения в удаленных регионах, редкости заболевания. Поэтому функции динамического наблюдения за больными гемофилией возложены на гематологов регионов и качество помощи больным во многом зависит от их квалификации и знаний. Плановая хирургическая помощь больным гемофилией (все виды операций на суставах, эндопротезирование и др.) оказывается в федеральных центрах, имеющих опыт работы с такими больными.

Медицинская помощь больным гемофилией является дорогостоящей и требует грамотного обоснования с уч-

том частотных характеристик, количества наблюдаемых больных и их состояния. Кроме того, необходима объективная оценка эффективности специализированной помощи больным гемофилией, позволяющая наметить пути ее совершенствования. Отсутствие общероссийского регистра и наличие в стране нескольких разрозненных регистров не позволяют получить объективную картину о количестве больных и эффективности их лечения. Создание единого национального регистра больных гемофилией, который должен быть клиническим, — насущная проблема отечественной гематологии. Клинический регистр, содержащий показатели больных, позволит оценить правильность диагностики и эффективности лечения каждого конкретного больного, наметить план лечения и реабилитации, обосновать объем необходимой специализированной помощи.

Важным является вопрос обеспеченности больных гемофилией факторами свертывания. Благодаря централизованным закупкам препаратов по программе «7 нозологий» начиная с 2005 г. в нашей стране отмечается неуклонный рост закупок FVIII: в 2005 г. закуплено 115 млн МЕ, в 2006 г. — 231 млн МЕ, в 2007 г. — 230 млн МЕ, в 2008 г. — 481 млн МЕ, в 2009 г. — 538 млн МЕ, в 2010 г. — 592 млн МЕ. В 2011 г. планируется закупка 672 млн МЕ. Соответственно растет и количество концентратов в МЕ на душу населения в год: в 2005 г. приходилось 0,8 МЕ на душу населения в год, в 2006 г. — 1,6 МЕ, в 2007 г. — 1,6 МЕ, в 2008 г. — 3,39 МЕ, в 2009 г. — 3,79 МЕ, в 2010 г. — 4,17 МЕ. В 2011 г. планируется закупка 4,73 МЕ на душу населения. По данным Всемирной федерации гемофилии, доступ к заместительной терапии определяется именно этим показателем. Предусмотрены следующие градации.

- Борьба за выживание — 0–1 МЕ на душу населения в год (например, Румыния).
- Функциональная независимость — 1–3 МЕ на душу населения в год (например, Болгария, Литва, Латвия).
- Целостность суставов — 3–6 МЕ на душу населения в год (например, Россия, Португалия, Чехия).
- Полная интеграция в общество — 5–7 МЕ на душу населения в год (например, Италия, Франция, Венгрия, Германия).

Таким образом, за несколько лет потребление факторов свертывания в России значительно возросло и достигло по шкале Всемирной организации гемофилии градации «Целостность суставов» (3–6 МЕ в год на человека), что создало реальные предпосылки к переходу к следующей градации «Полная интеграция в общество» (5–7 МЕ в год на человека).

Применение современных препаратов, производимых ведущими компаниями мира для лечения гемофилии, привело к тому, что за

последние 3 года в России не выявлено ни одного случая трансмиссии вирусных инфекций у больных гемофилией, получающих концентраты FVIII и FIX, как плазменные, так и рекомбинантные (Зозуля Н.И., 2010).

Основное преимущество рекомбинантных факторов свертывания крови заключается в возможности производства любых объемов препарата благодаря независимости от сбора донорской плазмы.

Следует отметить, что если раньше обеспечение пациентов плазматическими факторами в таких странах, как Великобритания, Исландия и Ирландия, сокращалось и к 2005 г. был осуществлен практически полный переход на рекомбинантные препараты, то в последние годы, возможно из-за роста ингибиторных форм гемофилии, наметилась другая тенденция. Рост закупок плазматических факторов свертывания начал непрерывно расти, например, в 2010 г. в Великобритании доля плазматических факторов составляла уже 13%. Австралия, США, Швеция и Швейцария используют в лечении гемофилии 87–80% рекомбинантных препаратов и 13–20% плазменных. Италия и Япония используют в лечении гемофилии 60–70% рекомбинантных препаратов и 40–30% плазменных, Германия — 50 и 50%, а Франция — 70 и 30% соответственно. Россия использует в лечении гемофилии 10–12% рекомбинантных препаратов и 90–88% плазматических.

В настоящее время проведение полного лабораторного обследования с верификацией диагноза возможно только в центрах гемофилии и городах, имеющих НИИ гематологического профиля или их филиалы. Решение данной проблемы возможно с помощью создания референс-лабораторий по обследованию гемостаза в каждом федеральном округе и организации (технической и материальной) пересылки биологического материала в соответствующих контейнерах с помощью экспресс-почты.

Для безопасного и эффективного хирургического лечения плановые вмешательства больным гемофилией должны проводиться только в специализированных учреждениях, имеющих опыт работы с больными гемофилией, применяющими современные гемостатические препараты и разработанный алгоритм их введения.

СОЦИАЛЬНО-ПСИХОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ

Особое внимание должно быть уделено социальной и психологической поддержке больных гемофилией, так как зачастую этой проблеме не

уделяется должного внимания, что негативно сказывается на больных гемофилией. Наличие в семье больного гемофилией затрагивает каждый аспект ее жизни. Необходимая психологическая поддержка может быть оказана с помощью:

- психологов и социальных работников;
- постоянного образования больных и членов семей, например, в «Школах гемофилии»;
- проведения разовых обучающих программ по уходу, после завершения которых больные гемофилией могут в полной мере обслуживать себя сами.

Совместная деятельность медицинского персонала, наблюдающего больного гемофилией, профессиональных и добровольных психологических служб должна обеспечить **доступность**:

- **общей информации** по гемофилии, ее лечению, проблемам детской гемофилии, гемофилии и спорта, развлечениям, отдыху и путешествиям, возможности получения образования, трудуоустройству;
- **специальной информации** о создании семьи и родительстве, возможности генетического консультирования и пренатальной диагностики;
- **практической помощи** для больных с хронической патологией; направление в органы социальной защиты для решения возникающих проблем (оформление инвалидности, необходимость дорогостоящего лечения и др.).

Социальная и психологическая помощь больным гемофилией обычно начинает проводиться в больницах, но гораздо лучшие результаты достигаются посещением семей на дому, встречей с учителями, преподавателями или будущими руководителями на рабочем месте, поощрением контактов с семьями других больных.

Опыт показал, что в психологической поддержке нуждаются даже женщины — носительницы гена гемофилии, являющиеся здоровыми. Они нуждаются в консультациях психолога и поддержке, особенно если заболевание в данной семье ярко выражено. Возможны различные виды реакций на необходимость тестирования и последующие ожидание результатов анализов и их трактовку. Определение носительства не должно проводиться без объяснения необходимости его выполнения, особенностей диагностики на уровне ДНК, получения информированного согласия обследуемого, конфиденциальности.

РОЛЬ АССОЦИАЦИЙ И ОБЩЕСТВ БОЛЬНЫХ ГЕМОФИЛИЕЙ

Одной из первых в России организаций, созданной для защиты интересов больных, была организованная в Москве в 1989 г. Ассоциация больных гемофилией. Несмотря на то что подобные ассоциации имелись в некоторых странах, в Советском Союзе не существовало общественной организации, защищающей интересы больных наследственными коагулопатиями, и опыта работы ни у кого не было. Ассоциация ставила перед собой три основные задачи:

- 1) содействие улучшению медицинской помощи больным наследственными коагулопатиями;
- 2) социальная защита больных и членов их семей;
- 3) широкая просветительская деятельность и распространение новой информации.

Опираясь на накопленный Ассоциацией больных гемофилией опыт и имея своей целью широкое объединение пациентов и отстаивание их интересов на более высоком уровне — федеральном, в 2000 г. была создана ВОГ. Благодаря активности ВОГ в настоящее время она включает 58 региональных организаций. Основная цель ВОГ — донести до общественности и властей социальную значимость гемофилии, доказать, что жизнь, ее качество и социальная адаптация больных зависят от адекватной медицинской помощи и прежде всего от обеспеченности лекарствами. Основными задачами ВОГ являются:

- представление интересов больных наследственными коагулопатиями в федеральных и региональных структурах государства;
- содействие в разработке и осуществлении федеральных программ в области лечения и реабилитации больных коагулопатиями;
- содействие строительству в России заводов по фракционированию донорской плазмы;
- содействие разработке и внедрению национального регистра больных гемофилией;
- создание информационного центра;
- содействие и координация деятельности региональных организаций;
- расширение и поддержание международных контактов с другими общественными организациями;
- разработка негосударственного регистра больных гемофилией;
- сбор и обобщение информации из регионов;

– формирование общественного мнения путем распространения информации о деятельности ВОГ и проблемах гемофилии в России.

ВОГ выпускает специальную литературу для врачей, больных и членов их семей, проводит общероссийские и региональные научно-практические конференции и семинары, организовала «Школу гемофилии» для больных, обеспечивает работу информационного портала «Гемофилия в России».

Новой формой взаимодействия ВОГ с властями явилось подписание в 2005 г. соглашения с Федеральной службой по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (Росздравнадзор). За прошедшие с момента подписания соглашения годы определились следующие направления сотрудничества:

- формирование реестра больных наследственными коагулопатиями;
- уточнение потребности регионов в факторах свертывания крови;
- информирование специалистов и больных о механизме реализации федеральной программы ДЛО, рассылка информационных писем, проведение научно-практических конференций;
- оперативное реагирование на поступающие письма, обращения и жалобы;
- обобщение и анализ поступающей информации с целью выработки необходимых решений для наиболее эффективного лекарственного обеспечения больных наследственными коагулопатиями.

ВОГ, как общероссийская благотворительная общественная организация инвалидов, является представителем России во Всемирной федерации гемофилии.

АДРЕСА, САЙТЫ И ПОРТАЛЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ИНФОРМАЦИЮ О ГЕМОФИЛИИ

| Тема | Адрес в Интернете |
|-------------------------------------|---|
| Гемофилия А | http://eropium.mrc.rpms.ac.uk |
| Гемофилия В | http://www.umds.ac.uk/molgen/haemBdatabase.html |
| Наследственные болезни человека | http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/omim |
| База данных генных мутаций человека | http://www.cf.ac.uk/uwcm/mg/hgmd0.html |
| Европейский институт биоинформатики | http://www2.ebi.ac.uk/mutations/integration |
| Мельбурнская база данных | http://www.ariel.ucs.unimelb.edu.au:80/~cotton/mdi/htm |
| Форум по гемофилии | http://www.haemophilia-forum.org |

| Тема | Адрес в Интернете |
|---|---|
| Поиск NCBI PubMed | http://www.ncbi.nlm.nih.gov |
| Организации | |
| Всероссийское общество гемофилии | http://www.hemophilia.ru |
| Российская ассоциация трансфузиологов | http://www.transfusion.ru |
| Научное общество «Клиническая гемостазиология» | http://www.hemostas.ru |
| Гематологический научный центр Минздравсоцразвития России | http://www.blood.ru |
| Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздравсоцразвития России | http://www.fnkc.ru |
| Санкт-Петербургский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России | http://www.bloodscience.ru |

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Андреев Ю.Н. Актуальные проблемы хирургического лечения опорно-двигательной системы у больных гемофилией // Гематология и трансфузиология. — 2001. — № 46(3). — С. 65–74.

Андреев Ю.Н., Зоренко В.Ю., Пасоян К.А. и др. Артроскопическая синовэктомия и дебридмент коленного сустава у больных гемофилией // Гематология и трансфузиология. — 2002. — № 47(3). — С. 5–8.

Барказан З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. — 2-е изд. — М.: Медицина, 1988. — 528 с.

Гемоктин. Фактор VIII человека — естественная стабилизация за счет фактора Виллебранда: Монография по препарату. — М.: Биотест. — 24 с.

Долгов В.В., Свирин П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. — М.: Триада, 2005. — 227 с.

Жулев Ю.А. Информационная справка. — 2008. — 6 с.

Зозуля Н.И. Диагностика и лечение ингибиторной формы гемофилии: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — М., 2010.

Козловская Л.В., Николаев А.Ю. Учебное пособие по клиническим лабораторным методам исследования. — 2-е изд. — М.: Медицина, 1984. — 288 с.

Летаген С. Гемостаз и геморрагические заболевания: Пер. с англ. — СПб.: Аир-Апт, 2004. — 82 с.

Лобанова Е.В. Медико-статистические характеристики гемофилии у детей и экономическое обоснование специализированной помощи: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2002.

Лобанова Е.В., Чернов В.М., Румянцев А.Г. Заболеваемость детей гемофилией в 17 регионах Российской Федерации в период с 1991 по 1994 г. // Гематология и трансфузиология. — 1999. — № 44(6). — С. 53–54.

Международная статистическая классификация болезней и проблем, связанных со здоровьем. Десятый пересмотр (МКБ-10). — Женева: ВОЗ, 1995. — Т. 1–3.

Национальные стандарты Российской Федерации. Протоколы ведения больных: болезнь Виллебранда (ГОСТ Р52600.1-2008), гемофилия (ГОСТ Р52600.3-2008). — М.: НЮДИАМЕД, 2009. — 196 с.

Нильссон И.М. Гемофилия: Пер. на русский язык. — СПб.: Синтез-Полиграф, 1999. — 101 с.

Осипова Р.О. Лечебная гимнастика для больных гемофилией. — 2-е изд. — М.: Аир-Апт, 2006. — 64 с.

Плющ О.П., Кудрявцева Л.М., Тенцова И.А., Лихачева Е.А. Организация специализированной амбулаторной помощи больным гемофилией // Гематология и трансфузиология. — 1997. — № 42(6). — С. 37–39.

Процесс производства препарата Когенэйт ФС. — М.: Байер. — 11 с.

Протокол ведения больных. Гемофилия. — М.: НЬЮДИАМЕД, 2006. — 120 с.

Протокол ведения больных. Гемофилия // Проблемы стандартизации в здравоохранении. — 2006. — № 3. — С. 18–74.

Регистр лекарственных средств России. — М.: РЛС-2005, 2005. — 1440 с.

Федорова З.Д. Основы оказания амбулаторной помощи больным гемофилией // Гематология и трансфузиология. — 1986. — № 9. — С. 38–40.

Aberg M., Hedner U., Bergentz S.E. Effect of dextran 70 on FVIII and platelet function in von Willebrand disease // Thromb. Res. — 1978. — N 12(4). — P. 629–634.

Addiego J.R., Gomperts E., Liu S.L. et al. Treatment of hemophilia with a highly purified factor VIII concentrate prepared by immunoaffinity chromatography // Thromb. Haemost. — 1992. — N 67(1). — P. 19–27.

Aggeler P.M., White S.G., Glendening M.B. et al. Plasma thromboplastin component (PTC) deficiency; a new disease resembling hemophilia // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. — 1952. — N 79(4). — P. 692–694.

Ahlberg A. Haemophilia in Sweden. Incidence, treatment and prophylaxis of arthropathy and other musculo-skeletal manifestations of haemophilia A and B // Acta. Orthop. Scand. Suppl. — 1965. — Suppl.77. — P. 3–132.

Aledort L.M. Is the incidence and prevalence of inhibitors greater with recombinant products? Yes // J. Thromb. Haemost. — 2004. — N 2(6). — P. 861–862.

Aledort L.M., DiMichele D.M. Inhibitors occur more frequently in Afro-American and Latino haemophiliacs // Haemophilia. — 1998. — N 4(1). — P. 68.

Astermark J., Berntorp E. Malmo international brother study (MIBS): an international study of brother pairs with haemophilia // Vox. Sang. — 1999. — N 77(1). — P. 80–82.

Astermark J., Voorberg J., Lenk H. et al. Impact of inhibitor epitope profile on the neutralizing effect against plasma-derived and recombinant factor VIII concentrates in vitro // Haemophilia. — 2003. — N 9. — P. 567–572.

Auerswald G., Spranger T., Brackmann H.H. The role of plasma-derived factor VIII/von Willebrand factor concentrates in the treatment of hemophilia A patients // Haematologica. — 2003. — N 88(6). — P. 21–25.

Bagnall R.D., Waseem N., Green P.M., Giannelli F. Recurrent inversion breaking intron 1 of the factor VIII gene is a frequent cause of severe hemophilia A // Blood. — 2002. — N 99(1). — P. 168–174.

Bateson W., Mendel G. Mendel's principles of heredity. A defence, with a translation of Mendel's original papers on hybridisation. — Cambridge University Press, 1909.

Behrman M., Pasi J., Saint-Remy J.M. et al. Von Willebrand factor modulates factor VIII immunogenicity: comparative study of different factor VIII concentrates in a haemophilia A mouse model // Thromb. Haemost. — 2002. — N 88(2). — P. 221–229.

Bidlingmaier C. Successful immune tolerance induction (ITI) of high responding inhibitors with a high-purity FVIII/VWF concentrate. XXI ISTH-Congress. — Geneva, 2007.

Biggs R., Douglas A.S., Macfarlane R.G. et al. Christmas disease: a condition previously mistaken for haemophilia // Br. Med. J. — 1952. — N 2(4799). — P. 1378–1382.

Boedecker B.G.D. The manufacturing process of recombinant factor VIII, Kogenate // Transf. Med. Reviews. — 1992. — N 4. — P. 256–260.

Boulton F. A hundred years of cascading — started by Paul Morawitz (1879–1936), a pioneer of haemostasis and of transfusion // Trans. Med. — 2006. — N 16(1). — P. 1–10.

Brackmann H.-H., Lenk H., Scharrer I. et al. German recommendations for immune tolerance therapy in type A haemophiliacs with antibodies // Haemophilia. — 1999. — N 5(3). — P. 203–206.

Briët E., Peters M. The incidence of inhibitors in hemophilia A and the induction of immune tolerance // Adv. Exp. Med. Biol. — 2001. — N 489. — P. 89–97.

Brown B.D., Lillicrap D. Dangerous liaisons: the role of danger signals in the immune response to gene therapy // Blood. — 2002. — N 100. — P. 1133–1140.

Brown B.D., Shi C.X., Powell S. et al. Helper-dependent adenoviral vectors mediate therapeutic factor VIII expression for several months with minimal accompanying toxicity in a canine model of severe hemophilia A // Blood. — 2003. — N 103. — P. 804–810.

Bullock W., Fildes P. Treasury of human inheritance, parts V and VI. — London: University of London, 1911.

Cao O., Armstrong E., Conti-Fine B.M. et al. Suppression of inhibitor formation to FIX in gene transfer through immune deviation induced by mucosal peptide administration // Blood. — 2005. — N 106. — Abstract 211.

Capowski E.E., Schneider B.L., Ebert A.D. et al. Lentiviral vector-mediated genetic modification of human neural progenitor cells for ex vivo gene therapy // *J. Neurosci. Methods.* — 2007. — N 163(2). — P. 338–349.

Chuah M.K., Schiedner G., Thorrez L. et al. Therapeutic factor VIII levels and negligible toxicity in mouse and dog models of hemophilia A following gene therapy with high-capacity adenoviral vectors // *Blood.* — 2003. — N 101. — P. 1734–1743.

Cox-Gill J. The role of genetics in inhibitor formation // *Thromb. Haemost.* — 1999. — N 82(2). — P. 500–504.

Davie E.W., Ratnoff O.D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting // *Science.* — 1964. — N 145. — P. 1310–1312.

Escuriola-Eettinghausen C., Kreuz W. Role of VON Willebrand factor in immune tolerance induction // *Blood Coagulation and Fibrinolysis.* — 2005. — N 16(1). — P. 27–31.

Eyster M.E., Lewis J.H., Shapiro S.S. et al. The Pennsylvania hemophilia program 1973–1978 // *Am. J. Hematol.* — 1980. — N 9(3). — P. 277–286.

Gao G., Lu Y., Calcedo R. et al. Biology of AAV serotype vectors in liver-directed gene transfer to nonhuman primates // *Mol. Ther.* — 2006. — N 13. — P. 77–87.

Gao G., Vandenberghe L.H., Wilson J.M. New recombinant serotypes of AAV vectors // *Curr. Gene. Ther.* — 2005. — N 5. — P. 285–297.

Giannelli F., Green P.M., High K.A. et al. Haemophilia B: database of point mutations and short additions and deletions-fourth edition // *Nucleic. Acids. Res.* — 1993. — N 21(13). — P. 3075–3087.

Giles A.R., Tinlin S., Hoogendoorn H. et al. In vivo characterization of recombinant FVIII in canine model of hemophilia // *Blood.* — 1988. — N 72(1). — P. 335–339.

Gomperts E.D., de Biasi R., De Vreker R. The Impact of clotting factor concentrates on the immune system in individuals with hemophilia // *Transfus. Med. Rev.* — 1992. — N 6(1). — P. 44–54.

Gomperts E., Lundblad R., Adamson R. The manufacturing process of recombinant factor VIII, Recombinate // *Transf. Med. Rev.* — 1992. — N 6(4). — P. 247–251.

Goodeve A. The incidence of inhibitor development according to specific mutations — and treatment // *Blood. Coagul. Fibrinolysis.* — 2003. — N 14(1). — P. 17–21.

Goudemand J., Rothschild C., Demiguel V. et al. Influence of the type of factor VIII concentrate on the incidence of factor VIII inhibitors in previously untreated patients with severe hemophilia A // *Blood.* — 2006. — N 107(1). — P. 46–51.

Gouw S.C., van der Bom J.G., van den Berg H. Treatment-related risk factors of inhibitor development in previously untreated patients with hemophilia A: the CANAL cohort study // *Blood*. — 2007. — N 109(11). — P. 4648–4654.

Gringeri A. Immuntolerance induction (ITI) with high purity FVIII/VWF concentrate in inhibitor patientes with high risk of a poor response to ITI: A prospective surveillance // *J. Thromb. Haemost.* — 2005. — N 3 (suppl. 1). — P. OR207.

Gruppo R.A., Brown D., Willkes M.M., Navickis R.J. Comparative effectiveness of full-length and B-domain deleted factor VIII for prophylaxis — a meta analysis // *Haemophilia*. — 2003. — N 9. — P. 251–260.

Guerois C., Laurian Y., Rothschild C. et al. Incidence of factor VIII inhibitor development in severe haemophilia A patients treated only with one brand of highly purified plasma-derived concentrate // *Thromb. Haemost.* — 1995. — N 73. — P. 215–218.

Hay C.R. The epidemiology of FVIII inhibitors // *Haemophilia*. — 2006. — N 12(6). — P. 23–28.

Hay C.R.M., Oilier W., Pepper L. et al. From the UKHCDO inhibitor working party. HLA classe II profile: a weak determinant of factor inhibitor development in severe haemophilia A // *Thromb. Haemost.* — 1997. — N 77(2). — P. 234–247.

Hay J. Account of a remarkable hemorrhagic disposition, existing in many individuals of the same family // *N. Engl. J. Med. Surg.* — 1813. — N 2(3). — P. 221–225.

High K.A., Manno C.S., Sabatino D.E. et al. Immune responses to AAV and to factor IX in a phase I study of AAV-mediated, liver-directed gene transfer for hemophilia B // *Blood*. — 2003. — N 102. — Abstract 532.

Hoppf F. Über die Hämophilie oder die erbliche Anlage zu tödlichen Blutungen. Thesis, Univ. — Zurich, 1828.

Inhibitors in Patients with Haemophilia / Edited by E.C. Rodriguez-Merchan and C.A. Lee. — Blackwell Publishing, 2002.

Ivaskevicius V., Jurgutis R., Rost S. et al. Lithuanian haemophilia A and B registry comprising phenotypic and genotypic data // *Br. J. Haematol.* — 2001. — N 112(4). — P. 1062–1070.

Johnson R.P., Babbitt D.P. Five stages of joint disintegration compared with range of motion in hemophilia // *Clin. Orthop. Relat. Res.* — 1985. — N (201). — P. 36–42.

Kasper C.K., Aledort L.M., Counts R.B. et al. A more uniform measurement of factor FVIII inhibitors // *Thromb. Diath. Haemorrh.* — 1975. — N 34. — P. 869–872.

Kasper C.K., Costa e Silva M. Registry of clotting factor concentrates. — World Federation of Hemophilia, 2004.

- Kessler C.M.* New perspectives in hemophilia treatment // Hematol. Am. Soc. Hematol. Educ. Progr. — 2005. — P. 429–435.
- Key N.S.* Inhibitors in congenital coagulation disorders // Br. J. Haematol. — 2004. — N 127(4). — P. 379–391.
- Kreuz W.* Haemophilia A and B — 10 years GTH inhibitor PUP study. Greifswalder Haemophilia. — Tagung, 2004.
- Kreuz W.* Immune tolerance and the choice of concentrate. Aus: inhibitors in patients with haemophilia. — Blackwell Publishing, 2002. — P. 55–58.
- Kreuz W.* Immunotolerance induction (ITI) in haemophilia A patients with inhibitor. The choice of concentrate affecting success // Haematologica. — 2001. — N 86(4). — P. 16–22.
- Lakich D., Kazazian H.H. Jr., Antonarakis S.E., Gitschier J.* Inversions disrupting the factor VIII gene are a common cause of severe haemophilia A // Nat. Genet. — 1993. — N 5(3). — P. 236–241.
- Ljung R., Holmberg L., Gustavii B. et al.* Haemophilia A and B — two years experience of genetic counselling and prenatal diagnosis // Clin. Genet. — 1982. — N 22(2). — P. 70–82.
- Ljung R., Kling S., Sjörin E., Nilsson I.M.* More than half the sporadic cases of hemophilia A in Sweden are due to a recent mutation // Acta Paediatr. Scand. — 1991. — N 80(3). — P. 343–348.
- Ljung R., Petrini P., Nilsson I.M.* Diagnostic symptoms of severe and moderate haemophilia A and B. A survey of 140 cases // Acta Paediatr. Scand. — 1990. — N 79(2). — P. 196–200.
- Lorenzo J.I., Lopez A., Altisent C., Aznar J.A.* Incidence of factor VIII inhibitors in severe haemophilia: the importance of patient age // Br. J. Haematol. — 2001. — N 113(3). — P. 600–603.
- Lusher J.M.* First and second generation recombinant factor VIII concentrates in previously untreated patients: recovery, safety, efficacy, and inhibitor development // Semin. Thromb. Hemost. — 2002. — N 28(3). — P. 273–276.
- Lusher J.M.* Is the incidence and prevalence of inhibitors greater with recombinant products? No // J. Thromb. Haemost. — 2004. — N 2(6). — P. 863–865.
- Lusher J.M., Arkin S., Abildgaard C.F. et al.* Recombinant factor VIII for the treatment of previously untreated patients with haemophilia A // N. Engl. J. Med. — 1993. — N 328(7). — P. 453–459.
- Lusher J.M., Lee C.A., Kessler C.M. et al.* The safety and efficacy of B-domain deleted recombinant factor VIII concentrate in patients (PUPs) with severe haemophilia // Haemophilia. — 2003. — N 9(1). — P. 38–49.
- Macfarlane R.G.* A clotting scheme for 1964 // Thromb. Diath Haemorrh Suppl. — 1965. — N 17. — P. 45–52.

Merritt A.D. Population genetics and hemophilia — implications of mutation and carrier recognition // Ann NY Acad. Sci. — 1975. — N 240. — P. 121–131.

Merskey C., Macfarlane R.G. The female carrier of haemophilia. A clinical and laboratory study // Lancet. — 1951. — N 1(6653). — P. 487–490.

Mingozzi F., Liu Y.L., Dobrzański E. et al. Induction of immune tolerance to coagulation factor IX antigen by in vivo hepatic gene transfer // J. Clin. Invest. — 2003. — N 111. — P. 1347–1356.

Mingozzi F., Maus M.V., Sabatino D.E. et al. T-cell responses to AAV vector capsid limit the duration of transgene expression in humans after liver-directed gene therapy // Blood. — 2005. — N 106. — Abstract 3055.

Muruve D.A. The innate immune response to adenovirus vectors // Hum. Gene. Ther. — 2004. — N 15. — P. 1157–1166.

Nasse C.F. Von einer erblichen Neinung zu todlichen Blutungen // Arch. Med. Erfahr. Horn. — 1820. — N 1. — P. 385.

Naylor J., Brinke A., Hassock S. et al. Characteristic mRNA abnormality found in half the patients with severe haemophilia A is due to large DNA inversions // Hum. Mol. Genet. — 1993. — N 2(11). — P. 1773–1778.

Nilsson I.M. The situation of hemophiliacs in Sweden // Lakartidningen. — 1981. — N 78(52). — P. 4725–4728.

Nilsson I.M., Blomback M., Ahlberg A. Our experience in Sweden with prophylaxis on haemophilia // Bibl. Haematol. — 1970. — N 34. — P. 111–124.

Otto J.C. An account of an haemorrhagic disposition existing in certain families // Medical Repository. — 1803. — N 6. — P. 1–4.

Patek A.J., Taylor F.H. Hemophilia. II. Some properties of a substance obtained from normal human plasma effective in accelerating the coagulation of hemophilic blood // J. Clin. Invest. — 1937. — N 16(1). — P. 113–124.

Pavlovsky A. General review of the current problems of hemophilia // Dia. Med. — 1952. — N 24(72). — P. 1896–1900.

Peake I.R., Lillicrap D.P., Boulyjenkov V. et al. Haemophilia: strategies for carrier detection and prenatal diagnosis // Bull. World Health Organ. — 1993. — N 3–4. — P. 429–458.

Ragni M.V., Wu W., Liang X., Lu L. Reduction of factor VIII inhibitor formation with FVIII pulsed tolerogenic dendritic cells in the murine hemophilia A model // Blood. — 2005. — N 106. — Abstract 213.

Ramgren O. The role of the medical advisor in the Swedish Hemophilia Society // Bibl. Haematol. — 1966. — N 26. — P. 148.

Raper S.E., Chirmule N., Lee F.S. et al. Fatal systemic inflammatory response syndrome in a ornithine transcarbamylase deficient patient following

adenoviral gene transfer // Mol. Genet. Metab. — 2003. — N 80. — P. 148–158.

Rawle F., Labelle A., Davie E. et al. Prevention of anti-FVIII inhibitor formation post protein infusion in hemophilic mice by prior feeding of the FVIIIC2 domain // Blood. — 2004. — N 104. — Abstract 39.

Rosendaal F.R., Varekamp I., Smit C. et al. Mortality and causes of death in Dutch haemophiliacs 1973–1986 // Br. J. Haematol. — 1989. — N 71(1). — P. 71–76.

Rothschild C., Laurian Y., Satre E.P. et al. French previously untreated patients with severe haemophilia A after exposure to recombinant factor VIII: incidence of inhibitor and evaluation of immune tolerance // Thromb. Haemost. — 1998. — N 80(5). — P. 779–783.

Saenko E.L., Ananyeva N.M., Koujavskaya D.V. et al. Haemophilia A: effects of inhibitory antibodies on factor VIII functional interactions and approaches to prevent their action // Haemophilia. — 2002. — N 8(1). — P. 1–11.

Saint-Remy J.M., Lacroix-Desmazes S., Oldenburg J. Inhibitors in haemophilia: pathophysiology // Haemophilia. — 2004. — N 10(4). — P. 146–151.

Sarkar R., Tetreault R., Gao G. et al. Total correction of hemophilia A mice with canine FVIII using an AAV 8 serotype // Blood. — 2004. — N 103. — P. 1253–1260.

Scandella D., DeGraaf Mahoney S., Mattingly M. et al. Epitope mapping of human FVIII inhibitor antibodies by deletion analysis of FVIII fragments expressed in *E. coli* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1988. — N 85(16). — P. 615–616.

Schwaab R., Brackmann H.H., Meyer C. et al. Haemophilia A: mutation type determines risk of inhibitor formation // Thromb. Haemost. — 1995. — N 74(6). — P. 1402–1406.

Sjolin K.E. Classical haemophilia (AHF deficiency) and Christmas factor (PTC) deficiency as simultaneous defects // Acta Med. Scand. — 1957. — N 159(1). — P. 7–12.

Smales C.M., Pepper D.S., James D.C. Mechanisms of protein modification during model anti-viral heat treatment bioprocessing of β -lactoglobulin variant A in the presence of sucrose. Biotechno // Appl. Biochem. — 2000. — N 32(2). — P. 109–119.

Tuddenham E.G., Cooper D.N., Gitschier J. et al. Haemophilia A: database of nucleotide substitutions, deletions, insertions and rearrangements of the factor VIII gene // Nucleic. Acids. Res. — 1991. — N 19(18). — P. 4821–4833.

Yee T.T., Lee C.A. Incidence and prevalence of inhibitors and type of blood product in haemophilia A. Inhibitors in Patients with Haemophilia. — Blackwell Publishing, 2002. — P. 14–20.

Yee T.T., Williams M.D., Hill F.G.H. et al. Absence of inhibitors in previously untreated patients with severe haemophilia A after exposure to a single intermediate purity factor VIII product // Thromb. Haemost. — 1997. — N 78(3). — P. 1027–1029.

Van den Driessche T., Vanslembrouck V., Goovaerts I. et al. Long-term expression of human coagulation factor VIII and correction of hemophilia A after in vivo retroviral gene transfer in factor VIII-deficient mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1999. — N 96. — P. 10379–10384.

Van der Bom J.G., Mauser-Bunschoten E.P., Fischer K., Van den Berg H.M. Age at first treatment and immune tolerance to factor VIII in severe hemophilia // Thromb. Haemost. — 2003. — N 89(3). — P. 475–479.

Vidal 2011. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. — М.: АстраФармСервис, 2011.

Wang L., Calcedo R., Nichols T.C. et al. Sustained correction of disease in naive and AAV2-pretreated hemophilia B dogs: AAV2/8-mediated, liver-directed gene therapy // Blood. — 2005. — N 105. — P. 3079–3086.

Wright A.E. On a method of determining the condition of blood coagulability for clinical and experimental purposes, and on the effect of the administration of calcium salts in haemophilia and actual or threatened haemorrhage // Br. Med. J. — 1893. — N 2(1700). — P. 223–225.