

В. А. Змачинский

## ПРИОБРЕТЕННЫЕ КОАГУЛОПАТИИ ПРИ МАССИВНОЙ КРОВОПОТЕРЕ И ГЕМОДИЛЮЦИИ

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

Основной причиной летальных исходов при травмах, больших оперативных вмешательствах является приобретенная коагулопатия, возникающая вследствие массивных повреждений тканей, острой кровопотери, неадекватной заместительной терапии. Статья посвящена обзору патогенеза коагулопатии, возникающей при острой кровопотере и гемодилюции. Рассмотрены механизмы нарушения гемостаза, влияния гемодилюции на свертывание крови, основные методы диагностики коагулопатии при острой кровопотере, приведены методы коррекции, возникающих нарушений, с современными рекомендациями заместительной терапии.

**Ключевые слова:** коагулопатии, гемодилюция, острая кровопотеря.

V.A. Zmachinski

### COAGULOPATHY AFTER MASSIVE HEMORRHAGE AND HEMODILUTION

Fluid resuscitation after massive hemorrhage in major surgery and trauma may result in extensive hemodilution and coagulopathy, which is of a multifactorial nature. Although coagulopathy is often perceived as hemorrhagic, extensive hemodilution affects procoagulants as well as anticoagulant, profibrinolytic, and antifibrinolytic elements, leading to a complex coagulation disorder.

**Key words:** coagulopathy, hemodilution, massive hemorrhage.

Острая массивная кровопотеря является грозным осложнением и часто встречается при больших оперативных вмешательствах и травмах. Значительный объем вводимых пациенту растворов и трансфузионных сред может приводить к различным осложнениям. Если суммарный объем трансфузионной терапии в течение суток, включая эритроцитную массу (ЭМ), свежезамороженную плазму (СЗП) и тромбоконцентрат (ТК), превышает объем циркулирующей крови, возможно развитие синдрома массивных гемотрансфузий с возникновением нарушений функционирования внутренних органов, кислотно-основного состояния, гемокоагуляции. Следует отметить, что если наследственные коагулопатии обусловлены дефицитом, как правило, одного из факторов свертывания крови, коагулопатии при острой кровопотере и интенсивной инфузионной терапии имеют сложную мультифакторную природу, при которой все элементы системы гемостаза, включая про- и антикоагулянты, активаторы и ингибиторы фибринолиза демонстрируют дефицит составляющих компонентов различной степени тяжести. Во многом механизмы коагулопатий, возникающих на фоне кровотечений и интенсивной заместительной терапии, до настоящего времени остаются неясными.

#### Эффект гемодилюции на систему гемостаза

Инфузионные среды оказывают различное влияние на гемокоагуляцию. Введение кристаллоидов, коллоидов, эритроцитной массы вызывает снижение концентрации факторов свертывания крови, что в итоге может привести к дилуционной коагулопатии, тяжесть которой пропорциональна объему введенной жидкости. В тоже время трансфузии СЗП не вызывают существенного изменения концентрации компонентов системы гемостаза. При гемодилюции в условиях *in vivo* уровень факторов VIII и Виллебранда может определенное время сохраняться вследствие выброса запаса из секреторных гранул (телец Вейбеля-Палада) эндотелиальных клеток под действием стрессорных гормонов, включая адреналин и вазопрессин. Дефицит тромбо-

цитов может компенсироваться высвобождением секвестрированных тромбоцитов из селезенки и легких, а также молодых форм из костного мозга. Дополнительным компенсаторным механизмом при гемодилюции в условиях *in vivo* является различие во времени достижения критического для гемостаза уровня разных факторов свертывания крови. Так, критическое снижение уровня фибриногена (менее 1 г/л) происходит обычно при объеме кровопотери более 150% ОЦК, тогда как гемостатически опасное снижение концентрации энзимных факторов свертывания достигается при кровопотере более 200% ОЦК.

С учетом снижения при гемодилюции концентрации протромбина можно предполагать нарушение процесса генерации тромбина. Однако, как показали проведенные исследования, уровень генерации тромбина при гемодилюции не соответствует степени снижения концентрации протромбина. Было показано, что при снижении концентрации протромбина до 43% и 17%, пиковый уровень тромбина снижался в меньшей степени – до 58% и 38% соответственно (1). Несоответствие между концентрацией протромбина и уровнем генерации тромбина можно объяснить уменьшением активности при гемодилюции основных естественных антикоагулянтов – антитромбина III (АТIII) и протеинов С (РС) и S (PS). Снижение уровня АТ III увеличивает период циркуляции тромбина, фактора Ха, что потенциально способствует уменьшению степени дилуционной гипокоагуляции (2). Подобная ситуация наблюдается у пациентов с циррозом печени. Если в нормальных условиях активность тромбина локализована в месте раневого повреждения, то при дефиците антикоагулянтов, активность тромбина и фактора Ха регистрируется также и в циркулирующей крови, так как концентрация полимеризованного фибрина, который в нормальных условиях адсорбирует сериновые протеазы, снижена (3). Системная активность тромбина приводит к высвобождению тканевого активатора плазминогена (ТАП) с последующей активацией фибринолиза и тромбомодулин-опосредованной

активации PC, который инактивирует факторы VIIIa и Va. У пациентов с травматическими повреждениями тканей и гемодилюцией, описанные изменения определяются как травма-индуцированная коагулопатия, проявления которой подобны синдрому диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС). Выраженность изменений активности гемостаза пропорциональны объему инфузионной терапии.

Уровень фибринолитической активности крови важен для предотвращения распространения сгустка вне места повреждения сосудистой стенки. В нормальных условиях эндогенные ингибиторы фибринолиза (ингибитор активатора плазминогена-1,  $\alpha$ 2-антиплазмин, тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза) имеют высокую концентрацию в месте образования фибринового сгустка. В норме  $\alpha$ 2-антиплазмин нейтрализует свободный плазмин и взаимодействуя с фактором XIII делает фибрин более устойчивым к фибринолизу. Тем самым создаются условия для локальной резистентности сгустка к фибринолизу в месте повреждения сосудистой стенки, в то время как фибрин, находящийся в кровеносном русле, высокочувствителен к фибринолитическим энзимам, что способствует предотвращению тромботической окклюзии сосудов. При гемодилюции снижается уровень  $\alpha$ 2-антиплазмина и фактора XIII, нарушается образование перекрестно связанных форм фибрина, удлиняется период полужизни плазмينا. Фибриновый сгусток становится более чувствителен к фибринолизу (1). Снижается также концентрация тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза и ингибитора активатора плазминогена-1 (1). Уровень же ТАП повышается вследствие высвобождения из телец Вейбеля-Палада эндотелия под действием адреналина, вазопрессина, десмопрессина, брадикинина, тромбина и других субстанций. Подобные условия создаются при инфузии больших объемов кристаллоидов, коллоидов, эритроцитарной массы. Таким образом, при гемодилюции активность плазмينا повышена, вследствие чего почти у 20% пациентов с посттравматической острой кровопотерей развивается системный фибринолиз, когда активность плазмينا не контролируется эндогенными антиплазминовыми протеинами. С целью предотвращения негативного влияния гемодилюции на фибринолиз описано применение антифибринолитических препаратов, СЗП, препарата фактора XIII (1).

Необходимо учитывать наличие гипотермии и ацидоза, часто наблюдаемых у пациентов в критических состояниях. Гипотермия и ацидоз по разному влияют на гемостаз. Гипотермия оказывает большее влияние на фазу инициации свертывания крови, поэтому пик концентрации тромбина достигает нормального уровня, но с некоторой задержкой по времени. Ацидоз имеет большее влияние на фазу распространения, что значительно нарушает генерацию тромбина и в целом гемостатическую функцию крови. Как показали проведенные исследования, при гипотермии нарушен синтез и полимеризация фибрина, причем гипотермия и ацидоз действуют синергично. Интенсивность фибринолиза существенно не меняется при снижении температуры тела до 32°C, но возрастает при наличии ацидоза (4).

Фибриноген играет одну из важнейших ролей в си-

стеме гемостаза, его концентрация в крови наибольшая по сравнению с другими факторами свертывания крови и в среднем составляет 2,5 г/л. Необходимо принимать во внимание, что фибриноген является острофазным белком и его концентрация возрастает при воспалении, беременности, повреждении тканей. Локальная концентрация тромбина существенно влияет на толщину и устойчивость к фибринолизу волокон фибрина. В нормальных условиях при достижении пиковой концентрации тромбина 200-500 нМ обеспечивается образование плотного, густосетчатого с достаточной толщиной волокон фибринового сгустка. При дефиците факторов свертывания не достигается достаточная концентрация тромбина и образуется редкосетчатый, с тонкими нитями фибрина, рыхлый сгусток (5). Кроме основной задачи остановки кровотечения густая и плотная сеть фибринового сгустка играет важную роль адсорбента активированных протеаз не позволяя им выходить в свободную циркуляцию (6). Вследствие высокой аффинности фибриновых нитей к тромбину его еще называют антитромбин I. Представления о достаточном уровне фибриногена для успешного образования сгустка меняются. Если до 2009 года международные руководства рекомендовали минимально достаточный уровень фибриногена 0,8-1,1 г/л (7), то в последних рекомендациях достаточным считается уровень фибриногена не ниже 1,5-2,0 г/л (8). Необходим также контроль уровня фактора XIII и поддержание его не ниже 50-60% от нормы, особенно при уровне фибриногена менее 1,5 г/л (9).

#### **Мониторинг параметров гемостаза при острой кровопотере**

Наиболее часто применяемыми в клинической практике скрининговыми тестами для оценки гемостаза являются протромбиновое время (ПВ) и его производное международное нормализованное отношение (МНО), активированное парциальное тромбoplastинное время (АПТВ), тромбиновое время (ТВ), уровень фибриногена. Увеличение МНО более чем в 1,5 раза от нормальных значений обладает 88% чувствительностью и специфичностью к дефициту как минимум одного фактора свертывания крови у пациентов с острой кровопотерей (10). Увеличение показателя АПТВ более чем в 1,5 раза от нормальных значений обладает 50% чувствительностью и 100% специфичностью к дефициту факторов свертывания крови (11). Тесты ПВ и АПТВ имеют следующие особенности: не несут информации об изменениях тромбоцитарного гемостаза, остаются удлиненными при ускорении генерации тромбина, обусловленной дефицитом естественных антикоагулянтов (ATIII, PC), не оценивают стабильность сгустка и наличие дефицита фактора XIII, имеют нормальные значения при кровотечениях обусловленных гиперфибринолизом. В связи с этим в настоящее время широкое распространение получило применение таких методов диагностики как тромбоэластография и тромбоэластометрия, которые имеют особую ценность в оценке процесса полимеризации фибрина в присутствии активированных тромбоцитов. Применение данных методов диагностики позволяет определить недостаточность формируемого сгустка, обусловленную дефицитом фибриногена, фактора XIII, а также состоянием гиперфибринолиза. Ретроспективный анализ

## Клинический обзор

травма-индуцированной коагулопатией с использованием тромбоэластометрии, показал эффективность данного метода в определении показаний для своевременной терапии препаратами факторов свертывания крови (фибриногена, концентрата протромбинового комплекса) (12).

### Методы коррекции коагулопатии при острой кровопотере

Восстановление объема циркулирующей крови при острой кровопотере, как правило, начинают с использования кристаллоидных и коллоидных растворов, что в свою очередь наряду с позитивным действием на гемодинамику приводит к снижению концентрации факторов свертывания крови, тромбоцитов и гемоглобина. Кроме гемодилюционного эффекта коллоидные растворы нарушают функцию тромбоцитов, ингибируют процесс полимеризации фибрина, способствуют проявлению приобретенного синдрома Виллебранда (13-15), возможна также активация фибринолиза (16). Умеренная гемодилюция по данным тромбоэластографии проявляется гиперкоагуляцией (17).

### Компоненты крови

Трансфузии ЭМ кроме коррекции гипоксии способствуют улучшению гемостатической функции крови. Именно циркулирующие эритроциты способствуют пристеночному распределению тромбоцитов в кровотоке, содействуют агрегации тромбоцитов выделяя аденозиндифосфат, на мембране эритроцитов взаимодействуют факторы свертывания крови. Доказано, что наличие анемии всегда способствует развитию кровоточивости (18).

Свежезамороженная плазма крови содержит все факторы свертывания крови, включая прокоагулянты, антикоагулянты, компоненты фибринолиза. Проведенный ретроспективный анализ показал, что агрессивная трансфузионная гемостатическая тактика в соотношении СЗП:ЭМ не менее 1:1 оказывает позитивный клинический эффект (19), хотя имеются и альтернативные сообщения. Тем не менее, последние европейские и североамериканские протоколы рекомендуют раннее использование СЗП при острой кровопотере (20).

С точки зрения формального подхода, применяя СЗП мы обеспечиваем замещение возникающего при гемодилюции дефицита прокоагулянтов, антикоагулянтов и компонентов фибринолиза. Однако рутинное использование СЗП имеет ряд ограничений и прежде всего безопасность применения для пациента: потенциальная вирусная контаминация, нозокомиальные инфекции, возможность возникновения острого повреждения легких (TRALI), перегрузка объемом, повышение вероятности неблагоприятного исхода. Поэтому СЗП не может рассматриваться как оптимальное средство лечения гиповолемии.

### Концентраты факторов свертывания

Криопреципитат содержит факторы VIII, Виллебранда, XIII и фибриноген. При острой кровопотере применяется в первую очередь при дефиците фактора XIII и фибриногена. При остановленном кровотечении одна доза криопреципитата введенная на 10 кг веса пациента повышает уровень фибриногена в плазме крови на 0,5 г/л. В то время как, чтобы повысить уровень фибриногена на 1 г/л с помощью СЗП необходи-

мо трансфузировать плазму в дозе 30 мл/кг. Как было показано рядом исследований, уровень фибриногена имеет большое значение при терапии острой кровопотери. Поддержание высокого уровня фибриногена способствует увеличению выживаемости пациентов при боевых травмах (21), уровень фибриногена выше 3 г/л может компенсировать дефицит тромбоцитов в крови (22), использование концентрата фибриногена после больших оперативных вмешательств уменьшает кровопотерю, количество трансфузируемой эритроцитарной массы, тромбоконцентрата без повышения риска тромботических осложнений (23). Снижение уровня фактора XIII ассоциировано с повышением риска развития кровотечения после больших хирургических вмешательств (24).

### Концентрат протромбинового комплекса

Концентрат протромбинового комплекса (КПК) содержит факторы II, VII, IX, X, PC и PS, а также следовые количества AT III и гепарина. Для практического врача важно помнить, что если содержание факторов свертывания крови в СЗП составляет 0,5-1,0 МЕ/мл, то в КПК эта концентрация в 25 раз выше и 20 мл КПК соответствует примерно 500-600 мл СЗП (25). Кроме того, применяя вместо СЗП с целью замещения витамин К-зависимых факторов свертывания крови КПК, отсутствует необходимость в групповом подборе и разморозке, отсутствует риск объемной перегрузки жидкостью, риск развития иммунных осложнений и дополнительной гемодилюции. Применение КПК с двойной вирусной инактивацией, одной из которых является сольвент-детергентная, минимизирует риск передачи трансмиссивных инфекций (сифилис, гепатит В, С, D, ВИЧ, цитомегаловирусная инфекция). В ряде клинических исследований показана эффективность применения КПК у пациентов после кардиохирургических вмешательств, с развившимися коагулологическими нарушениями, рефрактерными к трансфузиям СЗП, криопреципитата, тромбоконцентрата (26). Опубликован анализ коагулологических нарушений у 16 пациентов реанимационных отделений с приобретенным дефицитом факторов свертывания и успешной коррекцией КПК (27). При посттравматических коагулопатиях применение КПК дает существенное снижение в объеме использованной СЗП (28).

Суммируя данные применения КПК можно сделать заключение, что КПК успешно корректируют дилуционные коагулопатии повышая уровень генерации тромбина, оптимизируя полимеризацию фибрина и, возможно, регулируя избыточный фибринолиз.

### Тромбоконцентрат

Трансфузии ТК рекомендуются при наличии геморрагического синдрома у пациентов после больших оперативных вмешательств, травм при уровне тромбоцитов в крови менее  $50 \times 10^9/\text{л}$ . При наличии признаков дисфункции тромбоцитов обусловленной, например, применением ацетилсалициловой кислоты или ингибиторов ГП IIb/IIIa рекомендуется применение тромбоконцентрата даже при нормальном уровне тромбоцитов в крови (29). Однако, следует принимать во внимание, что трансфузии тромбоконцентрата имеют потенциальный риск развития таких серьезных осложнений, как ассоциированное с трансфузией острое повреждение легких, тромбозы и даже быть причиной летального ис-

хода (30).

### Антифибринолитики

Гиперфибринолиз часто встречается при коагулопатиях, обусловленных острой кровопотерей и гемодилуцией, но диагностируется в редких случаях. В 2010 году были представлены результаты проспективного рандомизированного, плацебо-контролируемого клинического исследования по изучению эффективности применения транексамовой кислоты у 20211 пациентов с травмой (31). Это исследование продемонстрировало снижение общей смертности (16% против 14,5%,  $p=0,0035$ ) и смертности обусловленной кровотечением (5,7 против 4,9,  $p=0,0077$ ) без повышения частоты тромботических осложнений в группе, пролеченной транексамовой кислотой, в сравнении с группой, получавшей плацебо.

### Заключение

Гемодилуция, возникающая при травмах и больших оперативных вмешательствах, индуцирует целый комплекс гемостатических нарушений. В дополнение к традиционной терапии в настоящее время проводятся клинические исследования по изучению эффективности применения концентратов факторов свертывания крови, а также комбинированных препаратов, содержащих комплекс факторов свертывания крови. Предварительные результаты показали эффективность этой новой группы лекарственных средств в лечении вторичных коагулопатий, однако, необходимы дополнительные исследования для более полного понимания патофизиологии возникающих изменений в системе свертывания крови и месте новой группы гемостатических препаратов.

### Литература

1. Bolliger, D., Szlam F., Levy J.H. et al. Haemodilution-induced profibrinolytic state is mitigated by fresh-frozen plasma: Implications for early haemostatic intervention in massive haemorrhage // *Br J Anaesth.* - 2010. - №104. - P.318-325.
2. Bolliger, D., Szlam F., Molinaro R.J. et al. Finding the optimal concentration range for fibrinogen replacement after severe haemodilution: An in vitro model // *Br J Anaesth.* - 2009. - №102. - P.793-799.
3. Uitte de Willige S., de Visser M.C., Houwing-Duistermaat J.J. et al. Genetic variation in the fibrinogen gamma gene increases the risk for deep venous thrombosis by reducing plasma fibrinogen gamma levels // *Blood.* - 2005. - №106. - P.4176-4183.
4. Martini, W. Z., Holcomb J.B. Acidosis and coagulopathy: The differential effects on fibrinogen synthesis and breakdown in pigs // *Ann Surg.* - 2007. - №246. - P.831-835.
5. Collet, J.P., Park D., Lesty C., et al. Influence of fibrin network conformation and fibrin fiber diameter on fibrinolysis speed: Dynamic and structural approaches by confocal microscopy // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* - 2000. - №20. - P.1354-1361.
6. Hathcock, J.J., Nemerson Y. Platelet deposition inhibits tissue factor activity: In vitro clots are impermeable to factor Xa // *Blood.* - 2004. - №104. - P.123-127.
7. O'Shaughnessy, D.F., Atterbury C., Bolton Maggs P. et al. British Committee for Standards in Haematology, Blood Transfusion Task Force: Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant // *Br J Haematol.* - 2004. - №126. - P.11-28.
8. Rossaint, R., Bouillon B., Cerny V. et al. Management of bleeding following major trauma: An updated European guideline // *Crit Care.* - 2010. - №14. - P.52.
9. Gerlach, R., Toille F., Raabe A. et al. Increased risk for postoperative hemorrhage after intracranial surgery in patients with decreased factor XIII activity: Implications of a prospective study // *Stroke.* - 2002. - №33. - P.1618-1623.
10. Rugeri, L., Levrat A., David JS. et al.: Diagnosis of

early coagulation abnormalities in trauma patients by rotation thrombelastography // *J Thromb Haemost.* - 2007. - №5. - P.289-295.

11. Grant, P.J. Hormonal regulation of the acute haemostatic response to stress // *Blood Coagul Fibrinolysis.* - 1990. - №1. - P.299-306.
12. Schochl, H., Nienaber U., Hofer G. et al. Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thrombelastometry (ROTEM(R))-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate // *Crit Care.* - 2010. - №14. - P.55.
13. Kozek-Langenecker, S.A. Effects of hydroxyethyl starch solutions on hemostasis // *Anesthesiology.* - 2005. - №103. - P.654-660.
14. Mittermayr, M., Streif W., Haas T. et al. Effects of colloid and crystalloid solutions on endogenous activation of fibrinolysis and resistance of polymerized fibrin to recombinant tissue plasminogen activator added ex vivo // *Br J Anaesth.* - 2008. - №100. - P.307-314.
15. Fries, D., Innerhofer P., Klingler A. et al. The effect of the combined administration of colloids and lactated Ringer's solution on the coagulation system: An in vitro study using thrombelastograph coagulation analysis (ROTEG) // *Anesth Analg.* - 2002. - №94. - P.1280-1287.
16. Nielsen, V. G. Hydroxyethyl starch enhances fibrinolysis in human plasma by diminishing alpha2-antiplasmin-plasmin interactions // *Blood Coagul Fibrinolysis.* - 2007. - №18. - P.647-656.
17. Ruttman, T.G., James M.F., Finlayson J. Effects on coagulation of intravenous crystalloid or colloid in patients undergoing peripheral vascular surgery // *Br J Anaesth.* - 2002. - №89. - P.226-230.
18. Blajchman, M. A., Bordin J. O., Bardossy L. et al. The contribution of the haematocrit to thrombocytopenic bleeding in experimental animals // *Br J Haematol.* - 1994. - №86. - P.347-350.
19. Gonzalez, E.A., Moore F.A., Holcomb J.B. et al. Fresh frozen plasma should be given earlier to patients requiring massive transfusion // *J Trauma.* - 2007. - №62. - P.112-119.
20. Roback, J. D., Caldwell S., Carson J. et al. Evidence-based practice guidelines for plasma transfusion // *Transfusion.* - 2010. - №50. - P.1227-1239.
21. Stinger, H. K., Spinella P. C., Perkins J. G. et al. The ratio of fibrinogen to red cells transfused affects survival in casualties receiving massive transfusions at an army combat support hospital // *J Trauma.* - 2008. - №64. - P.79-85.
22. Lang, T., Johannig K., Metzler H. et al. The effects of fibrinogen levels on thromboelastometric variables in the presence of thrombocytopenia // *Anesth Analg.* - 2009. - №108. - P.751-758.
23. Haas, T., Fries D., Velik-Salchner C. et al. Fibrinogen in craniostomosis surgery // *Anesth Analg.* - 2008. - №106. - P.725-731.
24. Gerlach, R., Toille F., Raabe A. et al. Increased risk for postoperative hemorrhage after intracranial surgery in patients with decreased factor XIII activity: Implications of a prospective study // *Stroke.* - 2002. - №33. - P.1618-1623.
25. Levy, J.H., Tanaka K.A., Dietrich W. Perioperative hemostatic management of patients treated with vitamin K antagonists // *ANESTHESIOLOGY.* - 2008. - №109. - P.918-926.
26. Bruce, D., Nokes T.J. Prothrombin complex concentrate (Beriplex P/N) in severe bleeding: Experience in a large tertiary hospital // *Crit Care.* - 2008. - №12. - P.105.
27. Staudinger, T., Frass M., Rintelen C. et al. Influence of prothrombin complex concentrates on plasma coagulation in critically ill patients // *Intensive Care Med.* - 1999. - №25. - P.1105-1110.
28. Schochl, H., Nienaber U., Hofer G. et al. Goal-directed coagulation management of major trauma patients using thrombelastometry (ROTEM(R))-guided administration of fibrinogen concentrate and prothrombin complex concentrate // *Crit Care.* - 2010. - №14. - P.55.
29. Spiess, B.D., Royston D., Levy J. H. et al. Platelet transfusions during coronary artery bypass graft surgery are associated with serious adverse outcomes // *Transfusion.* - 2004. - №44. - P.1143-1148.
30. Shakur, H., Roberts R., Bautista R., et al. Effects of tranexamic acid on death, vascular occlusive events, and blood transfusion in trauma patients with significant haemorrhage (CRASH-2): A randomised, placebo-controlled trial // *Lancet.* - 2010. - №376. - P. 23-32.

Поступила 26.11.2012 г.