

На правах рукописи

БЕЛЯВСКАЯ
Ольга Олеговна

**МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ У
АМБУЛАТОРНЫХ БОЛЬНЫХ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ
ЗАБОЛЕВАНИЯМИ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России и Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования "Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Вавилова Татьяна Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра.

Официальные оппоненты:

Шмелева Вероника Михайловна – доктор медицинских наук, ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», ведущий научный сотрудник лаборатории свертывания крови.

Павлова Татьяна Валентиновна – доктор медицинских наук, Институт профессионального образования ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры кардиологии и кардиохирургии

Ведущая организация:

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «30» июня 2015 года в 15.00 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России (194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, дом 4/2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков, дом 54 и на сайте (<http://www.argserm.ru>).

Автореферат разослан «___»_____2015г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Тромбоэмболические осложнения (ТЭО) сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) приводят к ухудшению качества жизни, инвалидизации или смерти пациентов. Важное место в группе ТЭО занимают тромбоз глубоких вен (ТГВ) и тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), атеротромботические и кардиоэмболические ишемические инсульты.

После перенесенного первого эпизода острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) 75% пациентов выживают, но у подавляющего большинства из них развиваются различные функциональные ограничения [Тул Дж.Ф., Гусев Е.И., 2007]. Только антитромботическая терапия уменьшает смертность, связанную с кардиоэмболическими инсультами при фибрилляции предсердий [Hylek E.M., Go A.S., Chang Y., 2003].

В общей популяции ежегодно фиксируют 50–70 новых случаев заболевания ТГВ, 35–40 новых случаев заболевания ТЭЛА на 100000 человек [Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоэмболических осложнений, 2010]. Риск возникновения рецидивов ТГВ и ТЭЛА у пациентов, не получающих стандартной антикоагулянтной терапии, кумулятивно возрастает до 40% через 10 лет [Prandoni P., 2007].

Пациенты с последствиями ОНМК, ТГВ, ТЭЛА составляют значительную долю амбулаторных больных. Лечение осложнений ССЗ и предупреждению повторных эпизодов в долгосрочной перспективе отводится главная роль в работе неврологов, сосудистых хирургов, пульмонологов, терапевтов и врачей других специальностей.

Одной из причин ТЭО является активация свертывающей системы крови. Она может рассматриваться как ранний предиктор тромбоэмболических осложнений, выявление которого на доклиническом этапе является важной диагностической задачей. Скрининговые тесты коагуляции, отражая только 5% генерации тромбина [Bauer K.A., Rosenberg R.D., 1987], не могут решить эту задачу. Результаты рутинных клоттинговых тестов чаще всего не изменяются даже при наступлении тромбоза [Nemkear H.C., Al Dieri R., Beguin S., 1987]. Набор лабораторных тестов и их клиническое значение для раннего выявления активации свертывания остается предметом дискуссии. В настоящее время не разработаны стандарты и алгоритмы выполнения этих исследований у амбулаторных больных с ССЗ. Отсутствуют сведения и о динамике маркеров активации у пациентов, принимающих новые антикоагулянты – прямые ингибиторы факторов свертывания (дабигатран, ривароксабан), как дополнительных маркерах эффективности терапии.

Доступными и обсуждаемыми в литературе являются уровень D-димера, фибриногена, активности фактора VIII и антигена фактора Виллебранда. Эти показатели отражают процесс формирования перекрестно-сшитого фибрина, состояние эндотелия, активность воспалительного процесса, тесно связанного с гемостатическими реакциями. Между тем их диагностическое и прогностическое значение для больных вне острого тромботического эпизода в полной мере не определено.

Таким образом, изучение комплекса маркеров для лабораторной оценки активации свертывания крови у амбулаторных больных на доклинической стадии представляет собой актуальную задачу.

Степень разработанности темы

Имеющиеся в литературе сведения о маркерах активации свертывания крови у больных с ССЗ, ассоциации их повышения с повторными ТЭО нередко противоречивы. Так, по мнению Ndrepera G., Braun S., King L. (2014) уровень фибриногена в плазме крови не дает дополнительной информации для прогнозирования риска осложнений ССЗ и смертности. Однако, Alonso A., Tang W., Agarwal SK. в 2012 году установили достоверную взаимосвязь между повышением значений маркеров активации свертывания с неблагоприятными исходами ССЗ. К результатам измерения уровня D-димера в качестве прогностического признака неблагоприятного течения ССЗ [A. Di Gastelnuovo, A. De Curtis, S. Costanzo, 2013; Odden MC., Shlipak MG., Whitson HE., 2014], или дополнительного критерия эффективности приема анти-витамин К препаратов [Вавилова Т.В., Мнускина М.М., Крупоткина И.Г., 2009], или для исключения риска рецидива при прекращении антикоагулянтной терапии [Hylek EM., 2013; Rojas-Hernandez CM., Garcia DA., 2013] следует относиться с осторожностью у пациентов старшей возрастной группы вследствие развития у них гиперкоагуляционного синдрома [Schouten HJ., Geersing GJ., Koek HL., 2013]. Международные рекомендации и российские стандарты не включают лабораторный мониторинг антитромбоцитарной терапии и терапии прямыми ингибиторами факторов свертывания. Однако, этот вопрос обсуждается [Hugoten Cate, 2015], и некоторые исследователи указывают на снижение уровня D-димера и антигена фактора Виллебранда при приеме антиагрегантов [Tobin WO., Kinsella JA., Kavanagh GF., 2014], дабигатрана [BaglinT., 2013] и ривароксабана [Mani H., Hesse C., Stratmann G., 2013]. Поэтому в настоящее время существует потребность в определении клинико-диагностического значения маркеров активации свертывания крови у амбулаторных пациентов.

Цель исследования

Определить клинико-диагностическое значение маркеров активации свертывания крови у амбулаторных больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями для оценки риска тромбоэмболических осложнений и эффективности антитромботической терапии.

Задачи исследования

1. Провести комплексную оценку маркеров активации свертывания крови (D-димер, фибриноген, активность фактора VIII, антиген фактора Виллебранда) у амбулаторных больных, в том числе с сердечно-сосудистыми заболеваниями.
2. Изучить уровень маркеров активации свертывания у больных, перенесших ишемический инсульт и (или) транзиторную ишемическую атаку, и определить значение их повышения для выявления риска повторных цереброваскулярных состояний.
3. Оценить эффективность применения коррекции значения верхней границы референтного интервала D-димера у пожилых пациентов в амбулаторной практике.
4. Определить значение измерения маркеров активации свертывания как дополнительного критерия эффективности терапии варфарином и прямыми ингибиторами факторов свертывания (дабигатран, ривароксабан).

Научная новизна и теоретическая значимость работы

Впервые у здоровых добровольцев и амбулаторных больных различного профиля детально исследованы взаимосвязи между демографическими показателями (возраст,

пол), лабораторными параметрами (22 показателя), факторами риска развития осложнений ССЗ и комплексом маркеров активации свертывания с целью изучения физиологических и патогенетических механизмов их повышения.

Впервые исследована синхронная реакция маркеров активации свертывания крови – D-димера, активности фактора VIII, антигена фактора Виллебранда, фибриногена – у больных с ССЗ и их осложнениями. Впервые определены риски повторных цереброваскулярных событий при повышении уровня фибриногена, антигена фактора Виллебранда и активности фактора VIII у амбулаторных больных, перенесших ишемический инсульт и (или) транзиторную ишемическую атаку.

Отмечено отсутствие необходимости исследования маркеров активации свертывания крови как критерия эффективности терапии антиагрегантами и прямыми ингибиторами факторов свертывания – новыми пероральными антикоагулянтами (НПОАК).

Впервые обоснована лабораторная панель маркеров, позволяющая оценить активацию свертывания крови у амбулаторных больных с ССЗ.

Практическая значимость работы

Определена эффективность пересчета дискриминационных значений D-димера у пожилых пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в амбулаторной практике для снижения количества результатов вне референтного интервала.

Выявлена необходимость определения активности фактора VIII для прогнозирования риска повторного острого цереброваскулярного события.

Предложена для практического здравоохранения панель маркеров активации свертывания крови у амбулаторных больных с ССЗ и их осложнениями.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Лабораторные маркеры активации свертывания крови (D-димер, фибриноген, активность фактора VIII, антиген фактора Виллебранда) синхронно отражают гиперкоагуляционную активность у амбулаторных больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями; их повышение ассоциировано с повторными цереброваскулярными событиями.

2. Коррекция дискриминационных значений D-димера в соответствии с возрастом у лиц старше 50 лет ведет к снижению количества результатов вне референтного интервала.

3. Уровни маркеров активации свертывания крови (D-димера, фибриногена, активности фактора VIII, антигена фактора Виллебранда) не отражают эффективность терапии антиагрегантами и прямыми ингибиторами факторов свертывания.

Методология и методы исследования

Для реализации поставленной цели научной работы были использованы анализ литературы, современные методы статистической обработки данных и дискриминантный анализ. В основу положено проспективное когортное наблюдение и наблюдение случай-контроль. Лабораторные исследования выполнены на высокотехнологичном оборудовании.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обеспечена детальным теоретическим анализом проблемы, репрезентативным объемом выборок обследованных пациентов, достаточным количеством проведенных

исследований системы гемостаза и адекватным статистическим анализом полученных данных. Сформированные и обследованные группы больных были сопоставимы по полу, возрасту, характеру сопутствующих заболеваний, репрезентативны по количеству и могли использоваться для решения поставленных задач.

Материалы диссертационного исследования доложены и обсуждены на X и XI Международном славянском конгрессе «Кардиостим» (Санкт-Петербург, 2012, 2014), на XVII форуме «Национальные дни лабораторной медицины России» (Москва, 2013), на VI и VII Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2013, 2015), на межвузовской научно-практической конференция молодых ученых и специалистов «Трансляционная медицина: от теории к практике» (Санкт-Петербург, 2013), на Всероссийской конференции с международным участием «Клинические и лабораторные проблемы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 2013), на XXIV Конгрессе Международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH) «XXIV Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH)» (Амстердам, 2013), на Молодежном форуме «Polytech Rise Weekend» (Санкт-Петербург, 2013), на Конкурсе научно-исследовательских и инновационных проектов молодых ученых в рамках конференции «Профилактическая медицина – 2013» (Санкт-Петербург), на XXV Заседании ангиоклуба «Новые подходы в лечении тромбоза глубоких вен» (Санкт-Петербург, 2014), на XIX Всероссийской научно-практической конференции "Консолидация науки и практики в лабораторной медицине" (Москва, 2014), на Национальном конгрессе с международным участием «Тромбозы, гемостаз и патология сосудов: современные подходы к диагностике и лечению» (Москва, 2014), на Научно-практической конференции, посвященной 25-летию Городского консультативно-диагностического центра №1 (Санкт-Петербург, 2014), на XX Всероссийской юбилейной научно-практической конференции «Достижения и перспективы развития лабораторной службы России» (Москва, 2015).

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры клинической лабораторной диагностики Северо-Западного государственного медицинского университета имени И.И. Мечникова, в практической деятельности ГБУЗ «Городской консультативно-диагностический центр №1», г. Санкт-Петербург, ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России.

Личный вклад автора

Диссертант лично участвовала в планировании и организации научной работы, разработала положения, задачи, дизайн исследования. Автор лично выполнила исследования плазменного звена системы гемостаза и индуцированную агрегацию тромбоцитов из образцов крови всех испытуемых, участвовала в консультациях и клиническом наблюдении за всеми включенными в исследование пациентами совместно с лечащими врачами. Все материалы, представленные в диссертационном исследовании, получены, обобщены, статистически обработаны и проанализированы автором лично.

Публикации результатов исследования

По материалам диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной

комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований, учебно-методическое пособие.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 23 таблицами и 6 рисунками. Библиография включает 188 источников, из них 47 – отечественных и 141 – зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Для решения поставленных задач на I этапе исследования была проанализирована база данных межрайонной централизованной клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ «Городской консультативно-диагностический центр №1» (заведующая лабораторией Мнускина М.М., главный врач – Рюмина Г.В.), включавшая 12073 результата измерений маркеров активации свертывания, выполненных с 10.01.2013 по 31.12.2013 года. Далее результаты измерений каждого маркера были разделены на подгруппы по уровню значения верхней границы референтного интервала, по возрасту (50 лет и младше; старше 50 лет), по гендерному признаку.

На II этапе на основании критериев включения и клинических данных в соответствии с поставленными задачами были сформированы группы обследованных (табл.1) – всего 459 человек.

Таблица 1

Характеристика групп пациентов, включенных в исследование, Me [25%;75%]

Группы	Количество	Мужчины	Женщины	Средний возраст, лет
Здоровые добровольцы	30	10	20	34 [27; 46]
Больные с ССЗ*	224	106	118	60 [53; 65]
Больные, перенесшие ИИ и (или) ТИА	130	62	68	56 [48; 66]
Больные, принимающие варфарин	108	35	73	60 [49; 70]
Больные, получающие терапию НПОАК	136	61	75	72 [65; 77]

* – включены больные с заболеваниями артерий и вен различной локализации

Критерии включения в исследование: возраст старше 18 лет; подписанное информированное согласие на использование результатов обследования и лечения; ССЗ, подтвержденные функциональными и/или лабораторными исследованиями, в том числе ИИ и (или) ТИА, ТГВ или ТЭЛА, перенесенные не менее 3 месяцев назад.

Критерии исключения из исследования: отказ от участия в исследовании; верифицированное онкологическое заболевание; хронический воспалительный процесс в стадии обострения; заболевания эндокринной системы; заболевания системы крови; верифицированный антифосфолипидный синдром или другое аутоиммунное

заболевание; наличие острого тромботического эпизода, перенесенного менее 3 месяцев назад; наличие искусственного клапана сердца; беременность.

В группе больных с ССЗ цереброваскулярной болезнью страдали 130 пациентов, облитерирующим атеросклерозом сосудов нижних конечностей (ОАСНК) – 58 больных, заболеваниями венозной системы – 42.

В группе больных, перенесших ИИ и (или) ТИА, в зависимости от возраста пациенты были разделены на 4 подгруппы: до 45 лет, 46-59 лет, 60-74 года, 75-89 лет [Классификация ВОЗ]. 60 пациентов перенесли ИИ; 15 – ТИА; 45 – кардиоэмболический инсульт на фоне ФП. 60 пациентов принимали ацетилсалициловую кислоту (АСК), 25 – клопидогрел, 45 – различные антикоагулянты (варфарин, дабигатран, ривароксабан). Срок после перенесенного события составил 9 [4; 18] месяцев. Длительность наблюдения – 1 год.

В группу больных, получающих варфарин, были включены пациенты, перенесшие один и более эпизодов ТГВ или ТЭЛА. Всего проанализировано 415 измерений маркеров активации. Больные, принимающие варфарин, были разделены на 3 подгруппы в соответствии с уровнем МНО (международное нормализованное отношение) на момент измерения маркеров активации свертывания: МНО в пределах терапевтического интервала, ниже или выше терапевтического интервала.

В группе больных, принимавших НПОАК, 130 имели фибрилляцию предсердий (ФП) неклапанной этиологии и 6 больных – ТГВ. 70 больных получали дабигатран в дозе 110 мг или 150 мг 2 раза в сутки; 66 больных – ривароксабан в дозе 15 мг или 20 мг 1 раз в сутки. Выбор дозы прямого ингибитора фактора свертывания осуществляли по состоянию почечной функции в соответствии с инструкцией к препарату. Период наблюдения за пациентами – от 6 месяцев до 2 лет. Кровь была исследована через 10-14 дней после начала терапии, через 1 месяц, 3 месяца, 6 месяцев, 9 месяцев, 12 месяцев, 18 месяцев и 24 месяца. Всего проанализировано 389 измерений маркеров активации.

Клиническая характеристика больных представлена в соответствующих главах.

Всем обследованным были определены маркеры активации свертывания крови (фибриноген, активность фактора VIII, антиген фактора Виллебранда, D-димер), а также выполнены скрининговые тесты коагуляции (протромбиновое время с расчетом МНО, АПТВ, тромбиновое время), клинический анализ крови, скорость оседания эритроцитов (СОЭ), биохимические исследования (холестерин, ЛПНП, глюкоза, С-реактивный белок – СРБ, гомоцистеин в сыворотке крови; рассчитана скорость клубочковой фильтрации – СКФ – по формуле Кокрофта-Голта). Клоттинговые коагуляционные тесты проводились с использованием наборов реагентов фирмы Stago (Франция) на анализаторе STA-Revolution (Roche, Швейцария). Исследования были выполнены в венозной крови, полученной стандартным образом утром натощак до приема антикоагулянта или антиагреганта.

Уровень D-димера определялся количественно в плазме методом иммунотурбидиметрии с латексным усилением с использованием набора STA® - Liatest® D-Di; активности фактора VIII – с использованием набора STA® - Deficient VIII; антигена фактора Виллебранда – иммунотурбидиметрическим методом с использованием наборов STA®- Liatest® VWF:Ag; концентрация фибриногена – количественно по A. Clauss.

Биохимические исследования были выполнены на анализаторе Cobas 6000 модуль 501 (Roche, Швейцария), клинический анализ крови – на анализаторе SYSMEX XT-2000i (Япония). Пациентам, принимавшим антиагреганты для профилактики повторного события, была исследована агрегация тромбоцитов из цельной крови методом импедансной агрегатометрии на анализаторе CHRONO-LOG (США) активаторами (АДФ и коллаген). Скрининговый тест на наличие волчаночного антикоагулянта был выполнен с использованием набора STA-Staclot DRVV Screen, подтверждающий тест – STA-Staclot DRVV Confirm.

Результаты исследований обрабатывали с использованием стандартного пакета статистических методов программы Statistica 10.0. Данные представлены в виде медианы и 25% и 75% процентиля (Me [25%;75%]). Для сравнения средних значений числовых показателей в различных группах использовали непараметрические методы - U-тест Манн-Уитни. Для определения корреляции между количественными характеристиками пользовались методом корреляции по Спирману. Коэффициент корреляции r от 0,30 до 0,70 при $p < 0,05$ означал положительную умеренную, но достоверную корреляцию между признаками; $r > 0,70$ при $p < 0,05$ – сильную и достоверную связь; $r < 0,30$ при $p < 0,05$ – положительную, но слабую достоверную связь; отрицательное значение r соответствовало обратной корреляции [Юнкеров В.И., Григорьев С.Г., 2005; Банержи А., 2007; Гржибовский А.М., 2008].

Для определения вклада различных лабораторных показателей, отражающих состояние органов и систем, а также характеризующих возможные патогенетические причины, в активацию свертывания крови был использован дискриминантный анализ [Боровиков В.П., 2001]. При оценке маркеров активации свертывания в качестве дискриминационных значений была принята верхняя граница референтных интервалов [Долгов В.В., Меньшиков В.В., 2012; Тиц Н., 2012], с последующим анализом лиц, имеющих результаты ниже или равные верхней границе референтных интервалов или превышающих их.

Коррекция референтных значений D-димера в соответствии с возрастом для лиц старше 50 лет была выполнена по формуле, предложенной Douma R.A. (2012): верхняя граница референтного интервала D-димера (мкг/мл) = возраст пациента (годы) \times 0,01.

Относительный риск (OR) рассчитывали с 95% доверительным интервалом (CI) по формуле: $OR = a/b \times d/c$, где a и b – количество перенесших повторное цереброваскулярное событие больных, имеющих и не имеющих повышение маркеров активации свертывания, c и d – количество человек без повторного цереброваскулярного события, имеющих и не имеющих повышение маркеров активации свертывания, соответственно. Границы доверительного интервала вычисляли по формулам: $OR_{min} = OR(1 - 1,96/\sqrt{\chi^2})$ и $OR_{max} = OR(1 + 1,96/\sqrt{\chi^2})$, где $\chi^2 = ((a \times d - b \times c) - 0,5n)^2 \times (n-1) / (n0 \times n1 \times m0 \times m1)$; $n1 = a + b$; $n0 = c + d$; $m1 = a + c$; $m0 = b + d$; $n = n1 + n0 + m1 + m0$.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Маркеры активации свертывания крови в группе здоровых добровольцев. Уровень маркеров активации ни у одного из обследованных не превышал верхнюю границу референтного интервала. Медиана D-димера составила 0,28 [0,22; 0,33] мкг/мл; концентрации фибриногена – 2,79 [2,24; 2,99] г/л; антигена фактора Виллебранда – 108 [90; 118] %; активности фактора VIII – 106 [102; 132] %. Отмечается слабая

недостовверная корреляция маркеров активации свертывания между собой (табл. 2), сильная достоверная – между фактором VIII и фактором Виллебранда, что соответствует их физиологическому свойству существовать в тесной связи, защищая фактор VIII от преждевременного разрушения и активации.

Таблица 2

Корреляционные связи (коэффициент корреляции – r) между маркерами активации свертывания крови у здоровых добровольцев

Показатель	D-димер, мкг/мл	Фибриноген, г/л	Антиген фактора Виллебранда, %	Активность фактора VIII, %
D-димер, мкг/мл	-	0,11, p>0,05	0,05, p>0,05	0,10, p>0,05
Фибриноген, г/л	-	-	0,22, p>0,05	0,24, p>0,05
Антиген фактора Виллебранда, %	-	-	-	0,72, p<0,05

Анализ базы данных централизованной клинико-диагностической лаборатории, выполненный на I этапе исследования, был основан на общепринятых референтных интервалах для выбранных маркеров активации свертывания [Долгов В.В., Меньшиков В.В., 2012; Тиц Н., 2012]. Количество результатов с превышением верхней границы для D-димера составило 42,3 % (934 из 2209 измерений), для фибриногена – 15,8 % (1329 из 8391 измерения), для фактора VIII – 58,2 % (227 из 390 измерений), для фактора Виллебранда – 36,2 % (392 из 1083 измерений).

В соответствии с возрастом пациенты были разделены на 2 подгруппы. Результаты измерений маркеров активации свертывания в подгруппах представлены в таблице 3.

Таблица 3

Уровень маркеров активации свертывания крови у амбулаторных пациентов в зависимости от возраста, Me [25%;75%].

Показатель	n ≤50 лет/>50 лет	Результаты измерений у лиц ≤ 50 лет	Результаты измерений у лиц > 50 лет
D-димер, мкг/мл	567/1642	0,32 [0,24; 0,49]	0,46 [0,31; 0,83]*
Фибриноген, г/л	2014/6377	2,83 [2,49; 3,27]	3,33 [2,95; 3,78]*
Антиген фактора Виллебранда, %	417/666	117 [90; 158]	146 [111; 188]*
Активность фактора VIII, %	99/291	155 [131; 192]	158 [129; 205]

* - достоверность различия между подгруппами, p<0,05

Уровень D-димера в старшей подгруппе был достоверно выше, а доля результатов, превышающих верхнюю границу референтного интервала (0,5 мкг/мл) составила 44,2% (727 из 1642 измерений) и 23,8% у лиц более молодого возраста (p<0,05). Наши данные согласуются с мнением многих исследователей о повышении уровня D-димера с возрастом, что объясняется сопутствующей соматической патологией, хроническими воспалительными процессами, прогрессированием атеросклероза, ассоциированными с активацией гемостатических реакций [Zakai N., Katz R., Jenny N., 2007; Kleinegris MC., ten Cate H., ten Cate-Hoek AJ., 2013; Wannamethee SG., Whincup PH., Lennon L., 2014]. Количество результатов, превышающих новый референтный интервал, после коррекции дискриминационных значений согласно возрасту снизилось на 197, что ведет к уменьшению на 21% результатов вне референтного интервала.

В амбулаторной практике использование референтных интервалов D-димера с учетом пожилого возраста играет важную роль, поскольку D-димер используется в диагностике ТГВ и ТЭЛА (для исключения), отражает активацию свертывания крови, определяет прогноз течения сердечно-сосудистых заболеваний и общей смертности [исследование MOLI-SANI, 2013], рассматривается как показатель эффективности антикоагулянтной терапии и безопасности ее отмены. Результаты измерения в пределах референтных значений, скорректированных по возрасту, позволяют уменьшить количество дополнительных функциональных и лабораторных исследований.

Нами выявлены достоверные возрастные различия и по другим маркерам активации свертывания крови. Так, превышение верхнего предела референтного интервала по уровню фибриногена в старшей возрастной подгруппе составило 16,8%, антигена фактора Виллебранда – 40,1%. Медианы этих показателей находились в пределах референтных значений, но проявилась достоверная взаимосвязь между возрастом и антигеном фактора Виллебранда ($r=0,30$; $p<0,05$), между возрастом и показателем фибриногена ($r=0,30$; $p<0,05$). В то же время медианы активности фактора VIII превышали референтный интервал в обеих подгруппах (табл.3). Несмотря на то, что фактор Виллебранда и фактор VIII физиологически тесно связаны между собой (корреляционная связь показателей в группе здоровых добровольцев сильная и достоверная, $r=0,72$; $p<0,05$), только антиген фактора Виллебранда положительно коррелирует с возрастом. В связи с этим можно сделать предположение о пользе исследования активности фактора VIII, а не антигена фактора Виллебранда, в качестве маркера активации свертывания крови у пациентов старше 50 лет.

По отдельным показателям отмечены и гендерные различия некоторых маркеров активации свертывания. Отмечено достоверное повышение фибриногена и антигена фактора Виллебранда у мужчин, несмотря на то, что медианы не выходили за пределы референтных значений (табл.4). Наиболее вероятным объяснением является широкое распространение курения, которое ведет к прогрессирующему развитию атеросклероза и эндотелиальной дисфункции [MA. Hassan Talukder, Wesley M. Johnson, Saradhadevi Varadharaj, 2011] среди мужского населения. Так, по данным исследования АРГО, в которое включены 18273 жителя России, в нашей стране курят 44,4% мужчин и 8,8% женщин ($p<0,001$) [Ахмеджанов Н.М, 2015]. По данным того же исследования артериальная гипертензия, ожирение и сахарный диабет больше распространены среди женщин. Это нашло отражение в нашей когорте обследованных в виде повышения активности фактора VIII, свидетельствующего о гиперкоагуляционном статусе и риске тромботических осложнений среди женщин.

Таблица 4

Уровень маркеров активации свертывания крови у амбулаторных пациентов в зависимости от пола, Ме [25%;75%].

Показатель	n (м/ж)	Результаты измерений у мужчин	Результаты измерений у женщин
D-димер, мкг/мл	759/1450	0,41 [0,27; 0,91]	0,42 [0,29; 0,69]
Фибриноген, г/л	2639/5752	3,24 [2,81; 3,78]*	3,21 [2,82; 3,66]
Антиген фактора Виллебранда, %	330/753	142 [108; 187]*	131 [99; 176]
Активность фактора VIII, %	135/255	147 [120; 189]	162 [131; 207]*

* - достоверность различия между подгруппами, $p<0,05$

В ходе проведения I этапа исследования при использовании дискриминантного анализа проявилась тесная взаимосвязь маркеров активации свертывания между собой. Так, достоверная корреляция была выявлена между уровнем D-димера и активности фактора VIII ($r=0,72$, $p<0,05$), уровня D-димера и антигена фактора Виллебранда ($r=0,72$, $p<0,05$), D-димера и фибриногена ($r=0,41$, $p<0,05$), фибриногена и антигена фактора Виллебранда ($r=0,31$, $p<0,05$), фибриногена и активности фактора VIII ($r=0,25$, $p<0,05$), антигена фактора Виллебранда и активности фактора VIII ($r=0,69$, $p<0,05$), что свидетельствует о синхронной «работе» маркеров активации свертывания крови.

Уровень D-димера максимально ассоциировался с повышением СРБ, измеренным ультрачувствительным методом ($r=0,90$, $p<0,05$), отражая тесную связь маркеров активации свертывания крови и воспаления даже в начальной или не выраженной стадии. В то же время достоверные связи с другими стандартными критериями воспалительного процесса отсутствовали. Таким образом, при оценке повышения уровня D-димера необходимо принимать во внимание наличие воспаления, оцененного по уровню СРБ-ультрачувствительный.

Напротив, уровень активности фактора VIII ассоциировался с количеством лейкоцитов ($r=0,20$, $p<0,05$) и СОЭ ($r=0,45$, $p<0,05$) в соответствии со своей ролью белка острой фазы воспаления. Достоверная корреляция была выявлена со СКФ ($r=-0,57$, $p<0,05$); одновременно отмечена связь и фибриногена с СКФ ($r=-0,56$, $p<0,05$). Наиболее вероятным объяснением является развитие кардиоренальных взаимодействий, широко описанных в литературе [Liang K.V., Williams A.W., Greene E.L., 2008; Ronco C., McCullough P., Anker S., 2010]. Данный патогенетический механизм (а возможно и рено-кардиальные взаимоотношения) проявился и в корреляции антигена фактора Виллебранда с креатинином ($r=0,72$, $p<0,05$). В то же время нарушения липидного обмена, связанные с дисфункцией эндотелия, проявились слабой, но достоверной связью холестерина и антигена фактора Виллебранда ($r=0,20$, $p<0,05$).

Фибриноген, как белок острой фазы воспаления, был тесно связан со стандартными диагностическими критериями воспалительного процесса – СРБ-ультрачувствительным ($r=0,80$, $p<0,05$), СОЭ ($r=0,60$, $p<0,05$), количеством лейкоцитов ($r=0,25$, $p<0,05$), количеством тромбоцитов ($r=0,20$, $p<0,05$).

Таким образом, анализ лабораторной базы данных показал распространенность повышения маркеров активации свертывания у амбулаторных больных, позволил проанализировать возрастные и гендерные различия на большом массиве измерений, оценить вклад лабораторных критериев патогенетических синдромов (воспаление, кардиоренальный синдром, нарушения липидного обмена), апробировать коррекцию референтных интервалов D-димера в зависимости от возраста с потенциальным снижением результатов вне референтного интервала. Важным фактом явилось синхронное повышение выбранных нами маркеров активации свертывания с высоким уровнем корреляции, в отличие от здоровых добровольцев, у которых корреляционные связи объясняются только физиологическими механизмами.

Исследование маркеров активации свертывания крови у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями. На II этапе исследования была сформирована группа амбулаторных пациентов с ССЗ. Отправной точкой оценки активации свертывания крови был выбран уровень D-димера, как показателя, хорошо известного

не только в качестве диагностического критерия ТГВ и ТЭЛА, но и прогностического признака течения сердечно-сосудистых заболеваний [Di Castelnuovo A., de Curtis A., Costanzo S., 2010; Odden M.C., Shlipak M.G., Whitson H.E., 2014]. В подгруппе с уровнем D-димера > 0,5 мкг/мл пациенты оказались статистически достоверно старше (p=0,01): медиана возраста в первой подгруппе – 64 [57; 67] лет и 55,5 [49; 63] лет во второй. Одновременно с увеличением уровня D-димера повышались и другие маркеры активации свертывания (табл.5).

Таблица 5

Маркеры активации свертывания крови у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями в зависимости от уровня D-димера, Ме [25%;75%].

Показатель	D-димер ≤ 0,5 мкг/мл, n=124	D-димер > 0,5 мкг/мл, n=100
D-димер, мкг/мл	0,29 [0,24; 0,41]	1,01 [0,71; 1,91]*
Активность фактора VIII, %	175 [113; 186]	196 [162; 216]*
Антиген фактора Виллебранда, %	111 [90; 165]	156 [127; 225]*
Фибриноген, г/л	3,12 [2,82; 3,72]	3,49 [3,02; 3,98]*

* - достоверность различия между подгруппами, p<0,05

В отличие от группы здоровых добровольцев, корреляционные связи между маркерами активации свертывания крови в группе больных ССЗ, независимо от уровня D-димера, являются достоверными, что подтверждает их синхронное изменение и тот факт, что они являются свидетелями и действующими лицами одних и тех же процессов (табл.6). Комплекс патогенетических механизмов, задействованный в развитии сердечно-сосудистой патологии, включающий дисфункцию эндотелия, усиленное фибринообразование и хронические воспалительные изменения с активацией цитокиновой системы позволяет рассматривать целесообразность включения изученных маркеров активации свертывания в лабораторную панель оценки данных процессов.

Таблица 6

Корреляционные связи (коэффициент корреляции – r) между маркерами активации свертывания крови у больных с ССЗ (p<0,05)

Показатель	D-димер, мкг/мл	Фибриноген, г/л	Антиген фактора Виллебранда, %	Активность фактора VIII, %
D-димер, мкг/мл	-	0,11, p>0,05	0,45, p<0,05	0,41, p<0,05
Фибриноген, г/л	-	-	0,51, p<0,05	0,39, p<0,05
Антиген фактора Виллебранда, %	-	-	-	0,81, p<0,05

Значительную долю в группе больных с ССЗ составили пациенты старше 50 – 77,8%. Использование формулы для коррекции верхней границы референтного интервала значений D-димера у пожилых позволило снизить количество результатов вне референтного интервала в группе больных с ССЗ на 18 (18%).

Дополнительной оценке подверглись связи уровней маркеров активации свертывания и лабораторных характеристик различных патогенетических звеньев и доказанных факторов риска развития, прогрессирования и отягощения сердечно-сосудистых заболеваний и выбранных на основании дискриминантного анализа: уровня холестерина, гемоглобина, СРБ-ультрачувствительного, глюкозы, СКФ и гомоцистеина. Медиана уровня холестерина в подгруппах с повышенными и нормальными маркерами активации свертывания составила 4,9 [4,1; 5,8] ммоль/л и 5,0 [4,4; 6,0] ммоль/л,

соответственно, $p > 0,05$. Отсутствие достоверной разницы обусловлено тем, что примерно половина больных принимали липидснижающие препараты. Так, в первой подгруппе статины принимали 59 пациентов (47,6%) с достижением целевых значений холестерина, во второй – 51 пациент (51%). Корреляционные связи между маркерами активации свертывания и уровнем холестерина были умеренными, но не достоверными.

Анемия рассматривается как дополнительный фактор, ухудшающий течение и прогноз у больных с сердечно-сосудистой патологией [Astor B. C., Coresh J., Heiss G., 2006; Naito Y., Tsujino T., Matsumoto M., 2009; Amir Qaseem, Linda L. Humphrey, Nick Fitterman, 2013]. В исследовании участвовало 39 пациентов с анемией легкой и средней степени [Рекомендации ВОЗ, 2011]. Отмечена корреляция уровня гемоглобина с уровнем D-димера и фибриногена ($r = -0,31$, $p < 0,05$), с уровнем антигена фактора Виллебранда и активности фактора VIII ($r = -0,71$, $p < 0,05$) и зависимость их от концентрации гемоглобина (табл.7).

Таблица 7

Зависимость уровня маркеров активации свертывания крови от содержания гемоглобина у амбулаторных пациентов с ССЗ, Me [25%;75%].

Показатель	Пациенты без анемии n=185	Пациенты с анемией n=39
Гемоглобин, г/л	143 [137; 152]	119 [110; 124]*
D-димер, мкг/мл	0,49 [0,3; 0,9]	1,00 [0,46; 1,67]*
Фибриноген, г/л	3,00 [2,88; 3,81]	3,62 [3,15; 4,22]*
Антиген фактора Виллебранда, %	132 [104; 161]	221 [127; 298]*
Активность фактора VIII, %	163 [142; 190]	251 [150; 339]*

* - достоверность различия между подгруппами, $p < 0,05$

Причина выявленных связей, вероятно, носит многофакторный характер. Анемия у больных с ССЗ по патогенезу является анемией хронических заболеваний, развивающейся на фоне постоянной активации цитокиновой системы в рамках хронических воспалительных процессов. Эти же процессы тесно связаны с активацией гемостатических реакций. Так, в работах Sharma S., Gage B. F., Deych E. и Hasin T., Sorokin A., Markiewicz W. в 2009 году показано влияние опосредованной воспалением активации свертывания на выживаемость больных с сердечной недостаточностью. Другим фактором активации свертывания может быть и хроническая гемическая гипоксия.

Подтверждения связи воспаления и активации гемостаза у больных с ССЗ были найдены и в нашем исследовании. Пациенты были разделены на 2 подгруппы в соответствии с верхней границей референтного интервала СРБ (табл.8). Интересным для оценки вклада воспаления в гиперкоагуляционное состояние оказалось усиление корреляции уровня D-димера и уровня фибриногена с уровнем СРБ в подгруппе пациентов с СРБ > 5 мг/мл при сохранении достоверности $p < 0,05$ ($r = 0,37$ и $r = 0,34$ при СРБ ≤ 5 мг/л; а при СРБ > 5 мг/л – $r = 0,61$ и $r = 0,67$, соответственно). Вероятно, в условиях отсутствия воспаления и меньшей силы корреляционных связей, использование маркеров активации свертывания крови имеет большую специфичность.

Результаты исследования маркеров активации свертывания крови у амбулаторных пациентов с лабораторными признаками воспаления, Me [25%;75%].

Показатель	СРБ \leq 5 мг/л, n=184	СРБ $>$ 5 мг/л, n=40
СРБ, мг/л	1,75 [0,9; 2,95]	8,43 [5,95; 11,03]*
D-димер, мкг/мл	0,44 [0,29; 0,93]	0,61 [0,39; 1,15] *
Фибриноген, г/л	3,26 [2,87; 3,62]	3,90 [3,56; 4,62]*
Антиген фактора Виллебранда, %	127 [101; 166]	151 [114; 188]
Активность фактора VIII,%	153 [130; 191]	162 [119; 198]

* - достоверность различия между подгруппами, $p < 0,05$

Хорошо известна связь ССЗ с развитием сахарного диабета в рамках метаболического синдрома и без него. Повышение концентрации глюкозы в сыворотке крови натошак как случайную находку мы обнаружили у 50 обследованных. Содержание в плазме крови фибриногена было достоверно выше у пациентов с нарушением углеводного обмена 3,77 [3,2; 4,19] г/л и 3,21 [2,89; 3,63] г/л при отсутствии признаков последнего, $p < 0,05$. Другие маркеры активации свертывания крови в указанных подгруппах достоверно не отличались. Тем не менее была выявлена корреляция антигена фактора Виллебранда и активности фактора VIII с уровнем глюкозы в обеих подгруппах ($r=0,35$, $p < 0,05$), что может рассматриваться как свидетельство логичного наличия дисфункции эндотелия с вторичной активацией плазменного гемостаза.

Изменение почечной функции часто сопровождает заболевания сердечно-сосудистой системы, отражая тесную связь кардиальных и почечных нарушений с формированием кардиоренального синдрома. В обеих подгруппах исследуемых (D-димер \leq 0,5 мкг/мл и D-димер $>$ 0,5 мкг/мл) отмечается сильная отрицательная корреляция комплекса маркеров активации свертывания крови с уровнем СКФ ($r=-0,92$, $p < 0,05$). Медиана СКФ составила 72,6 [61,5; 84,8] мл/мин. Среди обследованных не было пациентов с выраженным снижением экскреторной функции почек. Только у 6 из них отмечено снижение СКФ $<$ 70 мл/мин, что не позволило провести сравнительный анализ.

Гомоцистеин – продукт обмена метионина, повышенное содержание которого повышает риск развития артериальных и венозных тромбозов [Шмелева В.М., 2009]. В актуальной работе медиана гомоцистеина составила 9,23 [7,3; 11,33] мкмоль/л (всего 4 больных имели результат более 15 мкмоль/л). Несмотря на это была отмечена сильная положительная корреляция ($r=0,80$, $p < 0,05$) уровня фибриногена, антигена фактора Виллебранда, активности фактора VIII и уровня гомоцистеина.

Таким образом, уровень маркеров активации свертывания у больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями коррелирует с основными факторами риска их развития и прогрессирования. Различные патогенетические механизмы, задействованные в развитии болезней сердца и сосудов, находят отражение в изучаемой лабораторной панели, которая расшифровывает указанные механизмы.

Маркеры активации свертывания у больных, перенесших ишемический инсульт и (или) транзиторную ишемическую атаку. Среди пациентов с ССЗ существенную долю занимают больные с цереброваскулярной патологией, перенесшие нарушение мозгового кровообращения. Так, в Санкт-Петербурге ежегодно примерно

30000 пациентам оказывается скорая медицинская помощь по поводу острой цереброваскулярной болезни, и количество нуждающихся за период с 2009 по 2013 год снизилось только на 4,6% (в то же время для острого инфаркта миокарда это снижение составляет 35,1%) [данные МИАЦ, 2014]. Оценка состояния гемостаза как у лиц с атеротромботическими, так и кардиоэмболическими инсультами может иметь значение для прогнозирования повторных событий и определения эффективности вторичной антитромботической профилактики.

В исследование была включена группа больных, перенесших ИИ и (или) ТИА и наблюдающихся в ангионеврологическом отделении ГКДЦ№1 Санкт-Петербурга. В отличие от группы здоровых добровольцев, выявлены достоверные корреляции между маркерами активации ($r=0,69$, $p<0,05$). Достоверной разницы между ними у мужчин и женщин отмечено не было. В ходе работы обратил на себя внимание ранний средний возраст развития нарушения мозгового кровоснабжения – медиана составила 57 [49; 66] лет у мужчин и 55 [48; 66] лет у женщин. Этот факт не только подтверждает социальную значимость проблемы, но и предполагает отсутствие существенного влияния возрастных изменений на уровень маркеров активации свертывания. Действительно, достоверные отличия проявились только в подгруппе лиц 75 лет и старше с максимальным повышением маркера дисфункции эндотелия и сопряженной с ним активности фактора VIII (табл.9).

Таблица 9

Маркеры активации свертывания крови у амбулаторных больных, перенесших ИИ и (или) ТИА, в зависимости от возрастной подгруппы, Ме [25%;75%].

Показатель	Возрастные подгруппы			
	До 45 лет n=28	46-59 лет n=48	60-74 года n=41	75-89 лет n=13
D-димер, мкг/мл	0,38 [0,32; 0,47]	0,36 [0,27; 0,48]	0,39 [0,28; 0,67]	0,57 [0,38; 1,24]*
Фибриноген, г/л	3,23 [2,84; 3,82]	3,29 [2,94; 3,86]	3,45 [3,18; 3,85]	3,56 [3,13; 3,96]
Антиген фактора Виллебранда, %	121 [97; 136]	141 [108; 168]	143 [118; 195]	203 [168; 284]*
Активность фактора VIII, %	140 [128; 206]	153 [122; 188]	150 [123; 187]	186 [138; 240]*

* - достоверность различия показателей подгруппы 75-89 лет от показателей других возрастных подгрупп

Повышение уровня D-димера было нехарактерным для группы больных, перенесших ИИ и (или) ТИА. Так, концентрация этого маркера у пациентов до 50 лет (n=31) оказалась $\leq 0,5$ мкг/мл. У пациентов старше 50 лет (n=99) – 64 результата – $\leq 0,5$ мкг/мл и 35 – $> 0,5$ мкг/мл. При коррекции дискриминационных значений D-димера у пациентов старшей возрастной группы количество результатов вне референтного интервала снизилось на 40%.

У 48 из 130 обследованных с цереброваскулярной патологией (37%) выявлено увеличение концентрации холестерина и/или ЛПНП, несмотря на проводимую терапию гиполипидемическими препаратами (статины). У 15 из них уже развивались повторные эпизоды ТИА/ИИ. Поскольку липидоснижающая активность этих препаратов является дозозависимой, то отсутствие должного эффекта, вероятнее всего,

связано с неправильно подобранной дозой или отсутствием приверженности к терапии. В данной группе больных определяется положительная корреляция всех маркеров активации свертывания крови с уровнем холестерина и ЛПНП, особенно активности фактора VIII ($r=0,30$, $p<0,05$) и антигена фактора Виллебранда ($r=0,31$, $p<0,05$) как маркера эндотелиальной дисфункции при развитии атеросклеротического поражения внутренней выстилки сосудов. Сахарный диабет (СД) 2 типа, который является фактором риска не только первичных, но и повторных ОНМК [B. Mankovsky, D. Ziegler, 2004], диагностирован в 11 случаях, в 54,5% из них зафиксированы повторные эпизоды. В то же время у 32 пациентов, то есть в 3 раза больше, было выявлено повышение уровня глюкозы без верифицированного диагноза СД. Отмеченная слабая, но достоверная ($r=0,21$, $p<0,05$) корреляция маркеров активации свертывания крови с уровнем глюкозы в данной группе подтверждает связь нарушений углеводного обмена с активацией свертывания крови и риском повторных цереброваскулярных событий. В группе больных, перенесших острые цереброваскулярные события, нашли отражение закономерности, выявленные на общей амбулаторной популяции: корреляция всех маркеров активации свертывания с уровнем гемоглобина ($r=-0,21$, $p<0,05$), СОЭ и СРБ ($r=0,52$, $p<0,05$ и $r=0,44$, $p<0,05$, соответственно).

Особое место в обследовании больных с острыми цереброваскулярными событиями занимало определение волчаночного антикоагулянта (ВА) для исключения критерияльного антифосфолипидного синдрома, особенно в подгруппе молодых лиц без гемодинамически значимых поражений сосудов. Исследование ВА было выполнено у 40 пациентов. Положительный скрининговый тест с разведенным ядом гадюки Рассела был получен у 6 больных, а окончательное подтверждение наличия антифосфолипидного синдрома – у 1 пациента. Отмечена сильная положительная корреляция маркеров активации свертывания крови с результатами скринингового теста в целом по группе: фибриноген с $r=0,43$, $p<0,05$, антиген фактора Виллебранда с $r=0,53$, $p<0,05$, активность фактора VIII с $r=0,84$, $p=0,0001$, что свидетельствует о необходимости исследования уровня активности фактора VIII у амбулаторных пациентов, перенесших ОНМК. Это позволит не только улучшить диагностику, но и оценить риск повторного события при выявлении волчаночного антикоагулянта [Okuma H., Kitagawa Y., 2013; Mustonen P., Lehtonen KV., Javela K., 2014; Sciascia S., Sanna G., Khamashta MA., 2014].

Определение концентрации гомоцистеина было выполнено у 31 пациента, повышение более 15 мкмоль/л - у 10 больных с повторными эпизодами цереброваскулярных событий. Отмечена положительная сильная корреляция ($r=0,60$, $p<0,05$) маркеров активации свертывания крови и продукта обмена метионина.

По данным анамнеза повторные эпизоды в группе лиц, перенесших острые цереброваскулярные события, развивались в 23,9% случаев, что согласуется с общепопуляционной статистикой [Профилактика хронических неинфекционных заболеваний, 2013]. Повышение содержания D-димера было отмечено у 46 человек (35,4%), у 11 из которых (четверть) имели повторные эпизоды. Повышение содержания фибриногена увеличивает риск повторного цереброваскулярного события в 2,63 раза [95% CI 1,06-5,42], антигена фактора Виллебранда – в 2,39 [95% CI 1,00-6,92], активности фактора VIII – 6,33 [95% CI 2,23-17,98]. Повышение активности фактора VIII сочетается с большей частотой коронарных, ишемических, цереброваскулярных нарушений и повышенной смертностью, в том числе от ишемического инсульта [Gouse BM., Boehme AK., Monlezun DJ., 2014; Siegler JE., Samai A., Albright, 2015]. В

связи с этим, а также учитывая результаты нашего исследования, оценка активности фактора VIII может быть рекомендована для определения риска развития повторного церебрального эпизода. У 11 (8,5%) человек было выявлено повышение всех маркеров активации свертывания крови. Обращает на себя внимание тот факт, что все они перенесли кардиоэмболический инсульт и 3 из них умерло за период наблюдения в течение 1 года от развития ТЭО.

Таким образом, в группе лиц, перенесших острые цереброваскулярные события, имело место повышение маркеров активации свертывания, которое в меньшей мере коснулось уровня D-димера, особенно в младшей возрастной подгруппе. В то же время корреляционные связи и совместное повышение изученных маркеров, характерные для популяции амбулаторных пациентов и лиц с иными ССЗ, сохранялись в полной мере. Наличие дисфункции эндотелия и сопряженной активации фактора VIII выводят эти показатели на первый план в оценке данной группы больных. Особый интерес представляет связь наличия ВА с активацией системы гемостаза даже при отсутствии критериального анифосфолипидного синдрома. Одновременное повышение всех маркеров активации (D-димера, фибриногена, антигена фактора Виллебранда, активности фактора VIII) является прогностическим признаком неблагоприятного течения заболевания.

Исследование маркеров активации свертывания у пациентов, получающих антитромботическую терапию. В соответствии с механизмом развития осложнений ССЗ одной из основных мер профилактики является воздействие на различные звенья гемостаза и использование антитромботической терапии. На ее фоне логично ожидать снижения активности гемостатических реакций, которое в определенных случаях может быть и дополнительным критерием эффективности лечения. В исследовании рассмотрены различные группы препаратов и изменение маркеров активации свертывания на их фоне.

Назначение антиагрегантной терапии является стандартом лечения больных с артериальными тромботическими событиями. У пациентов, включенных в исследование, использовались препараты ацетилсалициловой кислоты (АСК) и клопидогрел в стандартной дозировке. Эффективность приема АСК оценивалась по следующим параметрам: амплитуде кривой агрегации, индуцированной коллагеном – 15 [12; 19] Ом, времени задержки реакции (Lag Time) – 75 [66; 85] сек и площади под кривой – 47 [36; 65] Ом*сек. Эффективность приема клопидогрела – по амплитуде кривой агрегации, индуцированной АДФ – 7 [4; 12] Ом, времени задержки реакции (Lag Time) – 33 [22; 48] сек и площади под кривой 32 [13; 55] Ом*сек. У 43% пациентов, принимавших АСК, и у 60%, принимавших клопидогрел, наблюдалось адекватное, согласно терапии, снижение агрегационных свойств тромбоцитов. Отсутствие адекватной реакции (резистентность по данному лабораторному признаку) – у 57% и 40%, соответственно. Значимых различий маркеров активации свертывания крови между подгруппами пациентов со сниженной агрегацией тромбоцитов и без нее получено не было (табл.10). Таким образом, у амбулаторных больных, перенесших ИИ и (или) ТИА, определение маркеров активации свертывания крови не отражает результат работы антиагрегантных препаратов и не может использоваться для дополнительной оценки их эффективности.

Таблица 10

Маркеры активации свертывания крови у амбулаторных больных с цереброваскулярной патологией, получавших антиагреганты, Me [25%;75%].

Показатель	Результаты при снижении агрегации, n=45	Результаты без снижения агрегации, n=40
D-димер, мкг/мл	0,34 [0,28; 0,43]	0,37 [0,31; 0,48]
Фибриноген, г/л	3,32 [2,80; 3,89]	3,55 [3,18; 3,87]
Антиген фактора Виллебранда, %	133 [113; 159]	148 [113; 173]
Активность фактора VIII, %	188 [152; 200]	172 [126; 209]

Более логичным в соответствии с механизмом действия является ожидание изменений маркеров активации при воздействии на плазменный гемостаз, в рамках которого и формируются основные показатели. На фоне приема варфарина было отмечено закономерное снижение уровня D-димера по мере достижения адекватного уровня гипокоагуляции (табл.11), что согласуется с данными других исследователей [Вавилова Т.В. с соавт., 2009; El Borgi W., Romdhane S., Sdiri W., 2015] и подтверждает возможность использования данного показателя в качестве дополнительного лабораторного критерия эффективности антитромботической терапии как при однократном исследовании, так и в динамике [Вавилова Т.В., 2010]. Другие маркеры активации не показали аналогичных изменений, что связано с механизмами формирования этих показателей.

Таблица 11

Маркеры активации свертывания крови у больных, принимающих варфарин, в зависимости от значения МНО, Me [25%;75%]

Показатель	МНО < 2 (n=115)	МНО = 2-3 (n=160)	МНО > 3 (n=31)
D-димер, мкг/мл	0,53 [0,33; 0,88]	0,32 [0,22; 0,64]*	0,29 [0,22; 0,39]*
Активность фактора VIII, %	174 [127,5; 206]	165 [142,5; 194,8]	169,5 [136,3; 206,8]
Антиген фактора Виллебранда,%	162 [131,5; 210]	168 [144; 208]	166 [147; 199,5]
Фибриноген, г/л	3,7 [3,16; 4,23]	3,47 [3,05; 4,20]	3,71 [2,86; 4,08]

*- достоверность различия между подгруппами с МНО в терапевтическом интервале и выше от подгруппы с МНО ниже терапевтического интервала, $p < 0,05$

Однако в подгруппах больных с повышенным и нормальным уровнем D-димера закономерно повышаются и другие маркеры активации (табл.12)

Таблица 12

Маркеры активации свертывания у больных, принимающих варфарин, в зависимости от уровня D-димера, Me [25%;75%].

Показатель	D-димер \leq 0,5 мкг/мл, n=162	D-димер > 0,5 мкг/мл, n=107
МНО	2,07 [1,58; 2,68]	1,64 [1,00; 2,12]*
АПТВ, сек	34, 2 [31,4; 36,7]	33,2 [30,5; 35,3]
Тромбиновое время, сек	16,8 [16,1; 17,5]	17,0 [16,5; 17,7]
Фибриноген, г/л	3,3 [2,9; 4,0]	3,9 [3,4; 4,4]*
Антиген фактора Виллебранда, %	153 [126; 182]	193 [155; 225]*
Активность фактора VIII, %	156 [129; 183]	190 [153; 214]*

* - достоверность различия между подгруппами, $p < 0,05$

Из 269 исследований уровня D-димера у пациентов, принимающих варфарин, 60,2% значений не превышало верхнюю границу общепринятого референтного интервала, а в старшей возрастной группе их доля составила даже 72,8%. При коррекции дискриминационных значений D-димера у пациентов старшей возрастной группы количество результатов вне референтного интервала снизилось еще на 29 (22%). Следует иметь в виду, что больные наблюдались в специализированном антикоагулянтном кабинете с тщательным мониторингом, особенно у лиц пожилого возраста.

У больных (n=40), получавших варфарин по поводу ТГВ и ТЭЛА, был измерен уровень D-димера через месяц после приема последней дозы препарата в соответствии с ожидаемой пользой от такого измерения в прогнозировании повторных эпизодов [Palareti G., Cosmi B., Legnani C., 2006]. Увеличение D-димера более 0,5 мкг/мл было отмечено у 16 пациентов. После коррекции дискриминационных значений D-димера для 4 пациентов старшей возрастной группы было принято решение об окончательной отмене варфарина; 12 пациентам возобновлена терапия варфарином. ТЭО в течение последующего года наблюдения отмечено не было. Благодаря коррекции дискриминационных значений D-димера, удалось избежать приема антикоагулянтного препарата и рисков связанных с ним геморрагических осложнений у 4 (10%) пациентов.

Существенный интерес представляет собой исследование маркеров активации на фоне приема новых пероральных антикоагулянтов – прямых ингибиторов факторов свертывания (дабигатран и ривароксабан). В ходе динамического наблюдения за больными на фоне терапии дабигатраном в течение продолжительного времени (от 1 месяца до 2 лет) статистически значимого изменения концентрации маркеров активации свертывания крови не наблюдалось (рис. 1), что подтверждается и другими исследователями [Baglin T, 2013].

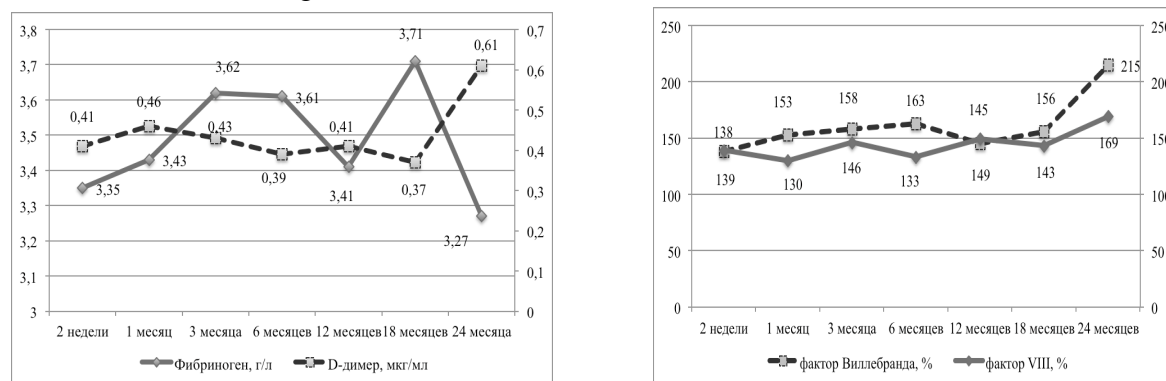


Рис. 1. Динамика маркеров активации свертывания крови у больных, принимающих дабигатран, Ме

Прием ривароксабана также не влиял на уровень маркеров активации свертывания за весь период наблюдения от 1 месяца до 2 лет. Статистически значимого изменения их концентрации не наблюдалось (рис.2).

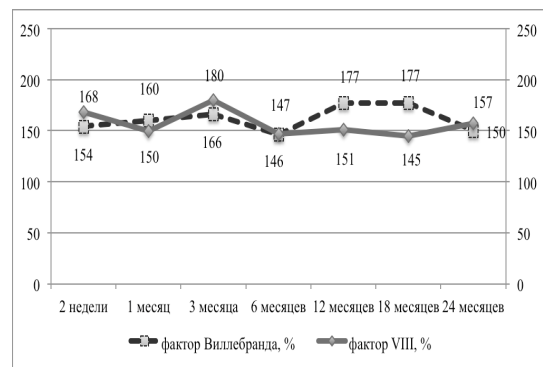
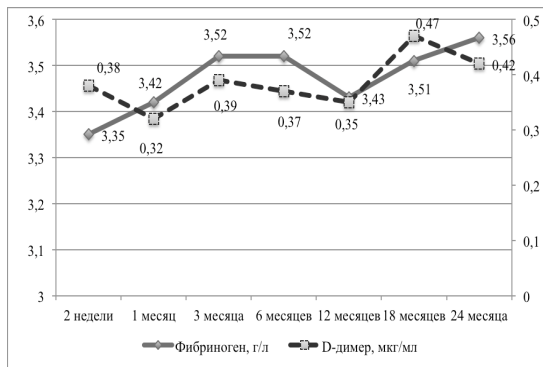


Рис. 2. Динамика маркеров активации свертывания крови у больных, принимающих ривароксабан, Ме

У пациентов, принимающих НПОАК, уровень D-димера был $\leq 0,5$ мкг/мл в 58,1% случаев, D-димер $> 0,5$ мкг/мл – в 41,9%. При использовании формулы для коррекции верхней границы референтного значения D-димера в группе пациентов старше 50 лет количество результатов вне референтного интервала снизилось на 32%.

Отсутствие статистически достоверного снижения маркеров активации свертывания при приеме прямых ингибиторов факторов свертывания согласуется с мнением группы зарубежных ученых [Mani H., Hesse C., Stratmann G., 2013] и связано, вероятно, с механизмом точечного воздействия препаратов на фактор IIa или фактор Xa в отличие от распространенного вмешательства варфарина в активацию витамин K-зависимых факторов на всех этапах плазменного гемостаза.

ВЫВОДЫ

1. Повышение маркеров активации свертывания имеет место у значительного количества амбулаторных больных: D-димера в 42,3%, фибриногена в 15,8%, активности фактора VIII в 58,2%, антигена фактора Виллебранда в 36,2 % случаев.

2. Маркеры активации свертывания крови (D-димер, фибриноген, антиген фактора Виллебранда, активность фактора VIII) синхронно отражают гиперкоагуляционную активность у амбулаторных больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

3. Уровень активности фактора VIII не коррелирует с возрастом и может быть использован как самостоятельный маркер активации свертывания крови у лиц старше 50 лет.

4. Повышение уровня активности фактора VIII увеличивает риск повторного цереброваскулярного события в 6,33 раза, фибриногена – в 2,63 раза, антигена фактора Виллебранда – в 2,39 раз.

5. Использование пересчета верхней границы референтного интервала D-димера в соответствии с возрастом ведет к снижению результатов вне референтного интервала на 18-40 % у лиц старше 50 лет, в том числе с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

6. Коррекция дискриминационных значений уровня D-димера согласно возрасту позволяет безопасно отменить терапию варфарином без развития тромбозэмболических осложнений дополнительно у 10% больных с ТГВ и ТЭЛА.

7. Маркеры активации свертывания крови не могут быть использованы как дополнительные критерии эффективности терапии антиагрегантами и прямыми ингибиторами факторов свертывания (дабигатран и ривароксабан).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Практические рекомендации для врачей клинической лабораторной диагностики, неврологов, кардиологов, ангиохирургов, пульмонологов, терапевтов.

1. Для лиц старше 50 лет с сердечно-сосудистыми заболеваниями и при установленных референтных значениях D-димера 0,0-0,5 мкг/мл необходимо проводить пересчет верхней границы референтного интервала по формуле: верхняя граница референтного интервала D-димера (мкг/мл) = возраст пациента (годы) x 0,01.

2. Повышение уровня активности фактора VIII считать прогностически неблагоприятным для развития повторного цереброваскулярного события; рекомендуется его определение для выявления группы повышенного риска у больных, перенесших ишемический инсульт и (или) транзиторную ишемическую атаку.

3. В лабораторную панель оценки гиперкоагуляционного состояния у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями необходимо внести D-димер, активность фактора VIII, антиген фактора Виллебранда, фибриноген, отражающие различные механизмы активации свертывания крови.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшее изучение проблемы должно быть направлено на увеличение групп обследованных больных, особенно в проспективном наблюдении для улучшения диагностики тромботических осложнений, эффективности и безопасности антитромботической терапии, оценки сердечно-сосудистых рисков в динамическом наблюдении за больными в амбулаторной практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных изданиях, входящих в перечень рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для опубликования основных результатов диссертационных работ

1. Белявская О.О. Модели организации работы с больными, получающими варфарин для профилактики тромбоэмболических осложнений / Т.В. Вавилова, Ю.К. Воробьева, О.О. Белявская, Е.А. Белько // Кардиология. – 2011. – №4. – С. 79-83.

2. Белявская О.О. Маркеры активации свертывания крови в клинической и лабораторной практике / Т.В. Вавилова, О.О. Белявская // Практическая медицина. Современные вопросы диагностики. – 2014. – №3 (79). – С. 208-213.

3. Белявская О.О. Лабораторная оценка параметров гемостаза у больных, принимающих прямой ингибитор тромбина / О.О. Белявская, Т.В. Вавилова // Ангиология и сосудистая хирургия – 2014. – Том 20. - №4. – С 37-41.

4. Белявская О.О. Лабораторное наблюдение за пациентами, принимающими новые пероральные антикоагулянты / Т.В. Вавилова, О.О. Белявская, А.Б. Бекоева // Тромбоз, гемостаз и реология – 2015. – №1(61). – С. 41-45.

Учебно-методическое пособие

5. Белявская О.О. Лабораторные исследования системы гемостаза: учебное пособие / Т.В. Вавилова, О.О. Белявская, О.В. Сироткина, Л.Б. Гайковая. – СПб.: Изд-во СЗГМУ им. И.И. Мечникова. – 2014. – 40 с.

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов

6. Белявская О.О. Маркеры активации свертывания крови у амбулаторных больных с сердечнососудистыми заболеваниями, получающих антикоагулянтную терапию / О.О. Белявская, Т.В. Вавилова // Современная лаборатория – 2014. – №4. – С. 12-15.
7. Белявская О.О. Проблемы контроля терапии антагонистами витамина К / С.В. Скрябина, Т.В. Вавилова, О.О. Белявская // Мечниковские чтения: СПб. тез. докл. – СПб, 2012. – С. 69.
8. Белявская О.О. Оценка лабораторных параметров гемостаза на фоне терапии прямым ингибитором тромбина / О.О. Белявская // «Трансляционная медицина: от теории к практике»: сборник материалов научно-практической конференции молодых ученых и специалистов. 24 апреля 2013 года / под ред. А.В. Силина. — СПб.: Издательство СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2013. – С. 29-31 с.
9. Belyavskaya O. Laboratory testing in new oral anticoagulants (Лабораторные исследования при лечении новыми оральными антикоагулянтами) / Т. Vavilova, O. Belyavskaya, O. Sirotkina, V. Samokhovetz // Journal of Thrombosis and Haemostasis 2013; 11 (supl.2): P.1123.
10. Белявская О.О. Лабораторно-гематологические аспекты терапии новыми пероральными антикоагулянтами / О.О. Белявская, М.М. Мнускина, И.Г. Крупоткина, Т.В. Вавилова // Вестник гематологии, том X, №2. – СПб.: Вестник гематологии ФГБУ РосНИИГТ ФМБА, 2014. – С. 100.
11. Белявская О.О. Маркеры активации свертывания крови у амбулаторных больных, перенесших ишемический инсульт / О.О. Белявская, И.Г. Крупоткина, М.М. Мнускина, Т.В. Вавилова // Седьмая всероссийская конференция с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии»: Москва. тез. докл. –Москва, 2015. – С. 59.
12. Белявская О.О. D-димер у амбулаторных пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями/ О.О. Белявская, Т.В. Вавилова, А.Б. Бекоева // Современная лаборатория – 2015. – №1. – С. 49-51.
13. Белявская О.О. Уровень D-димера у пожилых пациентов в амбулаторной практике/ О.О. Белявская // Лаборатория – 2015. – №2. – С. 12.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

FEU – Fibrinogen Equivalent Units

АВК – анти-витамин К препараты

АСК – ацетилсалициловая кислота

АПТВ (АЧТВ) – активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время

ВТЭ – венозный тромбоэмболизм

ИИ – ишемический инсульт

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

МНО – международное нормализованное отношение

ОНМК – острое нарушение мозгового кровоснабжения

ПВ – протромбиновое время

СД – сахарный диабет

СРБ – С-реактивный белок

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТВ – тромбиновое время

ТГВ – тромбоз глубоких вен

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ТЭО – тромбоэмболические осложнения

фВ – фактор Виллебранда

ФП – фибрилляция предсердий