

**СТАРЦЕВА
ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА**

**ИНТЕГРАЛЬНАЯ ОЦЕНКА СИСТЕМЫ ПЛАЗМЕННОГО
ГЕМОСТАЗА НА ОСНОВЕ МЕТОДА ТРОМБОДИНАМИКИ В
КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России

Научный консультант:

Вавилова Татьяна Владимировна, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Вереина Наталья Константиновна - доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры факультетской терапии, ФГБОУ ВО "Южно-Уральский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Сомонова Оксана Васильевна - доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинко-диагностической централизованного научно-клинического лабораторного отдела консультативно-диагностического центра ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

Капустин Сергей Игоревич - доктор биологических наук, биолог вирусологического центра ГБУЗ «Городская клиническая больница №31» Комитета по здравоохранению Правительства Санкт-Петербурга.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «16 » июня 2026 г. в 11:30 часов на заседании диссертационного совета 04.1.001.01 на базе ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, г. Санкт- Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России по адресу: 197345, г. Санкт- Петербург, ул. Оптиков, д. 54 и на сайте www.nrcerm.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2026 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат медицинских наук доцент

Санников Максим Валерьевич.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Тромбозы и массивные кровотечения занимают более половины причин нарушений системы кровообращения, которые определяют около 60% летальных исходов при самых различных патологиях и травмах. Такая высокая летальность вследствие тромбозов/кровотечений связана с пробелами в понимании механизмов работы системы свертывания (Атауллаханов Ф.И. и др., 2018). Свертывающая система – одна из наиболее проблемных физиологических систем организма. В последние годы наблюдается большой прогресс в исследовании механизмов свертывания. Это ведет к пересмотру базовых представлений о том, как происходит формирование тромба и остановка кровотечения. Вслед за этим возникает необходимость пересмотра диагностических и терапевтических подходов, используемых в клинко-лабораторной практике (Нечипуренко Д.Ю. и др., 2023). Во многом это объясняется тем, что традиционные лабораторные тесты свертывания крови недостаточно чувствительны к гиперкоагуляции и их сложно использовать для оценки риска развития тромботических событий, которые сопровождают или являются причиной широкого круга патологических и физиологических состояний, таких как атеросклероз, инфаркт, инсульт, сепсис, состояние после травмы, хирургической операции. Остаются нерешенными вопросы лабораторной идентификации пациентов с риском тромбоза и проблемы индивидуального подбора и коррекции доз антитромботических препаратов у конкретного пациента (Липец Е.Н. и др., 2015).

В современной лабораторной диагностике при исследовании системы гемостаза используются два вида тестов - точечные и интегральные. В число точечных тестов входят скрининговые, ежедневно используемые тесты такие как активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ), фибриноген, D-димер, а также дополнительные исследования – антитромбин, протеин С и S, концентрация и активность факторов свертывания крови (Долгов В.В. и др., 2019). Данные тесты фиксируют изменения активности/концентрации отдельных факторов свертывания, но при этом не позволяют судить, насколько эти локальные изменения повлияли на общую способность плазмы к образованию сгустка. Данные тесты отражают только начальную часть процесса образования тромбина, что составляет не более 5% от общего потенциала генерированного тромбина (Вавилова Т.В., 2017). Измерение заканчивается в тот момент, когда в реакционной кювете появляются первые нити фибрина.

Еще одним важным недостатком точечных тестов является их низкая чувствительность к состоянию гиперкоагуляции, а также к умеренно выраженным гипокоагуляционным расстройствам.

Возможным решением этой проблемы является использование интегральных тестов, которые *in vitro* имитируют большинство физиологических процессов, протекающих в организме одновременно в процессе остановки кровотечения с большей точностью, позволяя оценить потенциал системы гемостаза в целом.

Существующие интегральные тесты могут оценить риск тромбоза при различных патологиях и стать важным инструментом в диагностике гиперкоагуляции. Однако существуют серьезные проблемы, осложняющие использование интегральных тестов. В тестах тромбодинамики и тесте генерации тромбина используется плазма, свободная от тромбоцитов, а не цельная кровь, что

не позволяет оценить работу всех факторов, участвующих в процессе образования сгустка. Имеющийся в настоящее время недостаток стандартизации препятствует их широкому применению. Также на сегодняшний день отсутствует контроль качества данных тестов, но в этом направлении ведется последний этап внедрения пулированных контрольных плазм. Различные тесты и их модификации различаются по чувствительности и специфичности для каждого патологического состояния, так как они основаны на разных методах и используют различные типы образцов и реагентов, влияющих на кинетическую реакцию. На сегодняшний день не существует единого интегрального теста, для решения ключевых лабораторно-диагностических задач оценки системы гемостаза. Применение этих тестов в клинической практике для принятия решений затруднительно, так как различия между группами пациентов с различной степенью риска тромбоза статистически значимы, однако диапазоны референтных интервалов и пациентов значительно перекрываются.

Таким образом, сохраняется актуальность оценки состояния системы гемостаза интегральным методом тромбодинамики с целью прогноза тромботических осложнений и подбора индивидуальной антитромботической терапии.

Степень разработанности темы исследования

Непрерывное развитие науки и технологий предлагает новые методы и устройства по изучению биологических объектов. В настоящее время разрабатываются новые тесты анализа системы плазменного гемостаза, которые в совокупности с достижениями в области цифровых технологий позволяют клиницистам получать достоверную информацию о состоянии системы гемостаза пациентов, которая ранее не была доступна.

Достижения в области биологии, медицины, биохимии, иммунологии, молекулярно-генетических исследований позволили взглянуть на проблему геморрагических осложнений и тромбофилий не только с описательной стороны, но и «изнутри». Если диагностика редко встречающихся врожденных наследственных нарушений системы свертывания крови является преимуществом специализированных центров, то те приобретенные нарушения системы гемостаза, которые проявляются венозными и артериальными тромбозами, геморрагиями и ДВС-синдромом встречаются в повседневной врачебной практике многопрофильных стационаров и амбулаторном звене (Вавилова Т.В., 2017). Проблема эффективной диагностики нарушений гемостаза является очень актуальной, так как данные нарушения служат прямой или косвенной причиной подавляющего большинства летальных исходов.

Метод тромбодинамики – новая стратегия исследования свертываемости крови, которая разрабатывалась и использовалась в качестве исследовательского инструмента почти двадцать лет командой российских ученых под руководством Ф.И. Атауллаханова на базе Гематологического научного центра РАМН (Нечипуренко Д.Ю. и др., 2023). В настоящее время метод тромбодинамики включен в Номенклатуру медицинских услуг согласно Приказу МЗ РФ от 13.10.2017 г. № 804 под кодом А12.05.016.004 – тромбофотометрия динамическая и разрешен к применению в клинической практике на территории Российской

Федерации, тест входит в клинические рекомендации по акушерству и гинекологии.

Первые экспериментальные работы, рассматривающие свертывание крови как пространственный неоднородный процесс, были опубликованы в 1995-1998 гг. (Атауллаханов Ф.И. и др., 1994). Усовершенствование технологии создания активаторов и измерительной установки, которые привели к стабильности и воспроизводимости аналитических характеристик позволили провести более масштабные исследования не только в экспериментальных моделях, но и в реальной клинической практике (Нечипуренко Д.Ю. и др., 2023).

С помощью этого метода, возможно, проводить максимально раннюю диагностику нарушений в системе гемостаза для оказания своевременной и адекватной помощи в целях лечения и предупреждения клинических проявлений кровоточивости или тромбоза у пациентов с нарушениями в системе гемостаза.

Данный метод представляет собой попытку интегрального подхода к характеристике работы свертывающей системы. Не анализируя отдельные факторы свертывающей системы, он характеризует конечный этап всего каскада - процесс превращения фибриногена в фибрин и образование фибринового сгустка.

Рутинные или скрининговые показатели состояния плазменного гемостаза не позволяют оценивать гиперкоагуляционные сдвиги гемостаза, риски тромбоэмболических осложнений и применять персонализированные программы антикоагулянтной терапии (Хубулава Г.Г. и др., 2019). Выявление чувствительности интегральных тестов к развитию гиперкоагуляции инициировало интерес к этим методам как инструменту прогнозирования тромботических событий, в том числе и на фоне антитромботической терапии (Липец Е.Н. и др., 2015; Лобастов К.В. и др., 2019).

Помимо регистрации состояния тромботической готовности в группах высокого риска развития тромбозов, ряд исследований показал предиктивную способность метода в отношении тромботических событий (Лобастов К.В. и др., 2015).

Количество публикаций, посвященных определению диагностической и клинической значимости теста тромбодинамики, показывает большое разнообразие клинических ситуаций требующих достоверной оценки состояния системы гемостаза с целью прогноза тромботических осложнений и подбора индивидуальной антитромботической терапии. Результаты проведенных исследований авторов в целом подтверждают способность теста тромбодинамики регистрировать гиперкоагуляционные сдвиги в системе плазменного гемостаза и его чувствительность к антикоагулянтной терапии (Бабицкий А.А. и др., 2023; Василенко И.А. и др., 2023; Вереина Н.К. и др., 2020; Драпкина О.М. и др., 2021; Дудина И.А. и др., 2022; Игнатьев С.В., 2018). При этом внедрение теста тромбодинамики в реальной клинической практике ограничено в связи с некоторыми факторами преаналитического этапа проводимого исследования, неопределенностью аналитических характеристик метода, отсутствием рекомендаций по интерпретации результатов теста и пороговых значений для принятия клинических решений.

Малочисленность групп обследованных пациентов в большинстве опубликованных статей не позволяет сделать уверенные выводы в отношении практического использования теста в той или иной клинической ситуации. Многолетний опыт использования теста тромбодинамики в научных программах и

в клинике, понимание проблем его внедрения в лабораторную и клиническую практику послужили основанием для проведения данного исследования и формирования научного обоснования пригодности теста тромбодинамики для использования в клинических целях, как для принятия клинических решений на уровне практикующего врача, так и для экспертов по подготовке клинических рекомендаций.

Цель исследования

Определить принципы и критерии оценки системы гемостаза в клинической практике на основе интегрального теста тромбодинамики.

Задачи исследования

1. Провести систематический обзор литературы без мета-анализа, посвященной изучению возможностей метода тромбодинамики в диагностике гиперкоагуляционных состояний у пациентов с различными заболеваниями и в мониторинге антитромботической терапии низкомолекулярными гепаринами (НМГ).
2. Определить принципы проведения преаналитического этапа и аналитические характеристики для метода тромбодинамики.
3. Провести валидацию теста тромбодинамики для оценки действия низкомолекулярных гепаринов в сравнении с методом определения анти-Ха-активности.
4. Создать базу данных результатов оценки системы плазменного гемостаза с использованием теста тромбодинамики и традиционных лабораторных методов у пациентов кардиологического, неврологического, гинекологического, хирургического, травматологического и онкологического профилей.
5. Оценить информативность метода тромбодинамики у пациентов с высоким риском развития тромбозомболических осложнений и сформировать предложения по его применению в клинической практике, в том числе в наблюдении за женщинами, принимающими гормональную терапию (гормональную контрацепцию и менопаузальную гормональную терапию).
6. Определить значение теста тромбодинамики для персонализированных подходов к назначению и оценке эффективности антитромботической терапии.
7. Сформулировать принципы и критерии использования теста тромбодинамики и разработать методические рекомендации по его применению в клинической практике.

Научная новизна

Впервые проведено многолетнее (с 2017 по 2024 гг.) экспериментальное и клиническое исследование на единой методической базе ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России по определению принципов и критериев оценки системы гемостаза в клинической практике на основе интегрального теста тромбодинамики.

Впервые, на основе систематизированного анализа клинических и лабораторных данных, с учетом преаналитических и аналитических характеристик, сформированы принципы диагностики состояния гиперкоагуляции и мониторинга антитромботической терапии у пациентов многопрофильного стационара с использованием метода тромбодинамики

Впервые проведены клиническая верификация метода тромбодинамики с доказательством его соответствия установленным требованиям, исследования по разработке референтных интервалов, оценке влияния на результаты исследования условий транспортировки и глубокой заморозки.

Впервые сформирован алгоритм проведения внутреннего контроля качества с помощью коммерческих пулированных плазм.

Получены новые данные о чувствительности метода тромбодинамики к различным вариантам фармакологической терапии.

Полученные данные позволяют оптимизировать диагностику состояния гиперкоагуляции и мониторинг проводимой антикоагулянтной терапии.

Теоретическая и практическая значимость

Результаты исследования позволяют рекомендовать внедрение интегральной оценки состояния плазменного гемостаза методом тромбодинамики в клиническую практику лечебно-профилактических учреждений.

Проведена оценка прогностической ценности параметра V (скорость формирования сгустка) теста тромбодинамики у пациентов с факторами риска тромбоза без антитромботической терапии; а также, получающих лечебные и профилактические дозы низкомолекулярных гепаринов; пероральные антикоагулянты; антиагреганты; глюкокортикостероиды; включая женщин, принимающих комбинированные эстроген-гестаген содержащие препараты с целью контрацепции, лечебной коррекции и в качестве менопаузальной гормональной терапии.

На основании полученных результатов сформированы методические рекомендации, предназначенные для специалистов клинической лабораторной диагностики и врачей различных клинических специальностей, чья профессиональная деятельность связана с необходимостью оценки состояния плазменного гемостаза и действия антитромботической терапии.

Методология и методы исследования

Методология настоящего исследования спланирована согласно поставленным задачам. Методологическая основа данной диссертационной работы представляет последовательное применение научных методов исследования, а именно, систематический обзор без мета-анализа, проводимый в соответствии со строгой методологией, позволяющей уменьшить вероятность систематической ошибки, касающейся вопросов изучения и состояния тромботической готовности у пациентов, мониторинга антитромботической терапии, сбор и анализ анамнестических, клинических и лабораторных данных.

Дизайн исследования – экспериментальное и описательное исследование со смешанной (ретроспективной и проспективной когортой).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Систематический обзор литературы без мета-анализа, посвященной определению диагностической информативности теста тромбодинамики, показал многообразие клинических ситуаций, при которых требуется интегральная оценка состояния плазменного гемостаза; возможности метода в прогнозе тромботических событий и контроля за применением антикоагулянтных препаратов. При этом малочисленность групп обследуемых пациентов, отсутствие сведений о влиянии факторов преаналитического этапа на результаты исследования, аналитической

надежности метода, контроле качества исследований, диагностической значимости отдельных параметров теста затрудняет его внедрение в клиническую практику.

2. Интегральный метод тромбодинамики в рутинной лабораторной практике демонстрирует аналитические характеристики (чувствительность и воспроизводимость), приемлемые для клинического использования при условии строгого соблюдения всех процедур преаналитического этапа. Для проведения внутрилабораторного контроля качества теста тромбодинамики пригодны коммерческие пулированные плазмы. Тест тромбодинамики валидирован относительно рекомендованного метода определения анти-Ха активности для оценки действия низкомолекулярных гепаринов.

3. Тест тромбодинамики является методом выбора при необходимости выявления состояния гиперкоагуляции у пациентов с индивидуальными факторами риска развития тромботических событий. Тест высоко чувствителен к действию антитромботической терапии. Результат исследования зависит от типа используемого препарата, механизма его действия и используемой дозы.

4. Тест тромбодинамики может являться дополнительным методом оценки системы гемостаза в сложных клинических ситуациях с разнонаправленными сдвигами в системе гемостаза и для динамического наблюдения за больными с факторами тромботического риска. Установлены критерии прогностической ценности параметра V (скорость формирования сгустка) теста тромбодинамики для оценки риска тромботических осложнений.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов исследования обусловлена тщательным выбором и характеристикой объектов исследования, большим количеством экспериментальных данных, полученных на современном оборудовании, и детальным анализом результатов, в том числе, с использованием обоснованных методов статистической обработки.

Научные положения, результаты работы, выводы и практические рекомендации, сформулированные в работе, основаны на достаточном клиническом и экспериментальном материале. Было выполнено 9 500 исследований интегральным методом тромбодинамики и 3500 точечных тестов, проанализировано 2500 историй болезни пациентов, находившихся на амбулаторном и стационарном лечении.

В работе использовались современные лабораторные методы обследования пациентов, для оценки информативности изучаемого теста проведена валидация относительно «золотого стандарта» определения анти-Ха активности, а также, модельные эксперименты. Для статического анализа использованы методы вариационной статистики, корреляционный и ROC-анализ с применением статистического пакета программ Microsoft Excel 2016 для Windows и Statistica 10.0 («StatSoft», США) (лицензия AXA009K287210FAACD-B).

Апробация результатов диссертационной работы

Все результаты исследования представлены и обсуждены на научных конференциях с участием специалистов и опубликованы в рецензируемых российских и зарубежных изданиях. Материалы диссертации представлены и обсуждены на 2-ом заседании Национального общества нейросомнологии и церебральной гемодинамики (16-17 декабря 2016 г., Санкт-Петербург),

Международном научном конгрессе «Многопрофильная клиника XXI века инновации в медицине» (20-21 апреля 2020 г., Санкт-Петербург), VI научно-практической конференции интегративная неврология «Нейрогенерация и десинхроноз» (11 июня 2020 г., Санкт-Петербург), VII научно-практической конференции интегративная неврология «Нейрогенерация и десинхроноз» (11 июня 2021 г., Санкт-Петербург), VI Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, тромбоз и репродукция» (2-4 июня 2022 г., Санкт-Петербург), XVI Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: версии и контраверсии» (7-10 сентября 2022 г., г. Сочи), IX Общероссийском конференц-марафоне «Перинатальная медицина: от прегравидарной подготовки к здоровому материнству и детству» (16-18 февраля 2023 г., Санкт-Петербург), XXVIII Всероссийской научно-практической конференции «Наукоемкие лабораторные технологии для клинической практики» (20-22 марта 2023 г., Москва), VII Всероссийской конференции с международным участием «Гемостаз, репродукция и женское здоровье» (1-2 июня 2023 г., Санкт-Петербург), XIV конференции «Микроциркуляция и гемореология» (9-11 июля, 2023 г., г. Ярославль), Форуме антикоагулянтной терапии (7-8 сентября 2023 г., Москва), Научно-практической конференции «ГЕМОРЕОЛОГИЯ, ГЕМОСТАЗ, СОСУДИСТАЯ БИОЛОГИЯ» (2-3 ноября 2023 г., Санкт-Петербург), VII Петербургском инновационном медицинском форуме, симпозиум «Лабораторная диагностика: возможность анализа big data» (14 мая 2024 г., Санкт-Петербург), Междисциплинарной-научно-практической конференции «ГЕМОРЕОЛОГИЯ, ГЕМОСТАЗ, СОСУДИСТАЯ БИОЛОГИЯ» (31 октября -1 ноября 2024 г., Санкт-Петербург), III городской научно-практической конференции с международным участием «Совершенствование организации консультативно-диагностической помощи взрослому населению на современном этапе развития регионального здравоохранения» (27-28 марта 2025 г., Санкт-Петербург), VIII Петербургском медицинском инновационном форуме с международным участием (15-17 мая 2025 г., Санкт-Петербург).

Личный вклад автора

Автору принадлежит основная роль в выборе направления исследования, постановке цели и задач, а также методов их решения. Лично автором проведен анализ данных отечественной и зарубежной научной литературы. Соискатель непосредственно участвовал в выполнении всех этапов диссертационного исследования, включая выбор групп пациентов, определение объема лабораторного обследования, получение, анализ и интерпретацию результатов, планирование и проведение экспериментов, обобщение полученных результатов. Статистическая обработка данных для научных публикаций и представления их с целью докладов на конгрессах, конференциях и семинарах выполнены лично соискателем. Лабораторные исследования выполнены автором лично и при участии сотрудников отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России. Лично автором осуществлена оптимизация и внедрение данных метода тромбодинамики в рутинную практику работы лаборатории клинической химии.

Реализация и внедрение результатов исследования

Результаты диссертационного исследования включены: в учебно-методическое пособие «Профилактика гиперкоагуляционных нарушений и цереброваскулярных заболеваний у сотрудников МЧС со сменным характером

труда» (2019); в учебно-методическое пособие «Диагностика и профилактика гиперкоагуляционных нарушений у сотрудников МЧС России с болезнями системы кровообращения» (2019); в методические рекомендации «Диагностика и коррекция нарушений гемостаза у сотрудников МЧС России с цереброваскулярными заболеваниями» (2020); в методические рекомендации «Исследование тромбодинамики в венозной крови– интегральный метод оценки состояния системы гемостаза: основы обеспечения контроля качества и применение в клинической практике» (2025) .

Результаты работы внедрены и применяются в лечебно-практической работе ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России г. Санкт-Петербурга, ГБУЗ «Родильный дом № 6 им. проф. В.Ф. Снегирева» г. Санкт-Петербурга, ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница №1» г. Владивостока.

В работе использованы результаты, полученные в ходе выполнения НИР согласно плану научно-технической деятельности МЧС России: «Современные лабораторные технологии в оценке состояния здоровья руководящего состава МЧС России в период углубленного медицинского обследования» 2017 г., «Разработка мер профилактики гиперкоагуляционных нарушений и цереброваскулярных заболеваний у сотрудников МЧС России со сменным характером труда» 2018 г., «Обоснование клинико-лабораторного алгоритма диагностики метаболического синдрома у пострадавших в радиационных авариях в отдаленном периоде с использованием новых медицинских технологий» 2019 г., «Клинико-лабораторные критерии нарушений обмена веществ в донозологической диагностике заболеваний болезней системы кровообращения у сотрудников МЧС России» 2021 г.

Зарегистрирована база данных результатов оценки системы гемостаза с использованием теста тромбодинамики и традиционных лабораторных методов у пациентов кардиологического, неврологического, гинекологического, хирургического, травматологического и онкологического профиля (свидетельство о регистрации №2025621571 от 07.04.2025).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту научной специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика, а конкретно пунктам 1, 2, 4, 8 области исследования паспорта специальности.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 32 печатные работы, включая 11 статей в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8. Клиническая лабораторная диагностика (биологические науки).

Объем и структура диссертации

Текст диссертации изложен на 248 страницах машинописного текста и состоит из введения, глав, включающих обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, заключения, а также выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа иллюстрирована 30 таблицами и 54 рисунками. Список литературы включает в себя 270 источников, из которых 179 отечественных и 91 зарубежных.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Диссертационное исследование выполнено на базе ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России (далее ВЦЭРМ) и представляет собой анализ данных экспериментального и клинического исследований. Все лабораторные исследования были выполнены в лаборатории клинической химии отдела лабораторной диагностики ФГБУ ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России в период с 2016 по 2024 гг. Всего было проведено более 8500 исследований, с формированием электронной базы данных (зарегистрирована 07.04.2025 г. № 2025621571), включающей клинико-анамнестические и лабораторные данные 1 300 пациентов возрасте от 18 до 80 лет.

Диссертационное исследование было одобрено Независимым этическим комитетом ВЦЭРМ (протокол №1/23 от 15.02.2023 года).

Характеристика экспериментальной части исследования

Для определения условий стандартизации метода тромбодинамики проведены процедуры:

- оценка влияния факторов преаналитического этапа (заморозка, транспортировка по пневмопочте, центрифугирование) на параметры теста тромбодинамика;

- оценка воспроизводимости теста тромбодинамики на моделях «норма», «гипо» и «гипер»;

- проведение исследования контрольных плазм в трех сериях и сравнение полученных результатов с данными производителя контрольных материалов;

- проведение внутреннего контроля качества с помощью коммерческих контрольных плазм различных производителей;

- определение соответствия собственных референтных интервалов параметров теста тромбодинамика с референтными интервалами производителя;

- валидация теста тромбодинамики со стандартным методом определения анти-Ха активности с целью мониторинга антикоагулянтной терапии низкомолекулярными гепаринами.

Характеристика клинической части исследования

Лабораторное обследование проведено 2 227 пациентам, выполнено 4300 исследований тромбодинамики и 1500 исследований точечных тестов в период с 2018 по 2024 год. Проведено изучение историй болезни обследованных пациентов. Во ВЦЭРМ все пациенты наблюдались и обследовались амбулаторно и стационарно. Взятие крови у пациентов по направлениям из других учреждений проводили в амбулаторных условиях поликлиники ВЦЭРМ, в соответствии со стандартными правилами забора крови и соблюдением всех условий преаналитического этапа для коагулологических исследований строго по направлениям врачей кардиологов, гинекологов, ревматологов.

Методы лабораторной диагностики

Для проведения исследований системы плазменного гемостаза в лаборатории клинической химии ВЦЭРМ МЧС России были сформированы документы – Стандартные операционные процедуры (СОП), где были прописаны все операции, относящиеся к условиям выполнения процедуры, реактивам, оборудованию, а также к подготовке образцов для исследования и способы вычисления и представления результата исследования.

Проведение исследования методом тромбодинамики

Исследования методом тромбодинамики проводили согласно Руководству по эксплуатации «Регистратора тромбодинамики Т-2. Для теста тромбодинамики использовали бестромбоцитарную плазму. Полученные образцы крови центрифугировали при режиме 1600 g 15 минут. После центрифугирования 40 % от общего объема в пробирке из верхнего слоя плазмы переносили в пластиковую пробирку объемом до 2 мл, затем дополнительно центрифугировали бедную тромбоцитами плазму в течение 5 минут при 10 000 g при комнатной температуре. Для исследования отбирали верхнюю часть (9/10 объема) свободной от тромбоцитов плазмы. Бестромбоцитарную плазму смешивали с ингибитором ферментов контактной фазы (кукурузный трипсин) и ацетатом кальция. Переносили в измерительную кювету 120 мкл образца, погружали в плазму вставку-активатор с иммобилизованным тканевым фактором и запускали регистрацию образования и роста фибрина на поверхности пластиковой вставки. Процесс формирования сгустка фиксировался оптически каждые 6 секунд в течение 30 минут. Полученные динамические изображения обрабатывались автоматически с вычислением параметров, представленных в таблице 1.

Таблица 1. Параметры интегрального метода тромбодинамики

Параметры -	Определение
Tlag (мин) – 0,6-1,5	Время задержки начала образования сгустка после контакта плазмы со вставкой-активатором.
V, Vst (мкм/мин) 20-29	Средняя скорость роста сгустка, рассчитанная на интервале 15 – 25 минут после начала роста. Чувствителен к концентрации факторов VIII, IX, XI, V, X, тромбина.
Tsp , (мин) отсутствуют	Время появления спонтанных сгустков. Характеризует собственный прокоагулянтный потенциал плазмы.
Vi , (мкм/мин) – 38-56	Начальная скорость роста сгустка, Характеризует фазу инициации свертывания.
CS мкм -800-1200	Размер фибринового сгустка через 30 минут.
D , усл.ед.- 15000-32000	Плотность сгустка характеризует плотность образовавшегося фибринового сгустка и его структуру. Зависит от концентрации фибриногена в совокупности с активностью XIII фактора.

Систематический анализ публикаций

Был произведен систематический анализ литературы, полученных из открытых источников, по ресурсам Elibrary.ru, PubMed, интернет-ресурса PLOS ONE, и научных исследований, посвященных изучению возможностей метода тромбодинамика опубликованных в период с 2015 по 2024 год. В соответствии с разработанным алгоритмом поиска было идентифицировано 1156 ссылок, из которых 1076 были исключены из анализа на этапе скрининга по названиям и аннотациям, также были исключены публикации, имеющие фундаментальный и лекционный характер исследования. Из полнотекстовых версий оставшиеся 80 были изучены на предмет соответствия критериям включения и исключения. Таким образом, в анализ было включено 76 источников объединивших 14 949 пациента.

Далее публикации были разделены на две группы. Первая группа включала систематический обзор литературы, посвященный возможностям и перспективам применения теста тромбодинамика в определении состояния гиперкоагуляции у стационарных и амбулаторных пациентов, во второй группе представлены публикации на тему мониторинга антитромботической терапии у пациентов с высоким и очень высоким риском развития ТЭО.

Статистические методы обработки данных

Статистический анализ проводили с помощью программного обеспечения STATISTICA 10 версия (лицензия AXA009K287210FAACD-B). Проверка на соответствие переменных нормальному распределению выполнялась с помощью W-теста Шапиро – Уилка. Количественные переменные, соответствующие нормальному распределению, представлены в виде среднего арифметического (M) и стандартного отклонения (SD). Не соответствующие нормальному распределению переменные представлены в виде медианы (Me) и квартилей [Q25–Q75]. Для сопоставления групп по количественным признакам использовали критерий Манна – Уитни. Сравнительный анализ качественных данных в двух независимых выборках проводили посредством заполнения таблиц сопряженности и расчета точного критерия Фишера – двусторонний тест, для определения влияния и степень вклада категориальных и количественных факторов в изменчивость зависимых переменных использован многофакторный многомерный ковариационный анализ с использованием критерия лямбда Уилкса. Степень вклада факторов оценивалась по частичному коэффициенту эта-квадрат (η^2). Для определения структуры зависимости переменных от различных факторов риска выполняли одномерный дисперсионный анализ с апостериорным тестом Тьюки и Даннетта. Для сопоставления двух выборок по количественным признакам использовали критерий Вилкоксона для парных сравнений. Пороговый уровень статистической значимости принят для $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть: обеспечение стандартизации метода тромбодинамики в лаборатории.

Принципиальным положением в исследовании гемостаза является стандартизация, которая рассматривается как спектр приемов исследования гемостаза, обеспечивающая воспроизводимые в разных лабораториях результаты за счет применения разовых систем взятия крови, аттестованных методов, реактивов, приборной базы, международных стандартов при калибровке, проведение внутрилабораторного контроля качества, участия во внешней оценке качества. (Долгов В.В. и др., 2019)

Одним из способов транспортировки биологического материала является использование пневмопочты. В рамках настоящего исследования было проведено сравнение значений параметров метода ТД в группе 1 (доставка персоналом в контейнере) и группе 2 (доставка в капсуле пневмопочтой) с помощью критерия Манна-Уитни. По результатам этого анализа были выявлены статистически значимые отличия в таких параметрах как скорость роста сгустка (V мкм/мин), начальная скорость роста сгустка (V_i мкм/мин) и время появления спонтанных сгустков, свидетельствующие о смещении скоростных параметров в область гиперкоагуляции. Все данные представлены в таблице 2.

Таблица 2. Параметры теста тромбодинамики в зависимости от способа транспортировки

Параметр	Me [25%;75%] группа 1 n=30	Me [25%;75%] группа 2 n=30	p
V _{мкм/мин} *	28,7[27;37]	40,8[32,9;52,3]	0,011
T _{лаг} мин	1,0[0,9;1,15]	1,10[1,0;1,2]	0,397
V _i мкм/мин*	50,1[47,4;55,6]	59,6[55,4;65,0]	0,047
CS мкм	1068[1036;1283]	1218[1132;1305]	0,707
D усл.ед	22381[20995;23446]	23417[20530;3271]	0,235
T _{sp} *	0	25,8[27;37]	0,001

Результаты, полученные по итогам проведенных нами исследований, демонстрируют, что в образцах плазмы, доставленных в лабораторию пневмопочтой, запускаются процессы, вызывающие ложную гиперкоагуляцию в виде увеличения скоростных параметров роста сгустка и фиксирования времени образования спонтанных сгустков в отличие от результатов, полученных в пробе, доставленной в контейнере персоналом.

Важным элементом преаналитического этапа является режим центрифугирования. Производитель метода рекомендует при отсутствии высокоскоростной центрифуги в лаборатории для повторного центрифугирования использовать режим центрифугирования с меньшим ускорением (1600 g) и увеличить время центрифугирования до 20 мин. Полученные нами результаты исследования параметров тромбодинамики при стандартном режиме (10 000 g – 5 минут) и при режиме 1 600 g – 20 минут свидетельствуют о том, что при данном режиме центрифугирования три параметра теста ТД статистически значимо отличаются между собой. Данные представлены в таблице 3.

Таблица 3. Сравнительный анализ параметров теста тромбодинамики в зависимости от режима центрифугирования. Критерий Вилкоксона для парных сравнений.

Параметр	режим 10 000 g – 5 минут Me[25%;75%]	режим 1 600 g – 20 минут Me[25%;75%]	p-уровень
V _{мкм/мин} *	33,6[26,7;40,0]	37,1[27,9;45,7]	0,003
T _{лаг} мин	1,29[1,0;1,5]	1,41[1,2;1,7]	0,465
V _i мкм/мин*	49,9[47,5;55,4]	50,3[48,4;57,0]	0,064
CS мкм	1056[1041;1314]	1240[1057;1402]	0,017
D усл.ед	25501[24162;27785]	25635[23075;27657]	0,931
T _{sp} *	31[24;35]	27,7[17;35]	0,018

По рекомендации производителя в качестве образца для теста ТД возможно использование свежемороженой бестромбоцитарной плазмы. При оценке результатов, полученных после глубокой заморозки и оттаивания проб, в сравнении с результатами, полученными из свежей плазмы, мы обнаружили статистически значимые отличия. В пробах после замораживания и оттаивания было чаще зафиксировано спонтанное тромбообразование и отмечены более высокие скоростные параметры теста (V и V_i). Данные представлены в (табл. 4).

Таблица 4. Параметры теста тромбодинамики в свежей плазме и после замораживания и оттаивания. Критерий Вилкоксона для парных сравнений.

Параметр	свежая плазма (n=10) Me[25%;75%]	замороженная плазма (n=10) Me[25%;75]	p-уровень
V, мкм/мин	30,5 [26; 34]	45,8 [36,9; 56,3]	0,006
Tlag, мин	1,2 [0,9; 1,15]	1,5 [1,2; 1,7]	0,216
Vi, мкм/мин	53,1 [51,4; 58,6]	59,9 [56,4; 65,0]	0,033
CS, мкм	1268 [1136; 1385]	1318 [1201; 1402]	0,504
D, усл.ед	23381 [21995; 28456]	25417 [22530; 38701]	0,352
Tsp, мин.	> 30	16,8 [13,2; 25,1]	0,000

Далее было проведено определение параметров тромбодинамики в контрольных плазмах трех уровней, разработанных производителем метода. Было выполнено по 6 измерений в каждом из трех представленных флаконов с последующим расчетом средней внутрифлаконной и межфлаконной воспроизводимости во всех уровнях и сличением их со значениями производителя (табл. 5-6).

Таблица 5. Диапазон допустимых значений контрольных плазм и результаты, полученные в лаборатории клинической химии ВЦЭРМ

Параметр	Флакон 14N ПЗ/ЛЗ	Флакон 13Н ПЗ/ЛЗ	Флакон 15L ПЗ/ЛЗ
V, мкм/мин	19-29/23-27	21-36/26-36	10-17/13-16
Tlag, мин	0,7-1,3/0,8-1,3	0,8-1,7/0,8-1,2	0,9-1,6/0,9-1,5
Vi, мкм/мин	44-64/47-57	43-66/51-58	32-42/33-39
CS, мкм	800-1300/1066-1201	900-1500/1109-1377	600-800/681-754
D, у.е.	12000-18000/ 11925-15145	13000-20000/ 13329-19997	14000-20000/ 13131-16795

Примечание: ПЗ – паспортное значение, ЛЗ – лабораторное значение

Таблица 6. Сравнительный анализ воспроизводимости параметров теста тромбодинамики в контрольных плазмах производителя трех уровней

Параметр	CV производителя /CV лаборатории, %					
	Флакон 14N		Флакон 13Н		Флакон 15L	
	CVв	CVм	CVв	CVм	CVв	CVм
V, мкм/мин	6/6	7/10	3/6	4/7	6/4	7/6
Tlag, мин	8/14	8/12	7/13	7/14	11/14	12/15
Vi, мкм/мин	4/3	4/3	3/3	3/3	5/4	5/4
CS, мкм	4/4	4/6	3/3	3/4	4/2	4/3
D, у.е.	5/11	7/11	6/7	7/8	6/3	5/8

Примечание: CVв – средняя внутрифлаконная воспроизводимость; CVм – межфлаконная воспроизводимость.

Главный диагностический параметр теста тромбодинамики – стационарная скорость роста сгустка V – характеризуется очень хорошей воспроизводимостью (CV<10%), что в совокупности с его высокой чувствительностью к нарушениям гемостаза определяет возможность его использования для оценки состояния гемостаза и контроля антикоагулянтной терапии. Самым нестабильным параметром теста тромбодинамики по результатам наших исследований является параметр Tlag. У данного параметра отмечены высокие значения коэффициента вариации практически во всех моделях и контрольных плазмах (CV>20%). Следует

отметить, что данный параметр рекомендуется производителем исключительно для контроля терапии варфарином в сочетании со скоростью V.

Индивидуальный и пулированный коэффициенты вариации, полученные в ходе эксперимента, соответствуют значениям, заявленным производителем.

Результаты могут быть использованы в других лабораториях для сопоставления аналитических характеристик метода, так как индивидуальные преаналитические факторы в каждой конкретной лаборатории могут оказывать влияние на результаты анализа.

Поскольку производитель теста не поставляет коммерческий контрольный материал, рекомендуя использовать аттестованный пул плазм, то для внутрилабораторного контроля качества мы применили коммерческие контрольные плазмы с нормальным содержанием факторов свертывания и естественных антикоагулянтов компании Instrumentation Laboratory и плазму компании BIO-RAD 2-й уровень, имитирующую физиологическую гипокоагуляцию.

Далее после разведения плазмы перед ее исследованием было проведено центрифугирование (режим 5 минут при 10 000g), что максимально приблизило условия проведения преаналитического этапа к исследованиям проб пациентов.

Анализ контрольных карт демонстрирует, что систематическая погрешность значений параметров тромбодинамики не превышала $\pm 2SD$ для всех контрольных плазм. На основании этих данных, следует заключение, что правильность определения параметров метода ТД была сопоставима и удовлетворительна.

Валидация теста тромбодинамика для мониторинга эффективности антикоагулянтной терапии низкомолекулярными гепаринами в сравнении с определением анти-Ха активности.

Был проведен сравнительный анализ результатов интегрального теста тромбодинамики и определения анти-Ха активности в плазме пациентов с сердечно-сосудистыми и цереброваскулярными заболеваниями (группа 1) и пациентов с минно-взрывной травмой, осложненной тромбозом глубоких вен (группа 2), получающих терапию НМГ. Результаты измерений параметра скорости роста сгустка и определение анти-Ха активности представлены в (табл. 7).

Таблица 7. Сравнительная характеристика исследуемых параметров с рекомендованным диапазоном на пике и исходе действия НМГ

Группы пациентов	V, мкм/мин Me[25%;75%]		Анти-Ха активность, МЕ/мл Me[25%;75%]	
	пик	исход	пик	исход
Пациенты группы 1 n=60	10,1 [7,9; 12,1]	21,5 [17,0; 24,1]*	0,53 [0,42; 0,64]	0,17 [0,1; 0,23] **
Пациенты группы 2 n=40	10,0 [7,0; 12,1]	19,8 [12,0; 23,1]*	0,78 [0,5; 1,2]	0,32 [0,1; 0,35] **
Рекомендованный диапазон	7-14	13-23	0,5-1,1	0,2-0,5

Примечание: * р-уровень различий параметра скорости роста сгустка на пике и исходе действия препарата ($p < 0,01$) ** р-уровень различий анти-Ха активности на пике и исходе действия препарата ($p < 0,01$).

При сравнительном анализе результатов мы обнаружили статистически значимые отличия между данными в тесте ТД и анти-Ха активностью, полученными на пике и исходе действия препарата, как в группе 1, так в группе 2, что вполне закономерно.

Соотношение фармакологического действия НМГ, измеренного по анти-Ха активности, и интегрального эффекта по тесту ТД продемонстрировано на (рис. 1).

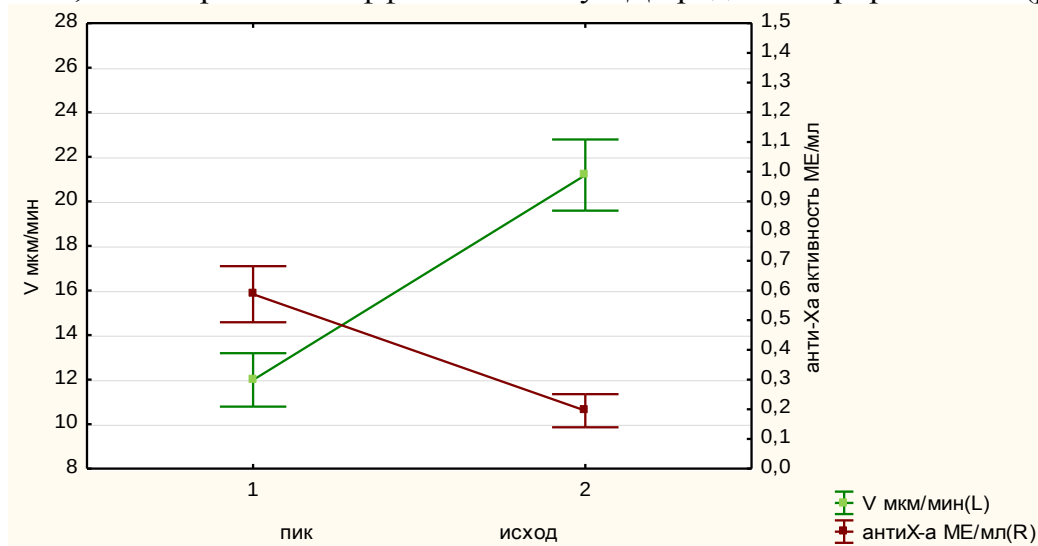


Рис. 1. Сравнительный анализ параметра скорости роста сгустка и определения анти-Ха активности на пике и исходе действия препарата

При сравнительном корреляционном анализе скорости роста сгустка V (мкм/мин) в тесте тромбодинамики и анти-Ха активности (МЕ/мл) в группе пациентов, получавших терапию НМГ выявлены умеренные обратные корреляционные связи между двумя параметрами как на пике действия препарата $r=-0,53$ ($p=0,001$), так и на исходе его действия $r=-0,55$ ($p=0,001$).

Таким образом, результаты нашего исследования показали, что тест тромбодинамики продемонстрировал высокую чувствительность как к гипо- так и к гиперкоагуляции, к эффектам антикоагулянтов в профилактической и терапевтической дозах, соответствие клинической картине.

Тест на анти-Ха активность не входит в рутинное обследование и имеет ограниченное применение в специализированных клиниках, таким образом метод тромбодинамики может быть полезен в оценке формирования ответа на введение гепаринов и в случае отсутствия возможности определения анти-Ха активности ориентировать клинициста в отношении эффекта антикоагулянтной терапии.

Принимая во внимание, что тест тромбодинамики оценивает именно конечный эффект гепарина в отношении плазменного гемостаза, а не активность в крови анти-Ха (одна и та же концентрация может дать различный эффект, в зависимости от особенностей метаболизма конкретного пациента), мы считаем возможным применение данного параметра тромбодинамики для контроля действия НМГ. К тому же, для теста тромбодинамики имеются четкие численные алгоритмы коррекции дозы в зависимости от результатов анализа, что также делает его методом выбора контроля действия НМГ в реальной практике (Применение теста тромбодинамики для контроля состояния системы гемостаза: Учеб. пособие / Под ред. В.В. Фомина. 2024.)

Результаты, полученные по итогам проведенных нами исследований, показывают влияние на результаты теста тромбодинамики способа транспортировки проб крови, режима центрифугирования и замораживания-

размораживания плазмы, что необходимо учитывать при использовании теста в реальной клинической практике.

Индивидуальный и пулированный коэффициенты вариации, полученные в ходе эксперимента, соответствуют коэффициентам вариации, заявленным производителем, что является свидетельством хорошей воспроизводимости метода и его приемлемости для принятия клинических решений.

Результаты верификационного исследования, представленные в данной работе, могут быть использованы в других лабораториях для сопоставления аналитических характеристик метода, так как индивидуальные преаналитические факторы к каждой конкретной лаборатории могут оказывать влияние на результаты анализа.

В процессе выполнения работы были определены условия и способы проведения процедур внутрилабораторного контроля качества теста тромбодинамики.

Проведенная процедура валидации метода тромбодинамики в лаборатории клинической химии ВЦЭРМ, основанная на тестировании большого количества образцов и сбора данных, примененная в отношении процедуры объективного подтверждения применимости аналитической системы и соответствия аналитических характеристик полностью соответствует требованиям к мониторингу терапии НМГ.

Результаты экспериментального раздела создают основы стандартизации метода тромбодинамики, которые обеспечивают клиническую приемлемость и безопасность оказания медицинской помощи.

Систематический обзор публикаций

Нами был произведен систематический обзор литературы, полученных из открытых источников, по ресурсам Elibrary.ru, PubMed, интернет-ресурса PLOS ONE, и научных исследований, посвященных изучению возможностей метода тромбодинамика в диагностике гиперкоагуляционных состояний у пациентов с различными заболеваниями и в мониторинге антитромботической терапии НМГ, опубликованных в период с 2015 по 2024 год. В анализ включались публикации, имеющие полноценный текст с участием групп пациентов не менее 20 человек, госпитализированных в стационар и пациентов посетившие амбулаторный прием.

Далее публикации были разделены на две группы. Первая группа включала систематический обзор литературы, посвященный возможностям и перспективам применения теста тромбодинамики в определении состояния тромботической готовности у стационарных и амбулаторных пациентов, во второй группе представлены публикации на тему мониторинга антитромботической терапии у пациентов с высоким и очень высоким риском развития ТЭО.

Систематический анализ представленных опубликованных результатов клинического применения метода тромбодинамики позволяет сформулировать и представить следующие выводы и рекомендации:

Основные области применения теста - соматические заболевания (40 %) и пациенты с новой коронавирусной инфекцией (44 %). Наибольший интерес метод тромбодинамики вызывает у кардиологов, кардиохирургов, в акушерстве и гинекологии и при онкологических заболеваниях.

Проблеме определения состояния гиперкоагуляции или тромботической готовности были посвящены 40 публикаций, в которых приведены данные обследования 5 219 пациентов. Наибольшее количество публикаций сделали

специалисты в области сердечно-сосудистых заболеваний – 17 публикаций (1112 пациентов). При этом меньшему количеству публикаций в областях онкологии и акушерства и гинекологии соответствует значительно большее количество пациентов, что свидетельствует о более презентативных выборках. В 32 публикациях, отражающих мониторинг антикоагулянтной терапии, были представлены данные обследования более 10 000 пациентов, большая часть из которых – пациенты с инфекцией COVID-19 (6 899 пациентов).

Анализ публикаций демонстрирует отсутствие научных статей по изучению аналитических характеристик метода тромбодинамики, контролю качества, влияния факторов преаналитического этапа исследования.

Результаты большинства исследований демонстрируют предиктивную способность теста в отношении тромбоэмболических осложнений и чувствительность к терапии гепаринами. При этом практически не представлены данные о чувствительности метода к другим препаратам антитромботической терапии. Анализ публикаций не отражает аналитическую надежность метода и диагностическую значимость отдельных параметров теста тромбодинамики.

**База данных параметров системы гемостаза с использованием теста
тромбодинамики и традиционных лабораторных методов для оценки
состояния тромботической готовности и мониторинга антитромботической
терапии у пациентов различного профиля**

В период с 2018 по 2024 год была сформирована электронная база данных пациентов, которая содержит результаты интегрального метода тромбодинамики и точечных методов исследования плазменного гемостаза у пациентов с болезнями системы кровообращения, находящихся на стационарном лечении и посетивших амбулаторный прием. База включает в себя клинико-anamnestические данные 1 300 пациентов в возрасте от 18 до 80 лет, из них 658 мужчин и 642 женщины.

На основании данных, полученных из базы данных, были проведены исследования по влиянию фармакологической терапии, дозы и кратности введения препаратов на состояние системы гемостаза пациентов, находящихся на стационарном и амбулаторном лечении. Был проведен анализ предиктивной способности основного параметра теста тромбодинамики – скорости роста сгустка к риску развития тромботических событий.

**Информативность метода тромбодинамики у пациентов с высоким риском
развития тромбоэмболических осложнений.**

Проблема гиперкоагуляционного синдрома в современной медицине обсуждается активно и рассматривается как важный фактор риска различных заболеваний и, в первую очередь, болезней системы кровообращения. Данные эпидемиологических исследований показывают, что у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (далее ликвидаторы) заболеваемость болезнями системы кровообращения значительно больше, чем в общей популяции россиян, а следовательно увеличен и риск смерти в результате этих заболеваний в будущем (Иванов В.К. и др., 2015). У пациентов обследуемой группы медиана параметра скорости образования сгустка была 47,5 [41,3;54,4] мкм/мин,

Был проведен корреляционный анализ параметра скорость роста сгустка (V) с концентрацией фактора VIII и фактора фон Виллебранда, в результате которого были получены умеренные положительные связи. По результатам теста ТД у 85 % пациентов была выявлена гиперкоагуляция, при этом только у 40-45 % пациентов были определены повышенные уровни факторов свертывания, данные

представлены на рисунке 2. При этом в базовой терапии пациентов этой группы не используются антикоагулянты, так как пациенты не имели заболеваний, требующих их назначения.

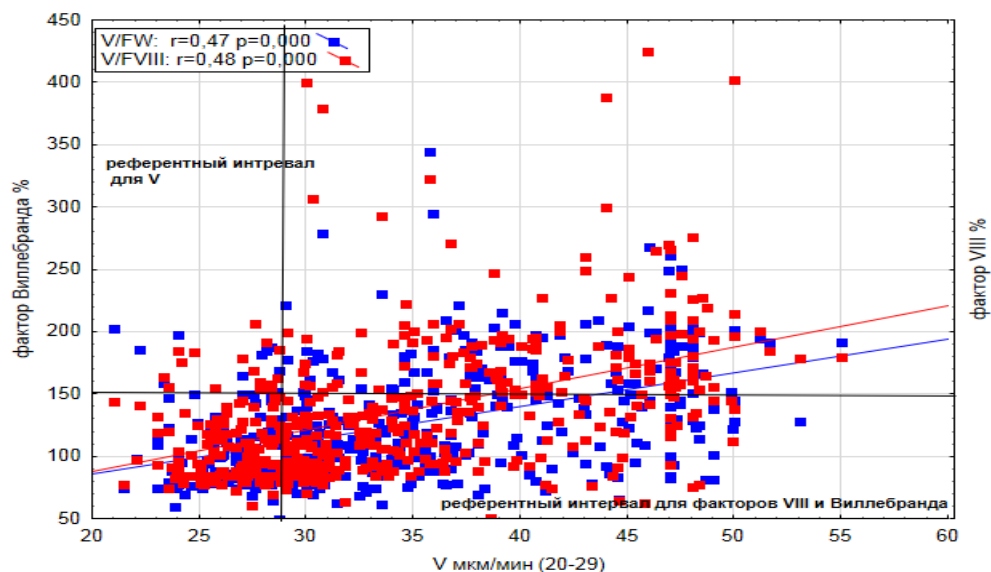


Рис. 2. Корреляционный анализ активности фактора фон Виллебранда, концентрации фактора VIII и параметра скорости роста сгустка у пациентов с заболеваниями системы кровообращения

Для пациентов с болезнями системы кровообращения и сахарным диабетом были выявлены характерные сдвиги параметров теста тромбодинамики, в область гиперкоагуляции. В группе пациентов без сахарного диабета время появления спонтанных сгустков в среднем составило $(23,0 \pm 9,0)$ мин и скорость образования сгустка – $(41,1 \pm 14,0)$ мкм/мин, а в группе с сахарным диабетом спонтанные сгустки появлялись значительно раньше, в среднем через $(17,0 \pm 6,0)$ мин и скорость роста сгустка была больше – $(45,7 \pm 11,0)$ мкм/мин ($p = 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно в группе без сахарного диабета ($p < 0,001$)). Данные демонстрирует рисунок 3.

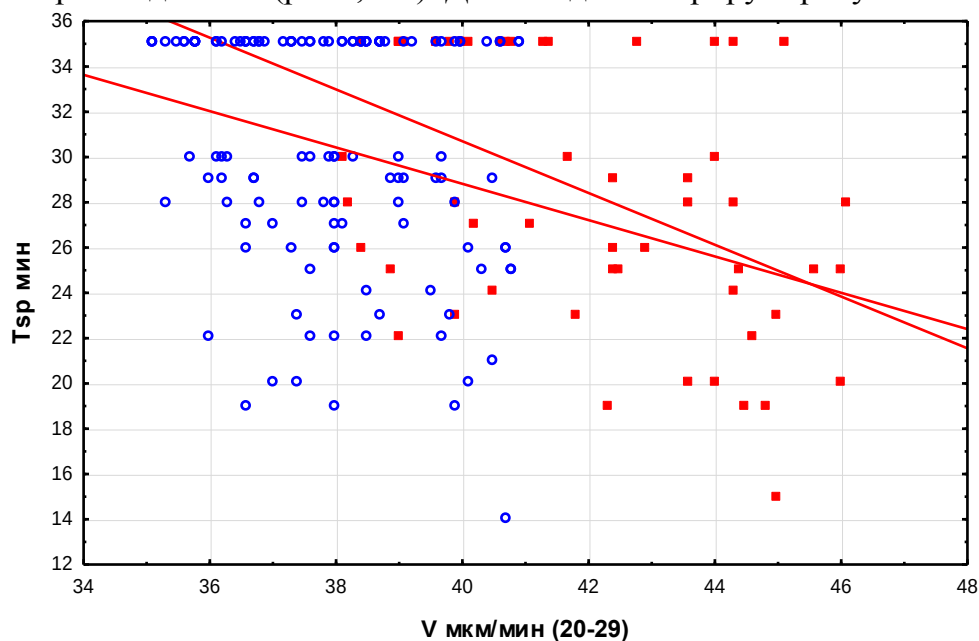


Рис.3. Соотношение параметра скорости роста сгустка к параметру спонтанного тромбообразования в группах пациентов с наличием СД и без СД.

Примечание: синий цвет – группа без сахарного диабета,

Красный цвет – группа с сахарным диабетом в анамнезе

Полученные результаты подтверждают представление о возможном существенном значении гиперкоагуляции в патогенезе болезней системы кровообращения у ликвидаторов. Наиболее характерными для этой группы пациентов стали значительное увеличение скорости образования фибринового сгустка и формирование спонтанных сгустков, т. е. тех параметров теста тромбодинамики, которые чувствительны к содержанию микровезикул, образующихся при активации тромбоцитов. Данные, полученные в результате реализации многолетней программы обследования ликвидаторов, свидетельствуют о существенной активации тромбоцитарного гемостаза у ликвидаторов с болезнями системы кровообращения и формировании дисфункции эндотелия (Авдушкина Л.А., 2012).

Лабораторная оценка влияния гормональных препаратов на систему плазменного гемостаза у женщин, принимающих гормональную терапию

В тесте тромбодинамики была выявлена существенно бо́льшая скорость образования сгустка у женщин (ГТ+), по сравнению с группой женщин (ГТ-). Формирование спонтанных сгустков в интервале от 0 до 30 мин было отмечено у 50 % женщин (ГТ+) и только у 11 % женщин (ГТ-). Результаты оценки параметров плазменного гемостаза в группах обследованных женщин представлены в таблице 8.

Таблица 8. Сравнительная характеристика параметров плазменного гемостаза в группах женщин принимающих и не принимающих гормональную терапию (критерий Колмогорова -Смирнова)

Параметры, ед. (референтный интервал)	M±SD		P-value
	ГТ- n=280	ГТ+ n=380	
Возраст, лет	41,8±10,6	42,1±9,5	p>0.10
V, мкм/мин (20-29)	29,7±3,7	36,5±7,7	p<0,001
Размер сгустка (CS), мкм (800-1200)	1156±107	1305±216	p<0,001
Tsp > 30 мин.	173 (89 %)	104 (50%)	p<0,001
XIIa-зависимый фибринолиз, мин (5-12)	6,9± 2,3	11,3±5,7	p<0,001
vFW, % (40-158)	109±35	134±46	p<0,001
FVIII, % (50-150)	118±49	145±53	p<0,001
D-димер, нг/мл (0-255)	84±55	147±209	p<0,001

Примечание: Tsp > 30 мин. – спонтанное тромбообразование отсутствует (для параметра Tsp приведены значения (n)).

В основе эффективной профилактики ВТЭО лежит стратификация риска. Наиболее удобной и проверенной моделью индивидуального прогнозирования вероятности развития тромбоза является шкала американского профессора Caprini, в которой прием оральных контрацептивов и гормонзаместительной терапии имеет 1 балл (Лобастов К.В. и др., 2014).

Мы провели оценку параметров системы плазменного гемостаза в зависимости от наличия и количества индивидуальных факторов риска у обследуемых женщин с менопаузальной терапией. С увеличением количества индивидуальных факторов риска у обследуемых женщин было зарегистрировано увеличение параметров теста ТД в область гиперкоагуляции, замедление XII-а зависимого фибринолиза, увеличение концентрации vWF и FVIII. В группе женщин, (ГК-) все параметры, кроме параметра скорости роста сгустка, находятся

в области референтных значений, тогда как в группе (ГК+) все перечисленные параметры находятся в области гиперкоагуляции. Медиана концентрации D-димера в обеих группах не выходила за пределы референтного интервала.

Представленные результаты демонстрируют недооценку индивидуальных факторов риска развития тромботических событий. При этом лабораторные исследования могут давать дополнительную информацию, подтверждающую тромботический риск при применении гормональной терапии. Интегральный метод тромбодинамики позволяет выявлять пациенток с повышенной тромботической готовностью, у которых впоследствии можно ожидать наибольший риск развития тромбоэмболических осложнений. Таким образом, очень важно правильно оценить не только общий соматический, но и гемостатический статус женщины, прежде чем назначить ей ГТ.

Чувствительность теста тромбодинамики к применению фармакологической терапии

Вопрос контроля эффективности антитромботических препаратов с помощью лабораторных методов остается спорным и нерешенным, особенно у клинически стабильных пациентов. Для оценки фармакодинамического эффекта антикоагулянтов применяют тесты определяющие ингибирование факторов IIa и Xa.

Для оценки эффективности антитромботической терапии был проведен сравнительный анализ основного параметра теста тромбодинамики - скорости роста сгустка у пациентов, включенных в электронную базу данных, разделенных на группы по принимаемой терапии.

На (рис. 4) продемонстрирована чувствительность параметра скорости роста сгустка V к принимаемым терапевтическим препаратам (тест Колмогорова-Смирнова).

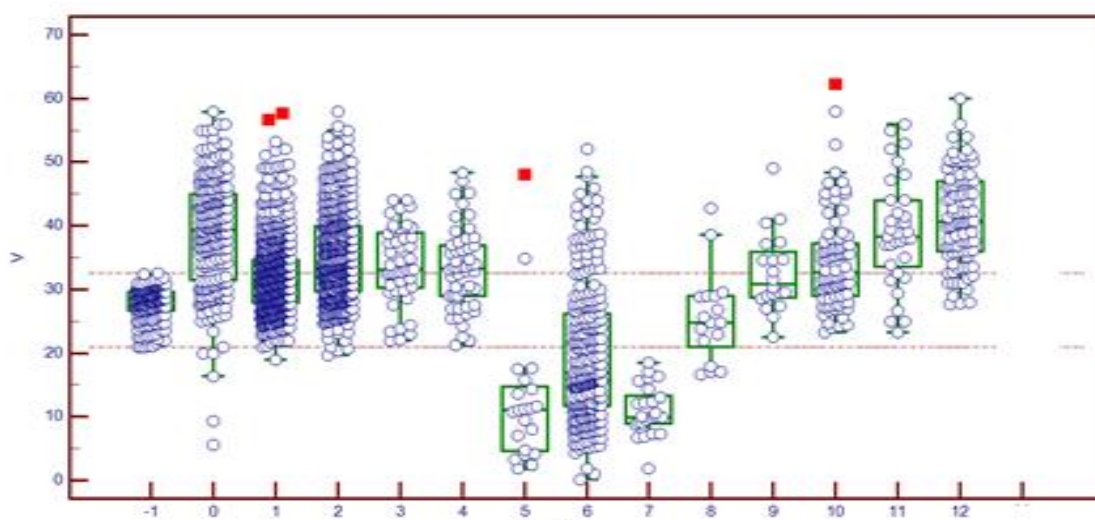


Рис. 4. Параметр скорости роста сгустка V в зависимости от принимаемой антитромботической терапии.

Примечание: границы прямоугольников (коробок) — 25-й и 75-й процентиля, средние линии — медианы, концы усов — края статистически значимой выборки, красные символы — выбросы. Группы: -1 - условно-здоровые добровольцы без терапии, 0 - пациенты перед назначением терапии, 1 - ПАОК, 2 - ААТ, 3 - ДААТ, 4 - АКТ+ААТ, 5 - НФГ, 6 - НМГ, 7 - фондапаринукс, 8 - АВК, 9 - венопротекторы, 10 - ГКС, 11 - ГКС+ААТ, 12 - ГКС+АКТ,

Тест показывает статистически значимые различия в группах пациентов на разных видах проводимой терапии и без нее от группы условно здоровых людей (группа -1, $p < 0,001$). Отчетливо виден выраженный гиперкоагуляционный эффект в группе пациентов, принимающих глюкокортикостероиды (группа 12) со снижением скорости роста сгустка при добавлении к терапии ГКС антиагрегантной (группа 11, $p < 0,05$) и антикоагулянтной терапии (группа 10, $p < 0,05$).

Пациенты на антиагрегантной терапии (группа 2, $p < 0,001$, группа 3, $p < 0,001$) в целом находятся в состоянии менее выраженной гиперкоагуляции, чем пациенты без какой-либо терапии, перед ее назначением (группа 0), однако эффект выражен гораздо слабее, чем при терапии прямыми оральными антикоагулянтами (группа 1, $p < 0,001$). Такие результаты вполне ожидаемы, так как тест тромбодинамики в первую очередь позволяет оценить влияние проводимой терапии на плазменное звено свертывания, в то время как антиагрегантные препараты влияют в основном на тромбоцитарное звено гемостаза. Тем не менее, благодаря известным тромбоцитарно-тромбиновым и тромбоцитарно-лейкоцитарным взаимосвязям, действие антитромбоцитарных препаратов косвенно отражается на плазменных реакциях гемостаза и генерации тромбина, что подтверждается изменениями параметров тромбодинамики и дает возможность рассматривать данный метод как дополнительную опцию в оценке опосредованных антикоагулянтных эффектов антиагрегантной терапии.

Обращает на себя внимание зависимость эффекта снижения скорости роста сгустка V от типа антикоагулянта: наименее выраженный эффект для ПОАК (группа 1, $p < 0,001$), сильный эффект для НМГ (группа 6, $p < 0,001$), и очень сильный эффект для НФГ (группа 5, $p < 0,001$) и фондапаринукса (группа 7, $p < 0,001$). Такая картина в целом соответствует клиническим ожиданиям от препаратов и сценариям их применения.

Тест позволяет статистически значимо отличить группы пациентов, получающих или не получающих антитромботическую терапию, от группы условно здоровых лиц.

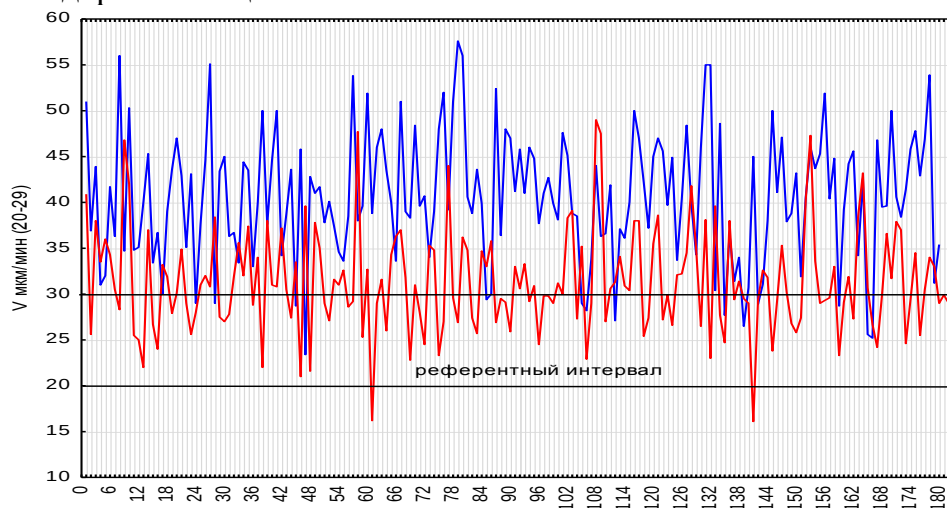


Рис. 5. Параметр скорости роста сгустка перед назначением антитромботической терапии (АТТ) (синий цвет) и на фоне АТТ (красный цвет) ($p < 0,001$).

Был обнаружен факт наличия лабораторной гиперкоагуляции у 75 % обследованных пациентов с различными заболеваниями, включенных в исследование, при отсутствии антикоагулянтной или антиагрегантной терапии

(рис. 5), сравнение проводилось у каждого больного до начала антитромботической терапии и повторно – на фоне приема препаратов.

Был проведен анализ чувствительности параметра скорости роста сгустка (V) к антикоагулянтной терапии НМГ. На первом этапе изучили влияние дозировки на основной параметр теста тромбодинамики. На рисунке 6 представлены значения параметра скорости роста сгустка в зависимости от влияния профилактических и терапевтических доз. Все группы статистически достоверно различаются между собой ($p < 0,05$, однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса.)

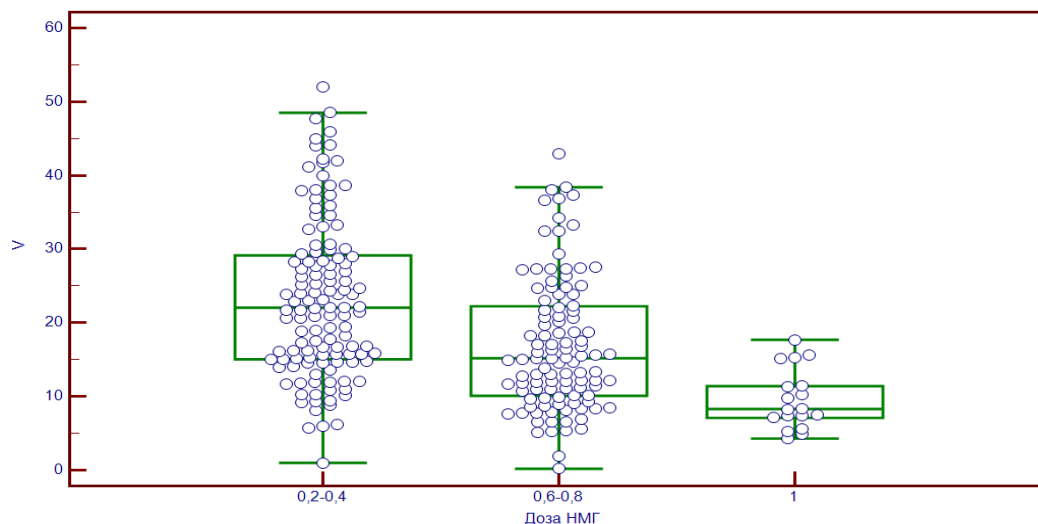


Рис. 6. Чувствительность параметра скорости роста сгустка к дозам НМГ (в мл).

Затем группы пациентов, получающих НМГ, были разделены по дозам и времени проведения исследования теста тромбодинамика – на пике действия препарата – через 3 часа после инъекции и исходе действия препарата – перед очередным введением. Все группы статистически достоверно различаются между собой ($p < 0,05$), однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса.). Все подгруппы внутри групп статистически значимо различаются между собой (Манн-Уитни, $p < 0,05$). Данные анализа представлены на рисунке 7.

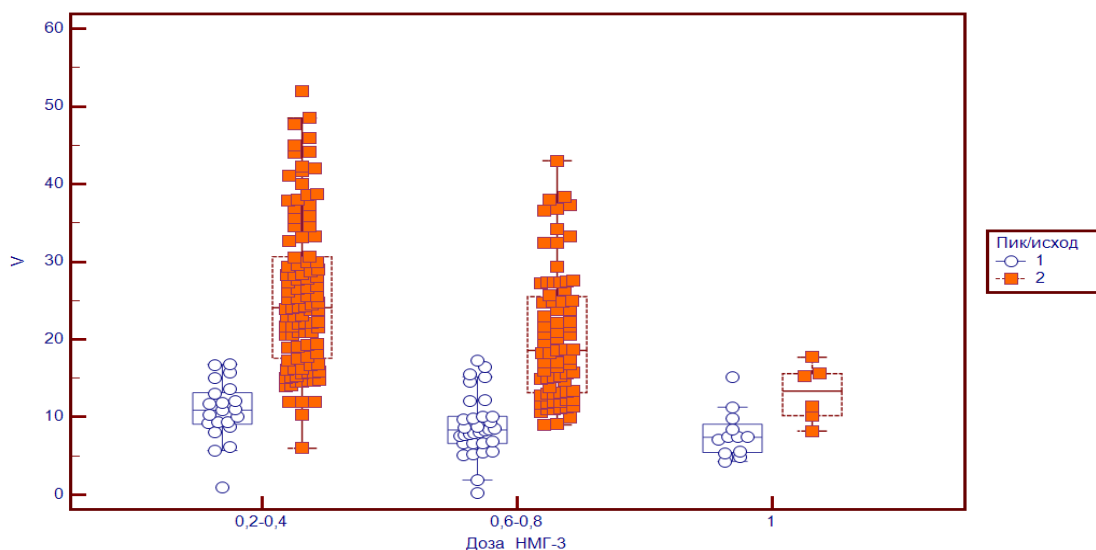


Рис. 7. Влияние дозировки и времени проведения исследования теста тромбодинамики на основной параметр скорости роста сгустка (мл).

Следующим этапом был проведен анализ чувствительности параметра скорости роста сгустка в зависимости от дозы и кратности введения НМГ на исходе действия препарата и пике действия препарата.

Все группы пациентов, обследованных на исходе действия препарата, статистически достоверно различаются между собой ($p < 0,05$), однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса.) Все подгруппы внутри групп также статистически достоверно различаются между собой (Манн-Уитни, $p < 0,05$) (рис.8).

В группе пациентов, обследованных на пике действия препарата - группа «0,2-0,4» статистически достоверно отличается от групп «0,6-0,8» и «1» ($p < 0,05$), однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса), а подгруппы внутри групп статистически достоверно не различаются между собой (Манн-Уитни, $p = 0,06$) (рис.9).

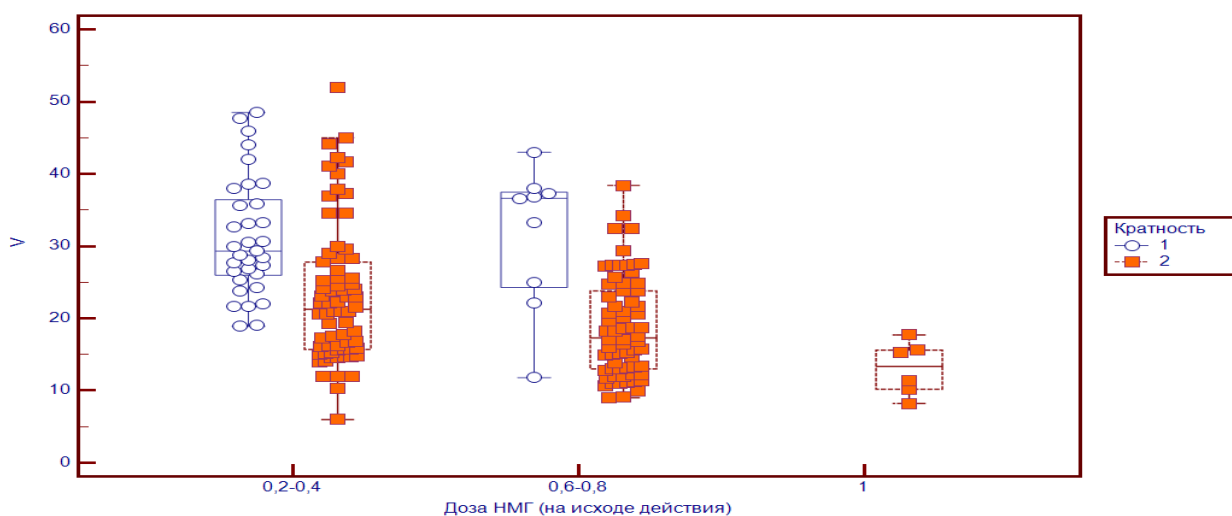


Рис.8. Влияние дозы и кратности введения НМГ на исходе действия препарата.

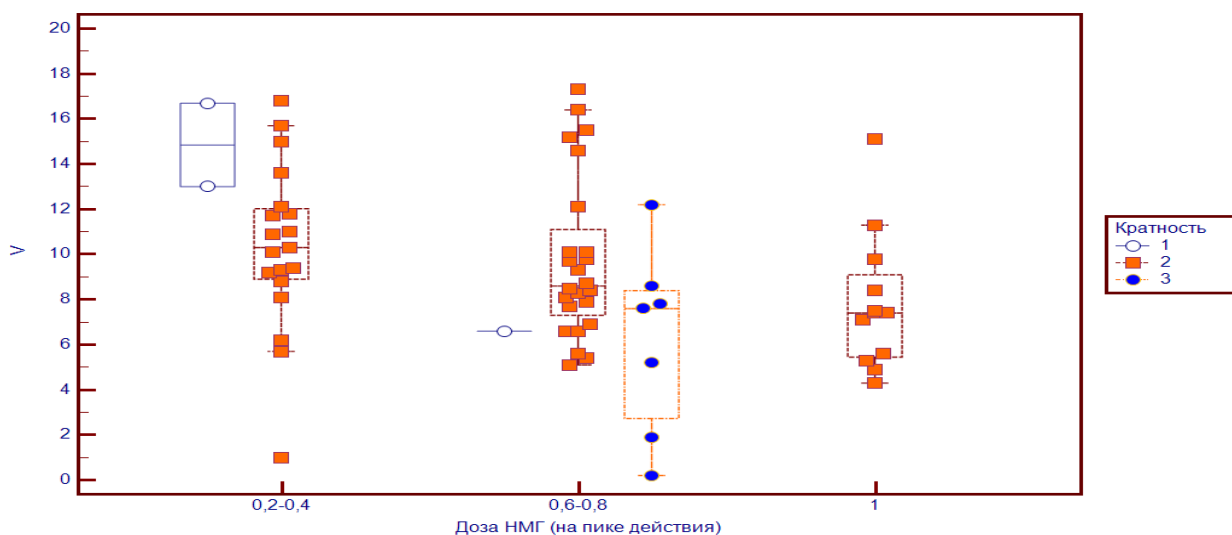


Рис.9. Влияние дозировки и кратности введения НМГ на пике действия препарата.

Результаты исследования демонстрируют высокую чувствительность основного параметра теста тромбодинамики скорости роста сгустка к дозам НМГ – увеличение дозы приводит к достоверному уменьшению скорости роста сгустка. Также тест чувствителен к фармакодинамике НМГ независимо от дозы: эффект

различается на пике/исходе действия препарата. Тест чувствителен к кратности введения НМГ независимо от дозы при взятии анализа на исходе действия, и не чувствителен на пике, что является вполне логичным, так как на пике действия препарата, то есть в ближайшее время после введения НМГ остаточные эффекты от предыдущих введений незаметны на фоне свежего введения.

Все это делает тест ТД адекватным инструментом для мониторинга и контроля терапии НМГ, позволяющим подобрать оптимальные дозы и кратности введения, чтобы максимизировать время нахождения пациента в терапевтическом окне целевой гипокоагуляции.

Анализ клинических исходов

Для оценки клинических исходов в виде тромботических и геморрагических событий был проведен сравнительный анализ основного параметра теста тромбодинамики - скорости роста сгустка. По результатам полученных исследований клинических исходов, все пациенты были поделены на три группы: 1 - пациенты, получившие геморрагические события на антикоагулянтной терапии НМГ ($n=25$), 2 – пациенты без тромботических и геморрагических осложнений ($n=950$), и 3 группа - пациенты, получившие тромботические события на антитромботической, гормональной терапии и без терапии, на фоне предыдущей гиперкоагуляции по тесту тромбодинамика ($n=56$). Статистический анализ показал, что все группы статистически значимо различались между собой ($p<0,05$, однофакторный дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса, (рис. 10)).

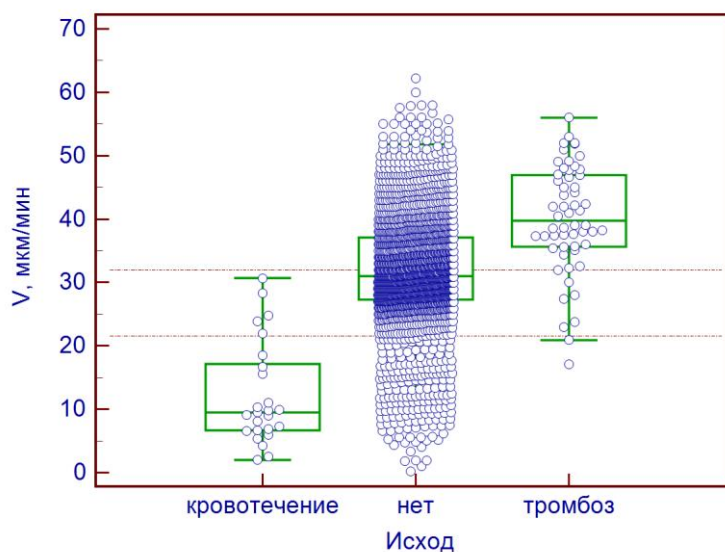


Рис. 10. Распределение параметра V в зависимости от клинических исходов.

Примечание: границы прямоугольников (коробок) — 25-й и 75-й процентиля, средние линии — медианы, концы усов — края статистически значимой выборки, пунктирные горизонтальные линии – референтный интервал.

Был проведен ROC-анализ, результаты которого демонстрируют, что увеличение скорости роста сгустка выше 35 мкм/мин в период лечения в стационаре увеличивает риск тромбоза, что наглядно демонстрирует (рис. 11).

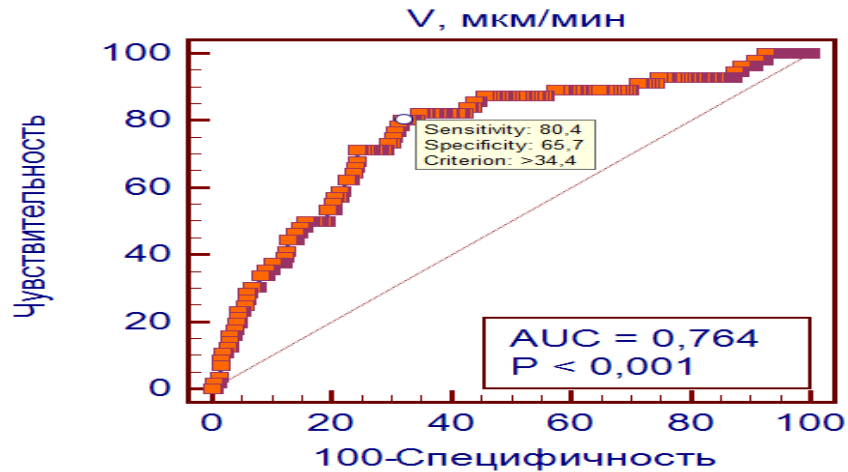


Рис. 11. ROC-анализ предиктивной способности параметра скорость роста сгустка (V) к тромбозу у всех пациентов, проходящих лечение в стационаре.

При определении зависимости скорости роста сгустка у пациентов с тромбозами от вида проводимой терапии установлено, что параметр V в группе пациентов с тромбозами, получающих терапевтические дозы НМГ, статистически значительно отличается от других групп, что вполне согласуется с ожиданиями - сильный эффект высоких доз НМГ. Данные представлены на рисунке 12. При этом значения скорости роста сгустка в группах пациентов с тромбозами находились выше рекомендованного диапазона для терапии НМГ. Это отражает индивидуальную неэффективность терапии у данных пациентов, которая могла стать причиной тромботических событий.

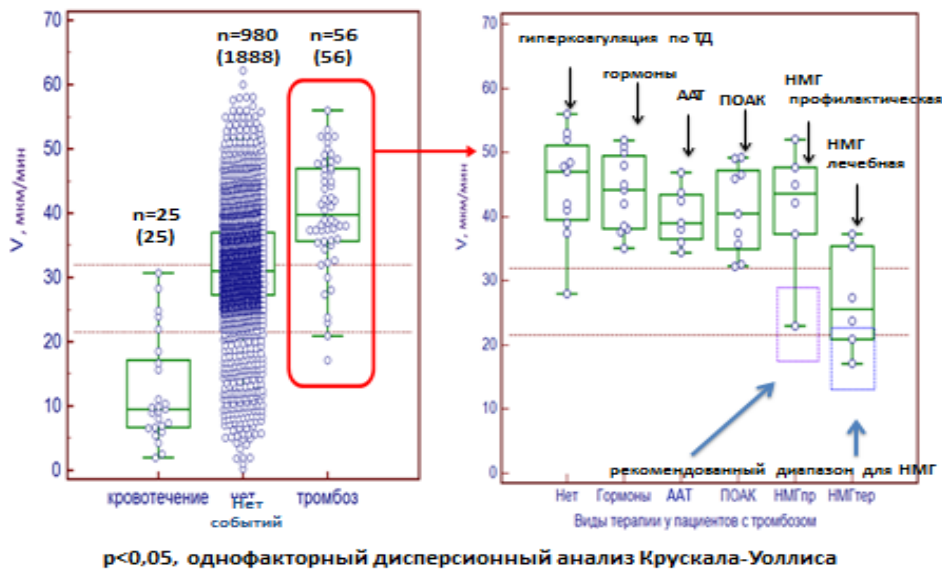


Рис. 12. Распределение параметра скорости роста сгустка (V) у пациентов с тромбозами в зависимости от вида терапии.

Примечание: границы прямоугольников (коробок) — 25-й и 75-й процентиля, средние линии — медианы, концы усов — края статистически значимой выборки, пунктирные горизонтальные линии — референтный интервал, фиолетовый пунктирный прямоугольник — целевой диапазон для НМГ профилактики, синий пунктирный прямоугольник — целевой диапазон для НМГ терапии, ААТ — антиагрегантная терапия, ПОАК — терапия прямыми оральными антикоагулянтами, НМГпр — терапия профилактическими дозами НМГ, НМГтер — терапевтические дозы НМГ.

Группы пациентов с тромбозами, не получавших гепаринотерапию, статистически значимо не отличались друг от друга, что дало возможность их объединения в одну группу для проведения ROC-анализа (рис. 13).

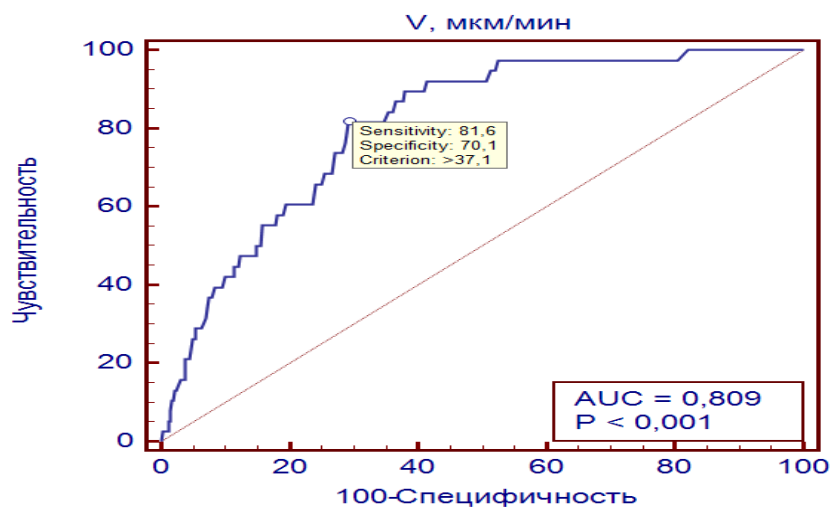


Рис. 13. ROC-анализ предиктивной способности параметра скорость роста сгустка (V) к тромбозу для пациентов, не получающих НМГ.

Показатель AUC, характеризующий общее качество параметра скорость роста сгустка V как предиктора тромбоза, оказался высоким – 0,809. Критерий параметра $V > 37,1$ мкм/мин в качестве предиктора тромбоза обеспечивает чувствительность теста 81,6% и специфичность 70,1%.

Для пациентов находящихся на терапии НМГ необходим отдельный ROC-анализ, так как для них нужно учитывать время взятия крови (пик/исход действия НМГ) и дозировку препарата (профилактическая/ терапевтическая) – см. (рис. 14).

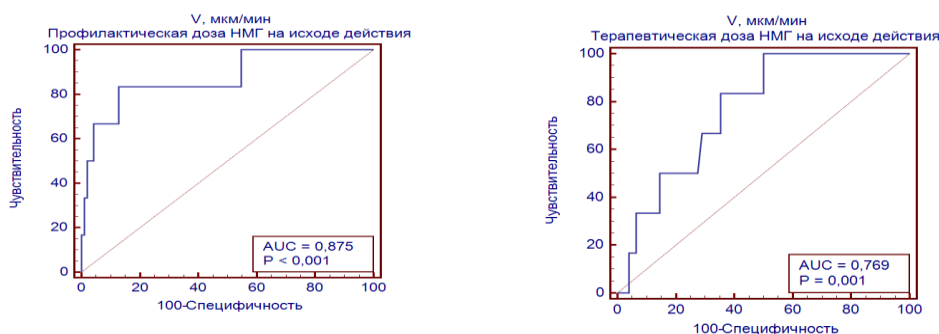


Рис. 14. ROC-анализ предиктивной способности параметра скорость роста сгустка (V) к тромбозу для пациентов, получающих НМГ в профилактических и терапевтических дозах.

Примечание: Точка отсечения (cut-off) для профилактических доз – 37,0 мкм/мин, для терапевтических доз – 20,7 мкм/мин.

Показатель AUC, характеризующий общее качество параметра V как предиктора тромбоза, остается высоким как для профилактических (0,88), так и для терапевтических доз НМГ (0,77). При чувствительности более 80% тест тромбодинамики обеспечивает специфичность на уровне 87% для профилактических доз и 64% для терапевтических, что позволяет рекомендовать данный тест для контроля эффективности терапии НМГ. При этом максимальное значение параметра V для терапевтических доз равняется 20,7 мкм/мин, что

практически совпадает с верхней границей целевого диапазона при терапии НМГ (21 мкм/мин), рекомендованного в учебном пособии (Под ред. В.В. Фомина 2024)

При анализе клинических исходов у пациентов, находящихся на антикоагулянтной терапии гепаринами, представленному на (рис. 15), наблюдали 12 случаев тромботических осложнений и 10 случаев геморрагических осложнений. Пациенты получали как терапевтические, так и профилактические дозировки НМГ. У 75% пациентов с тромбозами по данным теста ТД скорость роста сгустка V была смещена за пределы рекомендованных диапазонов в область гиперкоагуляции, а у 90% пациентов с кровотечениями, наоборот, скорость роста сгустка V была смещена ниже границ рекомендованных целевых диапазонов в область более выраженной гипокоагуляции.

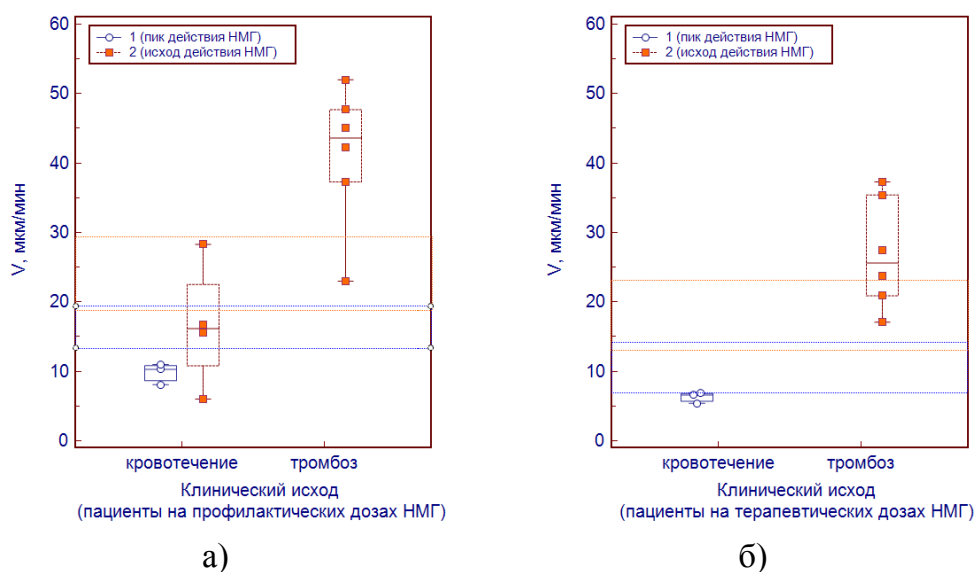


Рис. 15. Параметр скорость роста сгустка (V) на пике и исходе действия профилактических (а) и терапевтических (б) дозировок НМГ, у пациентов, с тромботическими и геморрагическими осложнениями.

Примечание: оранжевый прямоугольник – рекомендуемый целевой диапазон для исхода действия НМГ, синий прямоугольник – для пика действия НМГ.

При изучении влияния действия гормональной терапии эстрогенами и прогестинами у женщин, принимающих гормональную контрацепцию и менопаузальную терапию, на систему гемостаза была сформирована группа женщин, получивших тромботическое событие на фоне данной терапии.

В структуре тромбозов, развившихся у женщин, принимающих ГТ, преобладали венозные тромбоэмболические осложнения – 76 %, артериальные тромбозы были представлены 16 % ишемическими инсультом и 8 % ТИА, что отражает эпидемиологическую ситуацию в популяции и полностью согласуется с данными литературы (Kruijf P. 2021).

При анализе гормональных препаратов, на фоне которых произошло ТЭО, мы выявили тот факт, что в 63% случаев это были комбинированные препараты с синтетическим этинилэстрадиолом, 17% - с эстрадиола гемигидратом, 16 % - с эстрадиола валератом и 16 % - с прогестинами в монофазном режиме, которые рекомендуются использовать женщинам с тромбофилией и с тромбозами.

Сопоставление лабораторных показателей в основной группе женщин ($n=553$) и группе с реализовавшимся тромбозом выявило статистически значимые

различия по параметрам скорости роста сгустка (V мкм\мин), концентрации D-димера и факторов FVIII и Виллебранда ($p < 0,001$). Данные представлены на рисунке 16.

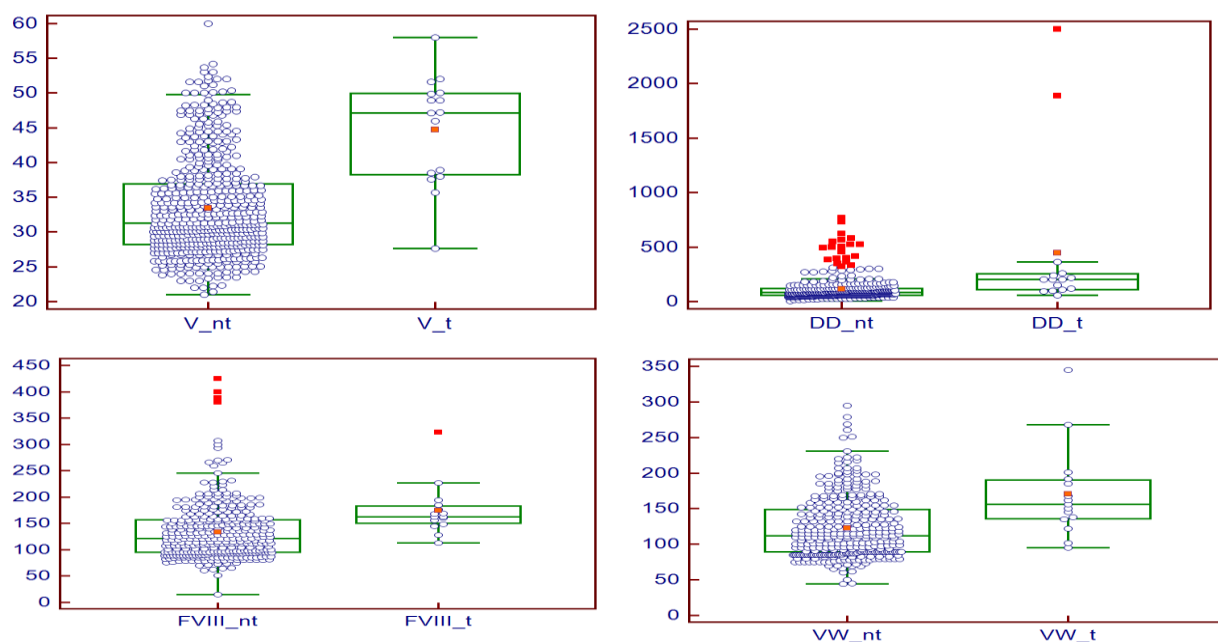


Рисунок 16. Параметры системы гемостаза в группе женщин с тромбозами и без тромботических событий.

Примечание: V - скорость роста сгустка, D - D-димер. FVIII - Фактор VIII, VW - фактор Виллебранда. nt – нет тромбоза, t – тромбоз.

Сравнительный анализ с использованием построения ROC-кривых для параметров скорости роста сгустка, концентрации D-димера, активности фактора VIII и антигена фактора фон Виллебранда был проведен в отдельно сформированной группе женщин, получающих гормональную терапию ($n=385$). У 18 женщин в период наблюдения, развились тромботические осложнения на фоне приема гормональных препаратов (рис.17).

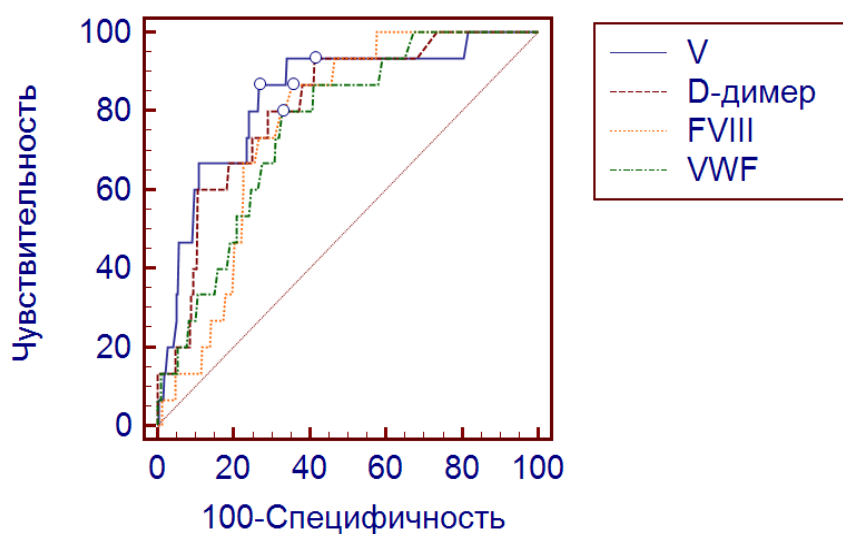


Рис. 17. ROC-анализ предиктивной способности параметра скорость роста сгустка V к тромбозу в группе женщин, принимающих гормональную терапию.

Все модели продемонстрировали удовлетворительное соотношение чувствительности и специфичности с величиной площади под кривой (AUC) от 0,76 до 0,85 и могут рассматриваться как хорошие классификаторы. Однако наилучшей прогностической силой обладает параметр скорости роста сгустка (V), важным преимуществом которого перед другими лабораторными показателями является то, что cut-off находится далеко за пределами референтного интервала и составляет 37,5 мкм/мин, в то время как cut-off для остальных лежит внутри референтного диапазона, что делает их малоприменимыми для практического применения (табл. 9).

Таблица 9. Результаты ROC-анализа в группе женщин, принимающих гормональную терапию

Параметр (референтный интервал)	AUC	Cut-off*	Качество модели
V, мкм/мин (20 – 29)	0,85	37,5	Очень хорошее(AUC 0,8-0,9)
D-димер, нг/мл (0 – 250)	0,80	91	Хорошее(AUC 0,7-0,8)
FVIII, % (75 – 150)	0,76	144	Хорошее (AUC 0,7-0,8)
FW, % (60-150)	0,76	134	Хорошее(AUC 0,7-0,8)

С помощью интегрального метода тромбодинамики можно выявлять пациенток с повышенной тромботической готовностью, у которых впоследствии можно ожидать наибольший риск развития ТЭО при повышении параметра скорости роста сгустка выше 37,5 мкм\мин.

Прогнозирование и целенаправленная профилактика ТЭО при приеме ГТ должны стать неотъемлемой частью тактики ведения гинекологических пациенток.

Практика применения метода тромбодинамики в клиниках ВЦЭРМ им. А.М. Никифорова МЧС России.

Метод тромбодинамики был внесен в перечень исследований системы гемостаза в лаборатории клинической химии отдела лабораторной диагностики ВЦЭРМ им. А.М.Никифорова МЧС России (далее ВЦЭРМ) в декабре 2014 года, но коммерчески доступным стал только в 2017 году. Всего было выполнено более 8 000 исследований, основной объем которых пришелся на 2021-2022 годы вследствие увеличения количества пациентов после перенесенной новой коронавирусной инфекции в раннем периоде. Характеристика распределения исследований показывает наибольшую часть исследований у пациентов амбулаторно-поликлинического звена, это пациенты как ВЦЭРМ, так и других медицинских учреждений города, 39% исследований приходится на пациентов стационара и порядка 12% исследований приходится на выполнение научно-исследовательских работ в рамках различных программ, где прошли обследование ликвидаторы последствий аварии на ЧАЭС, спасатели, пожарные.

Результаты основных исследований опубликованы в печати и доложены на различных научно-практических конференциях как российских, так и зарубежных. Для уточнения аналитических характеристик метода тромбодинамики и определения собственных референтных интервалов было выполнено более 850 исследований.

ВЫВОДЫ

1. Проведен систематический обзор литературы без мета-анализа 1156 источников литературы, включающих данные фундаментального и прикладного характера о методе тромбодинамики, из которых только 76 публикаций, включающих результаты обследования 15 875 пациентов, соответствовали критериям научного поиска (статья в рецензируемом журнале, количество пациентов не менее 20, наличие доказательной базы в оценке информативности теста). Основные области применения теста – заболевания системы кровообращения, акушерство и гинекология, онкология, хирургия и травматология (40 %) и пациенты с новой коронавирусной инфекцией (44 %). Результаты большинства исследований демонстрируют предиктивную способность теста тромбодинамики в отношении тромбоэмболических осложнений и чувствительность к терапии гепаринами. Анализ публикаций не отражает влияние факторов преаналитического этапа на результаты исследования, аналитическую надежность метода, проведения контроля качества исследования, диагностическую значимость отдельных параметров теста тромбодинамики.

2. Получено подтверждение аналитической надежности теста тромбодинамики при использовании в рутинной лабораторной практике. Выявлены факторы преаналитического этапа (температурный режим и транспортировка проб крови), вызывающие ложную гиперкоагуляцию. Проведена валидация теста тромбодинамики относительно стандартного метода определения антиХа-активности, в результате которой тест тромбодинамики продемонстрировал себя эффективным инструментом для мониторинга и контроля терапии низкомолекулярными гепаринами.

3. Создана и зарегистрирована электронная база данных «Мониторинг антитромботической терапии интегральным методом тромбодинамика у пациентов кардиологического, неврологического, гинекологического, хирургического, травматологического и онкологического профиля» с результатами теста тромбодинамики и локальных тестов оценки системы гемостаза, клиничко-анамнестическими данными 1300 пациентов, получающих антитромботическую терапию.

4. Показана активация системы плазменного гемостаза по данным теста тромбодинамики у 85 % пациентов с болезнями системы кровообращения (дисциркуляторная энцефалопатия и ИБС) – участников ликвидации аварии на ЧАЭС в отсутствие антитромботической терапии. При этом только у 40-45 % пациентов были определены повышенные уровни FVIII и vWF. Гиперкоагуляционный синдром был наиболее выражен в группе пациентов с болезнями системы кровообращения в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа.

5. Выявлены статистически значимые сдвиги параметров теста тромбодинамики в область гиперкоагуляции у женщин на фоне контрацептивной и менопаузальной гормональной терапии. Выраженность гиперкоагуляции усиливается с увеличением количества индивидуальных факторов риска тромбоэмболических осложнений, зависит от типа и формы введения гормонального препарата.

6. Установлено, что параметр скорость роста сгустка в тесте тромбодинамики более 37,5 мкм/мин является критерием риска развития тромбоэмболических осложнений у женщин на фоне гормональной терапии.

7. Выявлена зависимость эффекта типа антикоагулянта на снижение скорости роста сгустка. Наименее выраженный эффект обнаружен для пероральных антикоагулянтов, сильный эффект – для низкомолекулярных гепаринов и максимальный эффект – для нефракционированного гепарина и фондапаринукса. Показана чувствительность теста тромбодинамики к дозе антикоагулянта и времени введения. Антиагрегантная терапия также обладает слабым опосредованным эффектом, снижая скорость роста сгустка и его спонтанного образования.

8. Определено пороговое значение скорости роста сгустка в тесте тромбодинамики равное 37,1 мкм/мин, превышение которого увеличивает риск тромботических осложнений у пациентов не получающих антитромботическую терапию, принимающих профилактическую дозу низкомолекулярных гепаринов, терапию пероральными антикоагулянтами, антиагрегантами и глюкокортикостероидами. В случае применения лечебных доз низкомолекулярных гепаринов установлено пороговое значение данного параметра для увеличения риска тромбоза – 21 мкм/мин.

9. Основными принципами применения теста тромбодинамики в клинической практике являются учет всех факторов преаналитического этапа влияющих на результаты исследования, обеспечение аналитической надежности теста и контроля качества исследований. Критериями для назначения теста тромбодинамики и оценки результата служат необходимость прогноза тромботических осложнений даже на фоне антитромботической терапии на основе установленных пороговых значений для скорости роста сгустка, возможность подбора доз и оценки эффективности проводимой терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

На основании полученных результатов сформированы практические рекомендации предназначенные специалистам клинической лабораторной диагностики и врачам различных клинических специальностей, чья профессиональная деятельность связана с необходимостью оценки состояния плазменного гемостаза и назначения антитромботической терапии.

Заведующим клинико-диагностических лабораторий, врачам клинической лабораторной диагностики, биологам клинико-диагностических лабораторий и научным сотрудникам:

- при внедрении в практику работы клинико-диагностической лаборатории или для научно-исследовательских целей теста тромбодинамики рекомендуется проведение оценки факторов преаналитического этапа исследований характерных для данного медицинского учреждения, проведение процедуры верификации метода с определением аналитических параметров приемлемости результатов теста для решения клинических задач, выполнение процедур внутреннего контроля качества исследований в соответствии с методическими рекомендациями «Исследование тромбодинамики в венозной крови – интегральный метод оценки состояния системы гемостаза: основы обеспечения контроля качества и применение в клинической практике: методические рекомендации», разработанными в рамках выполнения диссертационного исследования.

- транспортировка пробирок с образцами цельной крови для исследования теста тромбодинамики может осуществляться только в пределах одного ЛПУ, с использованием специализированных контейнеров с доставкой медицинским

персоналом в лабораторию из процедурных кабинетов отделений, позволяющих минимизировать встряхивание

- использование замороженной плазмы для исследования методом тромбодинамики в реальной клинической практике не допускается.

Врачам клинических специальностей рекомендуется:

- назначение определения параметров теста тромбодинамики пациентам с факторами риска тромботических осложнений в сложных клинических случаях при необходимости расширенной оценки состояния системы плазменного гемостаза;

- применение теста тромбодинамики в процессе титрования доз антитромботических препаратов для оптимизации контроля «эффективность-безопасность» в сложных клинических случаях;

- значение скорости роста сгустка в тесте тромбодинамики более 37,1 мкм/мин у пациентов в отсутствие антитромботической терапии, у пациентов с профилактической дозой низкомолекулярных гепаринов и пациентов, принимающих пероральные антикоагулянты, антиагреганты и глюкокортикостероиды рассматривать как фактор риска развития тромботических осложнений;

- интерпретировать значение скорости роста сгустка в тесте тромбодинамики более 21,0 мкм/мин у пациентов, получающих лечебную дозу низкомолекулярных гепаринов, как показатель недостаточной эффективности антикоагулянтной терапии.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Полученные результаты диссертационного исследования свидетельствуют в пользу необходимости и перспективности дальнейшего изучения оценки системы гемостаза с помощью интегрального метода тромбодинамики для определения прогностического значения основного параметра теста скорости роста сгустка в плане развития тромботических событий.

Наиболее важным является дальнейшее внедрение стандартизации метода в практике клиничко-диагностических лабораторий, унификация протоколов исследования и проведение межлабораторного контроля качества.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых

Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования основных результатов диссертационных исследований по специальности 3.3.8.Клиническая лабораторная диагностика (биологические науки)

1. Зыбина Н.Н. / Интегральная оценка состояний системы плазменного гемостаза у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС с болезнями системы кровообращения. / Зыбина Н.Н., Тихомирова О.В., Старцева О.Н., Вавилова Т.В. // Мед.-биол. и соц.-психол.пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2017.№4.С.57-65

2. Егорова М.О. / Скрининговый тест выявления тромбоза глубоких вен и тромбоемболии легочной артерии. / Егорова М.О., Старцева О.Н, Власенко Е.Ю // Тромбоз, гемостаз и реология. 2018, 3: С. 72-77

3. Тихомирова О.В. / Роль инсомнии в развитии немых инфарктов мозга / Тихомирова О.В., Кожевникова В.В., Зыбина Н.Н., Старцева О.Н., Бобко О.В. //

Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2018. – Т. 118, № 9, вып. 2 – С. 73-79

4. Корнев В.И. / Показатели системы фибринолиза при аортокоронарном шунтировании в условиях искусственного кровообращения минимизированным контуром. / Корнев В.И., Калинина Н.М., Шелухин Д.А., Старцева О.Н. // Медицинский алфавит. 2019. С.58-62

5. Тихомирова О.В. / Роль сменного характера труда и психосоциального стресса в развитии нарушений гемостаза у сотрудников МЧС России / Тихомирова О.В., Кожевникова В.В., Ломова И.П., Зыбина Н.Н., Старцева О.Н. // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях», 2019. №2. С.99-104.

6. Корнев В.И. / Плазменный гемостаз при использовании миниинвазивного искусственного кровообращения. / Корнев В.И., Калинина Н.М., Старцева О.Н. // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2020.62 (1) С.43-50.

7. Корнев В.И. / Влияние мини-инвазивного искусственного кровообращения на показатели эндотелиальной дисфункции у кардиохирургических больных. / Корнев В.И., Калинина Н.М., Старцева О.Н. // Казанский медицинский журнал. 2020; 101(2):279-283

8. Хуторов Д.Н. / Маркеры нарушения плазменного гемостаза в оценке риска церебральной микроангиопатии. / Хуторов Д.Н., Старцева О.Н., Тихомирова О.В., Зыбина Н.Н. // Тромбоз, гемостаз и реология. 2022. №4. С.54-63.

9. Старцева О.Н. / Лабораторная оценка эффекта антикоагулянтной терапии: сравнительная характеристика теста тромбодинамика и определения анти-Ха активности. / Старцева О.Н., Вавилова Т.В., Корнев В.И., Зыбина Н.Н. // Профилактическая и клиническая медицина. 2023. №2 (87) С.97-102.

10. Старцева О.Н. / Лабораторная оценка влияния гормональных препаратов на систему плазменного гемостаза у женщин репродуктивного возраста. / Старцева О.Н., Жарова Е.Я., Зыбина Н.Н., Вавилова Т.В. // Альманах клинической медицины. 2023: Т.51. №6.-С.333-343. DOI:10.18786/2072-0505-2023-51-036.

11. Старцева О.Н. / Прогностическая способность теста тромбодинамики в оценке риска развития тромботических и геморрагических событий. / Старцева О.Н., Зыбина Н.Н., Карамзин С.С. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2026;29(2):57-64

Статьи в научных журналах и изданиях, входящих в перечень рецензируемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ, а также международных базах данных для опубликования основных результатов диссертационных исследований по другим специальностям

12. Корнев В.И. / Плазменный гемостаз при использовании миниинвазивного искусственного кровообращения. / Корнев В.И., Калинина Н.М., Старцева О.Н. // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. 2020;62(1):С.43-50.

13. Салухов В.В. / Сравнение теста тромбодинамика с определением анти-Ха активности в оценке эффективности антикоагулянтной терапии у раненых, страдающих тромбозами глубоких вен нижних конечностей. / Салухов В.В., Крюков Е.В., Варавин Н.А., Старцева О.Н. // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2024.Т.26. №1. С.79-86

Методические рекомендации, учебно-методические пособия

14. Тихомирова О.В. / Профилактика гиперкоагуляционных нарушений и цереброваскулярных заболеваний у сотрудников МЧС со сменным характером

труда. Методические рекомендации. / Тихомирова О.В., Зыбина Н.Н., Ломова И.П., Кожевникова В.В., Старцева О.Н., Фролова М.Ю. // Методические рекомендации. – СПб: ВЦЭРМ им.А.М.Никифорова МЧС России. 2019.32 с. Под ред. С.С. Алексанина

15. Тихомирова О.В. / Диагностика и профилактика гиперкоагуляционных нарушений у сотрудников МЧС России с болезнями системы кровообращения. / Тихомирова О.В., Зыбина Н.Н., Ломова И.П., Кожевникова В.В., Старцева О.Н., Санников М.В., Левашкина И.М., Серебрякова С.В., Хуторов Д.Н. // учебно-методическое пособие / Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России. СПб.: ООО «НПО ПБ АС», 2020. 50с. Под ред. С.С. Алексанина

16. Тихомирова О.В. / Диагностика и коррекция нарушений гемостаза у сотрудников МЧС России с цереброваскулярными заболеваниями. / Тихомирова О.В., Зыбина Н.Н., Ломова И.П., Кожевникова В.В., Старцева О.Н., Левашкина И.М., Хуторов Д.Н. // Методические рекомендации. – СПб: ВЦЭРМ им.А.М.Никифорова МЧС России. 2020. 40 с. Под ред. С.С. Алексанина

17. Старцева О.Н. / Исследование тромбодинамики в венозной крови – интегральный метод оценки состояния системы гемостаза: основы обеспечения контроля качества и применение в клинической практике. / Старцева О.Н., Зыбина Н.Н., Вавилова Т.В. // Методические рекомендации. Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А. М. Никифорова МЧС России. – СПб.:2025. – 50 с.

18. Свидетельство о регистрации базы данных № 2025621571 «Мониторинг анти тромботической терапии интегральным методом тромбодинамика у пациентов кардиологического, неврологического, гинекологического, хирургического, травматологического и онкологического профиля» от 07.04.2025

Научные издания, статьи, тезисы докладов и статей

19. Старцева О.Н. / Интегральная оценка состояния системы гемостаза у пациентов с заболеваниями системы кровообращения / Старцева О.Н., Фролова М.Ю., Зыбина Н.Н.// Журнал Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. Т. 60, № 9. – С. 130.

20. Старцева О.Н. / Интегральная оценка состояния системы гемостаза у пациентов с цереброваскулярными заболеваниями / Старцева О.Н., Фролова М.Ю., Вавилова Т.В., Тихомирова О.В. // Клиническая лабораторная диагностика. 2016;61(9)

21. Тихомирова О.В. / Нарушение гемостаза при субклиническом атеросклерозе сонных артерий / Тихомирова О.В., Киндяшова В.В., Зыбина Н.Н., Старцева О.Н. // С.43-47 2016. 2-е заседание национального общества нейросонологии и церебральной гемодинамики

22. Корнев В.И. / Интегральный тест оценки гемостаза при искусственном кровообращении у кардиохирургических больных. / Корнев В.И., Шелухин Д.А., Старцева О.Н., Калинина Н.М. // Материалы конференции «Многопрофильная клиника XXI века. Инновации в медицине». 2017.С.177.

23. Ломова И.П. / Эндотелиальная дисфункция как основное звено развития дисциркуляторных нарушений у работников с высоким уровнем профессионального стресса. / Ломова И.П., Киндяшова В.В., Кожевникова В.В.,

Зыбина Н.Н., Старцева О.Н., Тихомирова О.В. // В книге: XXI ДАВИДЕНКОВСКИЕ ЧТЕНИЯ. Сборник тезисов. 2019. С. 175-176.

24. Тихомирова О.В. / Цереброваскулярные заболевания у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции: патогенетические механизмы. Диагностика и лечение Комплексная медицинская помощь участникам ликвидации последствий аварии на Чернобыльской атомной электростанции. 35 лет радиационной катастрофе. / Тихомирова О.В., Кожевникова В.В., Левашкина И.М., Серебрякова С.В., Ломова И.П., Зыбина Н.Н., Старцева О.Н. // Монография / под. ред. чл.-кор. РАН С.С. Алексанина. – СПб.: ИГЦ «Измайловский», 2021. – С. 70-87.

25. Старцева О.Н. / Сравнительный анализ эффективности антикоагулянтной терапии у пациентов многопрофильной клиники. / Старцева О.Н., Корнев В.И., Андрейчук К.А. // XI Международная научная конференция многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт. 2022. С.169-170.

26. D.Khutorov. / «Evaluation of the fibrinolysis system in patients with cerebral small vessel disease», e-presentation, EAN Cjngress». / D.Khutorov, O.Startseva, I.Levashkina, O.Tikhomirova, N.Zybina // Вена, Австрия, 2022.

27. Хуторов Д.Н. / Нарушение плазменного гемостаза у пациентов с церебральной микроангиопатией в тесте тромбодинамики. / Хуторов Д.Н., Старцева О.Н., Тихомирова О.В., Зыбина Н.Н. // Материалы Российского форума по тромбозу гемостазу совместно с 11-ой конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии. 2022.

28. Салухов В.В. / Сопоставление параметра скорости роста сгустка теста тромбодинамика с показателем анти-Ха активности у раненых, получающих антикоагулянтную терапию. / Салухов В.В., Варавин Н.А., Старцева О.Н., Вуймо Т.А., Красовская А.С. // Материалы Всероссийского терапевтического конгресса с международным участием Боткинские чтения под редакцией академика РАН Мазурова В.И., доцента Трофимова Е.А. 2023. С.240-241.

29. Старцева О.Н. / Анализ параметров системы гемостаза у пациентов с острым коронарным синдромом после чрескожного коронарного вмешательства. / Старцева О.Н., Куликова Е.А., Фролова М.Ю. // XII Международная научная конференция многопрофильная клиника XXI века. Инновации и передовой опыт. 2023. С.210-212.

30. Старцева О.Н. / Гормональная терапия у женщин, тромбоэмболические осложнения и лабораторная характеристика системы гемостаза для персонализированных решений. / Старцева О.Н., Вавилова Т.В., Зыбина Н.Н. // Российский журнал персонализированной медицины. 2023;3(4):52-58. DOI:10.18705/2782-3806-2023-3-4-52-58.

31. Старцева О.Н. / Обеспечение качества выполнения теста тромбодинамика: влияние факторов преаналитического этапа. / Старцева О.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69(6):23-29.

32. Старцева О.Н. / Контроль качества лабораторных параметров теста тромбодинамики в реальной клинической практике: поперечное исследование. / Старцева О.Н. // Клиническая лабораторная диагностика. 2024; 69(7):56-59.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК	антикоагулянты
ААТ	антиагрегантная терапия
АВК	антагонисты витамина К
АКТ	антикоагулянтная терапия
АТТ	антитромботическая терапия
АЧТВ	активированное частичное тромбопластиновое время
ВТЭО	венозные тромбоэмболические осложнения
ВЦЭРМ	Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова МЧС России
ДААТ	двойная антиагрегантная терапия
ГТ	гормональная терапия
ГБУ	Государственное бюджетное учреждение
ГБУЗ	Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
ЖКК	желудочно-кишечное кровотечение
МРТ	магнитно-резонансная томография
НМГ	низкомолекулярные гепарины
НФГ	нефракционированный гепарин
ПОАК	пероральные антикоагулянты
РЗ	референтное значение
РИ	референтный интервал
РД	рекомендованный диапазон
СОП	стандартная операционная процедура
СТП	свободная от тромбоцитов плазма
ТГВ	тромбоз глубоких вен
ТПВ	тромбоз поверхностных вен
ТД	тромбодинамика
ТФ	тканевой фактор
ТЭЛА	тромбоэмболия легочной артерии