

**ЮДИНА
Виктория Алексеевна**

**МАРКЕРЫ АКТИВАЦИИ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ
У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ
ЧРЕСКОЖНЫХ КОРОНАРНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВ**

14.03.10 – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург - 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Вавилова Татьяна Владимировна - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Гильманов Александр Жанович - доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра лабораторной диагностики института ДПО, заведующий;

Ройтман Евгений Витальевич - доктор биологических наук, ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра онкологии, гематологии и лучевой терапии, профессор.

Ведущая организация:

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита состоится « 4 » июня 2019 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 205.001.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М.Никифорова» МЧС России по адресу: 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 4/2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М.Никифорова» МЧС России по адресу: 197374, Санкт-Петербург, ул. Оптиков д. 54 и на сайте <https://nrcserm.ru>.

Автореферат разослан “ _____ ” _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат медицинских наук

Санников Максим Валерьевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Одной из основных задач клинической лабораторной диагностики является характеристика тяжести патологических состояний, прогноза и контроля за лечением и его результатами. Чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) со стентированием, выполняющееся как при остром коронарном синдроме, так и при стабильной ишемической болезни сердца (ИБС), является одним из распространенных методов оперативной кардиологии. Однако в послеоперационном периоде у таких пациентов сохраняется риск развития осложнений, связанных с прогрессированием атеросклероза, или рестеноз стента. Причиной возникновения осложнений могут быть гиперплазия неоинтимы и тромбозы (Valji K., 2012, Teirstein P., 2016). С целью их профилактики используются различные лекарственные покрытия стентов и активная фармакологическая защита, основу которой составляют антиагреганты. Несмотря на комплекс профилактических мер, острые коронарные события развиваются в послеоперационном периоде с частотой от 0,5 до 11 % и зависят от конкретной клинической ситуации, квалификации рентгеноэндоваскулярных специалистов и используемых материалов (Алекян Б.Г., 2017, D'Ascenzo F., 2013, van Werkum J., 2009).

Тромбообразование в коронарном русле зависит, в основном, от тромбоцитарной активности. Однако, существуют доказательства активации плазменного гемостаза при атеросклерозе, в т.ч. ИБС (Напалкова О.С., 2016). Основным энзимом плазменного гемостаза является тромбин, который участвует также в пролиферации и миграции моноцитов в очаг атеросклеротического повреждения, где они продуцируют провоспалительные цитокины. При воздействии тромбина на эндотелиоциты происходит дополнительное высвобождение фактора фон Виллебранда, фактора VIII и тканевого активатора плазминогена, а при стимуляции им пролиферации гладкомышечных клеток экспрессируются рецепторы PAR-1 и PAR-2 (proteinase-activated receptor, англ), продуцируются внеклеточные матричные белки, факторы роста и тканевой

фактор. Также тромбин активирует тромбоциты, поэтому тромбинемия может ассоциироваться с развитием осложнения тромботического характера в коронарном русле и прогрессированием атеросклероза (Borisssoff, J.I., 2011)..

В связи с этим, измерение уровня тромбина как маркера активации свертывающей системы крови является важной лабораторной диагностической задачей у больных, перенесших вмешательства на коронарных артериях. Скрининговые тесты коагуляции (активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), уровень протромбина по Квику, тромбиновое время, фибриноген), отражая только 5% генерации тромбина, не решают полностью эту задачу, поскольку могут оставаться неизменными даже при развитии тромбоза [9]. Имеются данные о «протромботическом профиле» - дисбалансе факторов коагуляции и уровня ингибиторов в пределах референтного диапазона, который может потенциально способствовать формированию прокоагулянтного фенотипа (Brummel-Ziedins K., 2008). Многообразие гемостатических реакций в комплексном взаимодействии про- и антикоагулянтных факторов отражают интегральные тесты, одним из которых является тест генерации тромбина (ТГТ), разработанный Н.С.Нemker в 2003г. Он отражает количество генерируемого тромбина, кинетику его образования и служит финальной характеристикой соотношения прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов (Castoldi E., 2010).. Модификация теста с добавлением в реагентную смесь тромбомодулина (ТМ) дает возможность изучить антикоагулянтную активность системы протеина С.

Несмотря на пристальный интерес к изучению этой проблемы (Orbe J., 2008, Borisssoff J.I., 2008, Carcaillon L., 2011, Smid M., 2013, Kuliczkowski W., 2014, Loeffen R., 2015), до настоящего времени не определен набор лабораторных тестов, имеющих наибольшую информативность для оценки состояния системы гемостаза у группы больных стабильной формой ИБС, перенесших стентирование коронарных артерий, не изучено их прогностическое значение, не исследовано диагностическое значение параметров ТГТ, а также отсутствуют алгоритмы выполнения этих исследований в динамическом наблюдении.

Степень разработанности темы

Многочисленными работами доказана ведущая роль тромбоцитов в развитии коронарных событий (Franchi F., 2015, Ping Jiang et al., 2017), однако в последнее время все больше внимания уделяется маркерам активации плазменного гемостаза, в качестве которых рассматриваются фибриноген, D-димер, антиген фактора Виллебранда, активность фактора VIII, фрагменты 1+2 протромбина, тромбин-антитромбиновый комплекс (Ulrich-Möckel N., 2009, Noubouossie D., 2010, Borissoff J., 2010, Alonso A., 2012, Tosi F. et al, 2017).

Прогностическое значение D-димера изучено в популяционном исследовании MOLI-SANI: повышенный уровень D-димера был ассоциирован с риском смерти (Castelnuovo A. et al, 2013).. В исследованиях Reddel C.J. et al, 2013 и Tosi F. et al, 2017 у пациентов со стабильным течением ИБС определяется более высокий уровень D-димера и генерации тромбина по сравнению со здоровыми лицами. Антиген фактора Виллебранда и активность фактора VIII отражают состояние эндотелия, активность воспалительного процесса, тесно связанного с гемостатическими реакциями (Белявская О.О. и др., 2014). Однако, однофакторные анализы дают ограниченное представление о сложных реакциях коагуляции, в котором несколько разных молекул могут играть разнонаправленную роль.

Применение ТГТ позволило выявить связи между повышенным уровнем образования тромбина и вариантами течения ИБС – острым инфарктом миокарда (Carcaillon L. Et al, 2011), стабильным течением и рецидивами коронарных событий (Smid M. et al, 2013), обнаружить корреляцию между пиком генерации тромбина и уровнем фибриногена у пациентов со стабильной ИБС без ОИМ в анамнезе [126], а также обнаружить зависимость между уровнем эндогенного тромбинового потенциала и распространенностью атеросклеротических поражений (Orbe J.et al., 2008). Ингибирующий эффект тромбомодулина, свидетельствующий о резистентности к активированному протеину С (APC – activated protein C, англ.), у пациентов с историей острого коронарного синдрома и без нее существенно не различается (Carcaillon L. et al, 2011). В то же время в

исследовании GUSTO наблюдалась U-образная ассоциация между маркером активации тромбина F1 + 2 и первичным или вновь возникшим инфарктом (Ardissino D., et al., 2003). В 2012 году Borissoff et al. обнаружили сходные корреляционные связи между уровнем эндогенного тромбинового потенциала (ETP - endogenous thrombin potential, англ.) и степенью стеноза коронарных артерий, а позднее исследователи выявили значительное увеличение уровня генерации тромбина при снижении чувствительности к активированному протеину С у пациентов после стентирования коронарных артерий с подтвержденным тромбозом стента по сравнению с группой пациентов без осложнений (Loeffen R., 2015). Таким образом, имеющиеся литературные данные о значимости ТГТ и его модификации с добавлением ТМ у больных с хронической ИБС противоречивы, возможное прогностическое значение в развитии осложнений после ЧКВ не изучены.

Прогностические модели с включением теста генерации тромбина (ТГТ) как интегральной характеристики коагуляционного потенциала у больных ИБС после ЧКВ не разрабатывались.

Цель исследования - оценить динамику изменения маркеров активации свертывающей системы у больных стабильной формой ишемической болезни сердца, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству со стентированием для построения лабораторной модели прогноза течения послеоперационного периода в первые 12 месяцев.

Задачи исследования:

1. Изучить динамику изменения скрининговых коагуляционных тестов, маркеров активации плазменного гемостаза и тромбоцитарной функции у больных со стабильной формой ишемической болезни сердца, перенесших стентирование коронарных артерий.

2. Определить группу лабораторных показателей плазменного, тромбоцитарного гемостаза и параметров теста генерации тромбина, динамика изменений которых коррелирует с характером течения послеоперационного периода у больных этой группы.

3. Построить лабораторную модель прогноза развития неблагоприятных коронарных событий в послеоперационном периоде (рестеноз/тромбоз стента, прогрессирование атеросклероза) на основании количественных изменений показателей теста генерации тромбина у больных со стабильной ишемической болезнью сердца после стентирования коронарных артерий.

4. Создать алгоритм лабораторной оценки системы гемостаза пациентов в течение 1 года после чрескожного коронарного вмешательства для определения риска возникновения неблагоприятных исходов.

Положения, выносимые на защиту

1. Показатели скрининговой коагулограммы, маркеров активации плазменного гемостаза и тромбоцитарной функции не могут быть использованы для построения лабораторной модели прогноза течения послеоперационного периода у больных со стабильной ишемической болезнью сердца.

2. Эндогенный тромбиновый потенциал в стандартной модификации теста генерации тромбина и в модификации с добавлением тромбомодулина закономерно коррелируют с характером течения послеоперационного периода у больных со стабильной ишемической болезнью сердца, перенесших стентирование коронарных артерий.

3. Основой лабораторной модели прогноза течения послеоперационного периода является эндогенный тромбиновый потенциал, измеренный в двух модификациях теста генерации тромбина на 3 сутки и через 3 месяца после операции у пациентов после плановой реваскуляризации, который включается в алгоритм лабораторной оценки состояния системы гемостаза для прогнозирования неблагоприятных исходов в первые 12 месяцев после вмешательства.

Научная новизна

Впервые изучена динамика изменения скрининговых коагуляционных тестов, маркеров активации плазменного гемостаза, тромбоцитарной функции у больных со стабильной ИБС течение года после стентирования коронарных

артерий. Выявлено отсутствие значимых корреляций этих показателей с вариантом течения послеоперационного периода.

Впервые показано, что с 3 по 12 месяц после стентирования уровень генерации тромбина сохраняется повышенным при развитии осложнений стенотического характера, а при благоприятном течении послеоперационного периода - снижается практически до уровня здоровых лиц.

Впервые по результатам ТГТ с тромбомодулином показано более выраженное снижение антикоагулянтной активности системы протеина С в раннем послеоперационном периоде после ЧКВ у пациентов, имеющих осложнения стенотического характера.

Показано, что устранение локальной ишемии не приводит к нормализации функции системы протеина С, о чем свидетельствуют параметры ТГТ с тромбомодулином.

Впервые созданы прогностические модели на основе теста генерации тромбина как интегральной характеристики коагуляционного потенциала у больных стабильной ИБС после ЧКВ.

Теоретическая и практическая значимость

Впервые изучена динамика изменения параметров теста генерации тромбина в раннем и отдаленном послеоперационном периоде в зависимости от варианта клинического течения, применен метод математического моделирования для их описания.

Подтверждено снижение антикоагулянтной активности системы протеина С по результатам теста генерации тромбина при добавлении тромбомодулина у пациентов со стабильной ИБС, имеющих показания к проведению ЧКВ.

На основании полученных данных разработан алгоритм лабораторной оценки системы гемостаза у больных стабильной ИБС в течение 1 года после стентирования коронарных артерий для определения риска возникновения неблагоприятных исходов.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа основана на проспективном динамическом клиническом наблюдении и лабораторном обследовании в течение 1 года за 75 пациентами со стабильной ИБС, перенесшими стентирование коронарных артерий, а также обследовании 20 человек без клинических проявлений атеросклеротического поражения сосудистого русла. Для достижения поставленной в научной работе цели был проведён анализ зарубежной и отечественной литературы, полученные данные обрабатывались современными методами статистической обработки, для моделирования динамики изменения параметром ТГТ использовался однофакторный регрессионный анализ. Лабораторные исследования проводились на сертифицированном высокотехнологичном оборудовании.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов и их обработки обеспечена проспективностью наблюдения репрезентативной выборки пациентов, адекватным ассортиментом лабораторных исследований, а также использованием современных методов статистической обработки данных и математического моделирования на основании однофакторного регрессионного анализа. Пациенты изучаемых групп и группы контроля были репрезентативны по количеству, а также сопоставимы по полу и возрасту.

Результаты работы были представлены на 1-ом Международном образовательном форуме «Российские Дни Сердца» (Санкт-Петербург, 2013); на XXIII Национальном конгрессе Итальянского общества по изучению гемостаза и тромбозу (SISET XXIII NATIONAL CONGRESS) (Милан, 2014); Российском конгрессе лабораторной медицины (Москва, 2015); XIX Форуме «Национальные дни лабораторной медицины России – 2015» (Москва, 2015); XXI Всероссийской научно-практической конференции «Качество лабораторных исследований – условие безопасности пациентов» (Москва, 2016); XXVI конгрессе международного общества по тромбозу и гемостазу (ISTH, Берлин, 2017), XXIII

Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Традиции и новации клинической лабораторной диагностики» (Москва, 2018).

По теме исследования опубликовано 14 печатных работ, 3 из которых изданы в научно-практических журналах, рекомендуемых Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации. Результаты научной работы внедрены в процесс обучения клинических ординаторов и слушателей дополнительного профессионального образования по теме «Клинические и лабораторные проблемы патологии гемостаза» кафедры лабораторной медицины и генетики ФГБУ «НМИЦ имени В.А. Алмазова». Предлагаемый автором алгоритм лабораторной оценки состояния системы гемостаза у пациентов со стабильной формой ИБС, перенесших ЧКВ, используется в лечебно-диагностическом процессе СПбГУЗ «Городской консультативно-диагностический центр №1».

Личный вклад автора

Автор лично участвовала в планировании и организации научной работы, дизайне проекта исследования. Лично выполняла исследования теста генерации тромбина, клинический анализ крови и коагулологические исследования, в том числе определение функциональной активности тромбоцитов методом индуцированной агрегации у всех обследованных лиц. Все представленные в диссертационном исследовании материалы получены, обобщены, статистически обработаны и проанализированы автором лично.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 103 страницах машинописного текста, содержит 15 таблиц, иллюстрирована 8 рисунками и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов и списка литературы (включает 16 отечественных и 170 зарубежных источников).

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

На базе ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» было обследовано 75 пациентов (60 мужчин, 15 женщин) в возрасте $58,3 \pm 8,0$ лет с диагнозом СИБС, стенокардия II-III функционального класса, перенесших ЧКВ со стентированием коронарных артерий. По итогам наблюдения в течение 12 месяцев после проведенного хирургического лечения больные были разделены на 2 группы: группа 1 – с благоприятным течением послеоперационного периода, не имеющие осложнений стенотического и тромботического характера в коронарном русле по данным инструментального (стресс-эхо-коронарографии) исследования (60 пациентов), и группа 2 – пациенты, имеющие инструментально подтвержденные коронарные события указанного характера любой локализации – (15 человек).

В группу сравнения вошли 20 практически здоровых лиц без клинических проявлений ИБС и изменений лабораторных показателей системы гемостаза в возрасте $53,6 \pm 6,0$ лет (Таблица 1).

Таблица 1 - Характеристика пациентов стабильной ИБС, перенесших ЧКВ и группы сравнения, $M \pm SD$

Факторы риска	Группа сравнения (n=20)	Группа 1 (n=60)	Группа 2 (n=15)
Возраст, лет	$53,6 \pm 6,0$	$57,7 \pm 6,9$	$61,5 \pm 9,1$
Нарушения углеводного обмена % (n)	0,0 (0)	27,3 (15)**	28,5 (4)**
Индекс массы тела, $кг/м^2$	-	$29,7 \pm 4,2$	$29,4 \pm 3,8$
Пол Ж/М, n	5/15	12/48	3/12
Артериальная гипертензия, % (n)	-	80 (44)**	85 (12)**
Курение, % (n)	10 (2)	56,4 (31)**	71,4 (10)**
Распространенность атеросклероза			
СИБС/СИБС+ЦВЗ/СИБС+ЦВЗ+ОАНК	-	23/31/6	2/12/1
однососудистое/многососудистое	-	27/33	6/9
Установлено стентов: 1 / 2 и более	-	27/33	6/9
Установлены стенты: без АП/с АП/ разные	-	41/13/6	10/4/1

Примечания: ** – $p < 0,0001$ по сравнению с аналогичным показателем в группе сравнения; СИБС – стабильная ишемическая болезнь сердца, ЦВЗ – цереброваскулярные заболевания, ОАНК – облитерирующий атеросклероз нижних конечностей, АП – антипролиферативное покрытие стента

Пациенты СИБС находились на терапии бета-блокаторами и/или антагонистами кальциевых каналов, антиагрегантной терапии (аспирин и/или

клопидогрел), гиполипидемическими средствами (статины). Перед стентированием все больные получали антиагрегантную терапию в стандартных дозировках. За сутки до операции назначались нагрузочные дозы препаратов. После ЧКВ все пациенты получали двойную антиагрегантную терапию, для оценки ее эффективности исследовалась агрегация тромбоцитов в цельной крови.

По результатам хирургического вмешательства (количество и покрытие установленных стентов) обе группы сходны.

Наблюдение осуществлялось в течение 12 месяцев после проведенного ЧКВ. Инструментально подтвержденные (КАГ) коронарные события стенотического характера развились в 20% случаев (группа 2): 7 человек - рестенозы установленных во время ЧКВ стентов, 8 - стенозы иных коронарных сосудов (локализованные вне области стентов). Прогрессирование АС проявлений во всех случаях требовало хирургических вмешательств.

Отсутствие неблагоприятных коронарных событий диагностировалось на основании клинических (отсутствия жалоб со стороны сердечно-сосудистой системы и врачебного осмотра пациента с измерением АД в течение всего периода наблюдения) и инструментальных данных (стресс-эхо КГ) по истечении 12 месяцев после перенесенного вмешательства (группа 1).

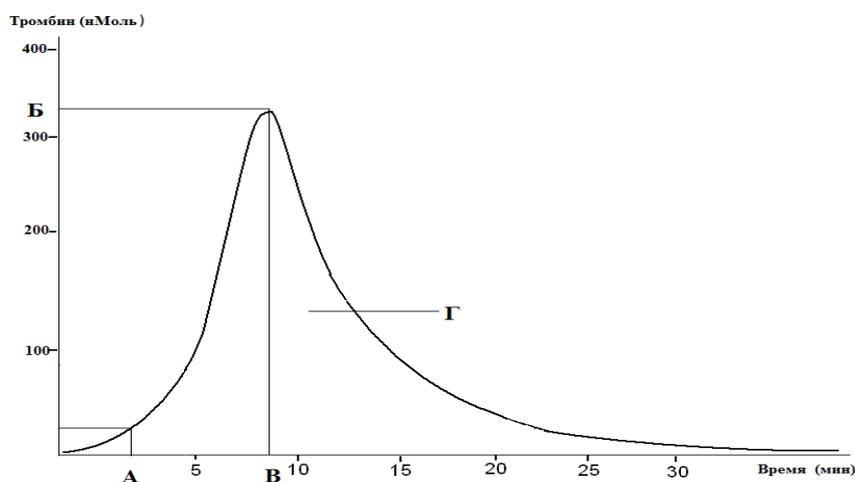
Выполнение исследований проводили перед стентированием и на 3, 7 сутки и через 3, 6 и 12 месяцев после оперативного вмешательства (у пациентов группы сравнения – однократно).

Лабораторное обследование включало: определение протромбина по Квику, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), концентрации фибриногена и уровня D-димера, активности антитромбина, фактора VIII, антигена фактора Виллебранда, определение количества тромбоцитов, их среднего объема и степени анизоцитоза.

Проведение теста генерации тромбина выполнялось в бедной тромбоцитами плазме. Помимо стандартного ТГТ, определяющего концентрацию тромбина в плазме, исследовали генерацию тромбина при добавлении тромбомодулина (ТМ). Эквивалентный (1:1) комплекс тромбин-тромбомодулин активирует

антикоагулянтную систему протеина С. Метод позволяет выявить резистентность к активированному протеину С.

В обеих модификациях оценивали следующие показатели ТГТ (Рис. 1).



- А – время инициации свертывания, мин (Lag time/LT);
- Б – пиковая концентрация тромбина, нМоль (Peak thrombin/Peak);
- В – время достижения пиковой концентрации тромбина, мин (Time to peak/ttPeak);
- Г – эндогенный тромбиновый потенциал, нМоль/мин (ETP).

Рисунок 1. – Кривая генерации тромбина и измеряемые параметры

Чувствительность к тромбомодулину определялась следующим образом (Л.П.Папаян, 2016):

$$\text{ETP \%} = 100 * (\text{ETP}_{\text{без ТМ}} - \text{ETP}_{\text{с ТМ}}) / \text{ETP}_{\text{без ТМ}} \quad (1)$$

$$\text{Peak \%} = 100 * (\text{Peak}_{\text{без ТМ}} - \text{Peak}_{\text{с ТМ}}) / \text{Peak}_{\text{без ТМ}} \quad (2)$$

ETP_{без ТМ}, Peak_{без ТМ} – показатели измерены в ТГТ без ТМ

Для статистической оценки результатов работы использовали методы описательной статистики, регрессионного, дисперсионного и корреляционного анализа. Результаты представлены в виде: М – среднее значение показателя, SD – стандартное отклонение среднего значения, D – дисперсия среднего значения. Достоверность различий средних значений количественных показателей определяли с помощью параметрических критериев Стьюдента (Т) и Фишера (F), использовали двухвыборочный t-тест для средних – парный для изучения динамики показателей, с различными дисперсиями - для сравнения групп. Вероятность $p < 0,05$ определялась как достаточная для вывода о наличии различий исследуемых показателей. Для проведения статистических расчетов

использовали пакет прикладных программ SPSS 13.0 for Windows. Для моделирования изменений показателей ТГТ в течении 12 месяцев после стентирования применяли однофакторный регрессионный анализ.

Результаты исследования и их обсуждения

Показатели коагулограммы в динамическом наблюдении в течение 12 месяцев после ЧКВ

Результаты измерений показателей плазменного гемостаза не выходили за пределы референтных диапазонов, однако определялось снижение активности протромбина и удлинение АЧТВ у пациентов стабильной ИБС в обеих изучаемых группах по отношению к группе сравнения. Вероятно, наблюдается реализация действия базисной терапии, приема пациентами нагрузочных доз АСК и клопидогрела перед проведением ЧКВ и проявление антикоагулянтных свойств антиагрегантных препаратов (V.Bratseth, 2012). Одновременно отмеченное повышение уровня фибриногена относительно верхней границы референтного диапазона (2,0 – 4,0 г/л) может быть связано с реализацией одного из патогенетических механизмов атеросклероза - развития воспалительного процесса при ИБС (M.Schuliga, 2015) (Таблица 2).

Таблица 2 - Показатели скрининговой коагулограммы у пациентов СИБС в сравнении с группой здоровых лиц, $M \pm SD$

сутки после ЧКВ	Группа 1 (n=60)			Группа 2 (n=15)		
	Протромбин, %	АЧТВ, сек	фибриноген, г/л	Протромбин, %	АЧТВ, сек	фибриноген, г/л
группа сравн	111,8 ± 13,2	33,5 ± 3,8	3,4 ± 0,5	111,8 ± 13,2	33,5 ± 3,8	3,4 ± 0,5
Пациенты стабильной ИБС						
до ЧКВ	101,1 ± 11,0**	36,5 ± 4,1*	4,22 ± 0,7*	95,7 ± 11,8**	36,9 ± 4,6*	4,1 ± 0,8*
3	96,8 ± 11,2**	35,6 ± 4,5*	4,46 ± 1,1*	94,0 ± 11,3**	37,7 ± 3,9*	4,1 ± 0,7*
7	100,5 ± 7,8**	36,1 ± 3,7*	4,4 ± 0,9*	99,5 ± 14,6**	36,8 ± 4,6	4,2 ± 0,7*
90	103,0 ± 9,5**	34,5 ± 3,9	3,7 ± 0,8*	94,4 ± 6,5**	37,2 ± 5,4	3,8 ± 0,5*
180	102,8 ± 11,1**	33,8 ± 5,2	3,8 ± 0,6*	100,1 ± 7,3**	34,7 ± 5,2	3,9 ± 0,5*
365	100,6 ± 10,6**	33,0 ± 3,6	3,7 ± 0,4*	98,4 ± 13,6**	32,8 ± 3,3	3,5 ± 0,5

* – $p < 0,05$; ** – $p \leq 0,01$ - достоверность различий между исследуемой группой и группой сравнения

В зависимости от течения послеоперационного периода (развитие осложнений тромботического характера и их отсутствие) достоверных различий между исследуемыми группами ни по одному из изученных показателей

скрининговой коагулограммы, маркеров активации свертывающей (фактор Виллебранда, фактор VIII, D-димер) и противосвертывающей (антитромбин) системы обнаружено не было ($p > 0,05$).

Количество тромбоцитов, их объем и степень их анизоцитоза также не демонстрировали различий ни по отношению к донорам, ни в группах между собой, а исследование агрегации тромбоцитов со специфическими активаторами в раннем послеоперационном периоде демонстрировало ожидаемое снижение их реакционной способности вследствие двойной антиагрегантной терапии.

Тест генерации тромбина у больных стабильной ишемической болезнью сердца, имеющих показания к стентированию коронарных артерий

Тест генерации тромбина, отражающий суммарный потенциал системы гемостаза, был применен для интегральной оценки состояния системы гемостаза. Наиболее информативный показатель определялся путем выполнения теста в двух модификациях – классической, отражающей интегральную генерацию тромбина, и с добавлением тромбомодулина – для оценки антикоагулянтной активности системы протеина С (Таблица 3).

Таблица 3 - Средние значения показателей ТГТ в стандартной модификации и с добавлением ТМ у пациентов со стабильной ИБС (n=75), и группы сравнения (n=20), $M \pm SD$

	параметры	ТГТ	ТГТ ТМ	p
группа сравнен	Lag time, min	$2,7 \pm 0,7$	$2,6 \pm 0,3$	0.14
	ETP, nmol/min	$1643,5 \pm 168,6$	$724,2 \pm 228,7$	<0,0001
	Peak, nmol	$259,6 \pm 63,9$	$147,8 \pm 53,5$	<0,0001
	tt Peak	$6,6 \pm 1,9$	$5,3 \pm 0,7$	0,0008
пациенты СИБС	Lag time, min	$3,1 \pm 0,6$	$2,7 \pm 0,5$	<0,0001
	ETP, nmol/min	$1752,8 \pm 384,5$	$992,4 \pm 358,1$	<0,0001
	Peak, nmol	$250,9 \pm 70,3$	$170,7 \pm 71,4$	<0,0001
	tt Peak	$6,9 \pm 1,4$	$5,1 \pm 0,8$	<0,0001

Выявленные достоверные различия между характеристиками теста в двух модификациях отражают физиологическую активность антикоагулянтной системы протеина С. У пациентов СИБС дополнительно отмечается достоверное укорочение Lag Time в исследовании с ТМ, что, возможно, отражает быстрое включение протеина С в работу, но не позволяет снизить скорость образования

тромбина и, соответственно, делает работу противосвертывающих механизмов мало эффективной. Результаты ТГТ в стандартной модификации не показали различий между пациентами СИБС, подготовленных к плановому ЧКВ, от здоровых лиц.

Добавление тромбомодулина в реагентную смесь и включение в реакцию системы протеина С существенно изменило генерацию тромбина и обнаружило различия между изучаемыми группами: выявлено наличие резистентности к активированному протеину С при коронарном атеросклерозе, что может иметь значение в периоперационном периоде и прогнозе осложнения после интракоронарного вмешательства (Напалкова О.С. и др., 2016).

Динамическая оценка изменений параметров ТГТ у больных, перенесших стентирование коронарных артерий

Анализ данных ТГТ в стандартной модификации обнаружил повышение средних значений всех параметров на протяжении всего периода наблюдения в группе пациентов с неблагоприятным течением послеоперационного периода, но только ЕТР имеет статистически значимые различия средних значений ($p < 0,05$) у пациентов двух групп через 3, 6 и 12 месяцев после проведения ЧКВ. Это позволяет принять его в качестве основного для построения системы оценки прогнозирования осложнений стенотического характера в позднем послеоперационном периоде.

При добавления тромбомодулина картина была аналогичной: при добавлении ТМ средние значения параметра ЕТР достоверные различия между группами пациентов наблюдаются только на 3 сутки после ЧКВ. Это отражает значимость участия системы протеина С в раннем послеоперационном периоде для прогноза осложнения после коронарного вмешательства, и показывает целесообразность построения системы прогнозирования уже в ранние сроки после оперативного вмешательства (1-3 день).

На втором этапе исследований использовали математическое моделирование на основе однофакторного регрессионного анализа. Это позволило получить зависимости изменений средних значений параметра ЕТР у

пациентов двух групп от времени наблюдения в течение 12 месяцев после операции. В результате моделирования изменений ЕТР с тромбомодулином в ранние сроки после операции были получены выражения следующего вида:

$$Y_{1tm} = 1163,18 \times t^{-0,037} \quad (3),$$

$$Y_{2tm} = \frac{1}{(0,001 - 0,001/t)} \quad (4),$$

где Y_{1tm} - значение ЕТР с ТМ для группы пациентов 1, нмоль/мин;

Y_{2tm} - значение ЕТР с ТМ для группы пациентов 2, нмоль/мин;

t – время наблюдения, дни

Статистические характеристики демонстрируют достаточную достоверность и информационную способность полученных выражений. Их графическая интерпретация представлена на рисунке 2.

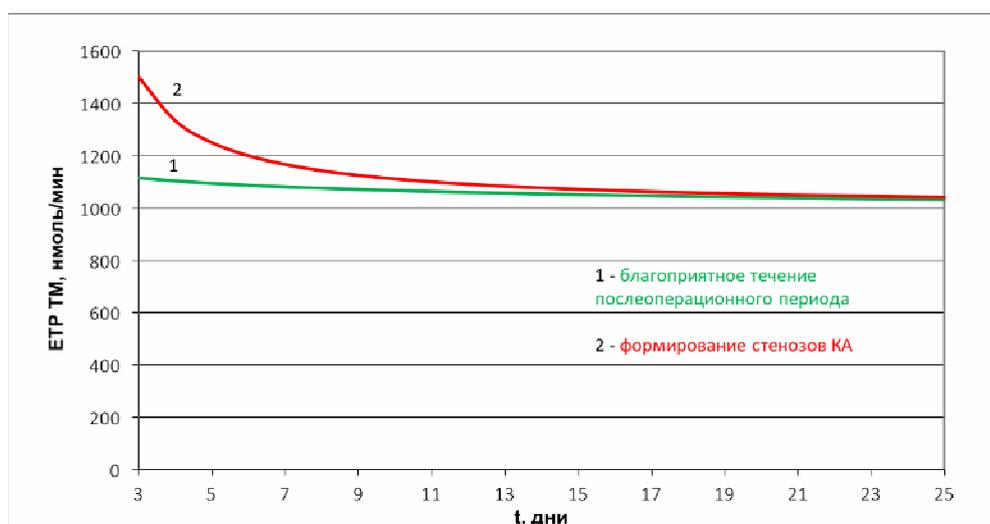


Рисунок 2. - Зависимости изменений параметра ЕТР ТМ от времени, прошедшего после стентирования у пациентов с благоприятным (1) и осложненным (2) течением послеоперационного периода.

На основании вычислений определено, что значения ЕТР ТМ с 95% вероятностью находятся в интервале 1013,19÷1228,59 нмоль/мин у пациентов с благоприятным течением, в интервале 1328,80÷1869,63 нмоль/мин - у пациентов с осложнениями, развивающимися в течении года после стентирования.

В результате моделирования изменений ЕТР без тромбомодулина были получены выражения следующего вида:

$$Y_1 = 1860,68 \times t^{-0,027} \quad (5),$$

$$Y_2 = 1882,74 + \frac{521,46}{t} \quad (6),$$

где Y_1 - значение ЕТР для группы пациентов 1, нмоль/мин; Y_2 - значение ЕТР для группы пациентов 2, нмоль/мин; t – время наблюдения, дни.

Статистические характеристики демонстрируют достаточную достоверность и высокую информационную способность полученных выражений. На основании вычислений установлено, что на 90 - 365 день после ЧКВ с 95% вероятностью значения ЕТР у пациентов группы 1 находятся в интервале $1566,55 \div 1605,62$ нмоль/мин, а у пациентов группы 2 – в интервале $1781,23 \div 1831,28$ нмоль/мин. Графическая интерпретация выражений (5) и (6) представлена на рисунке 3.

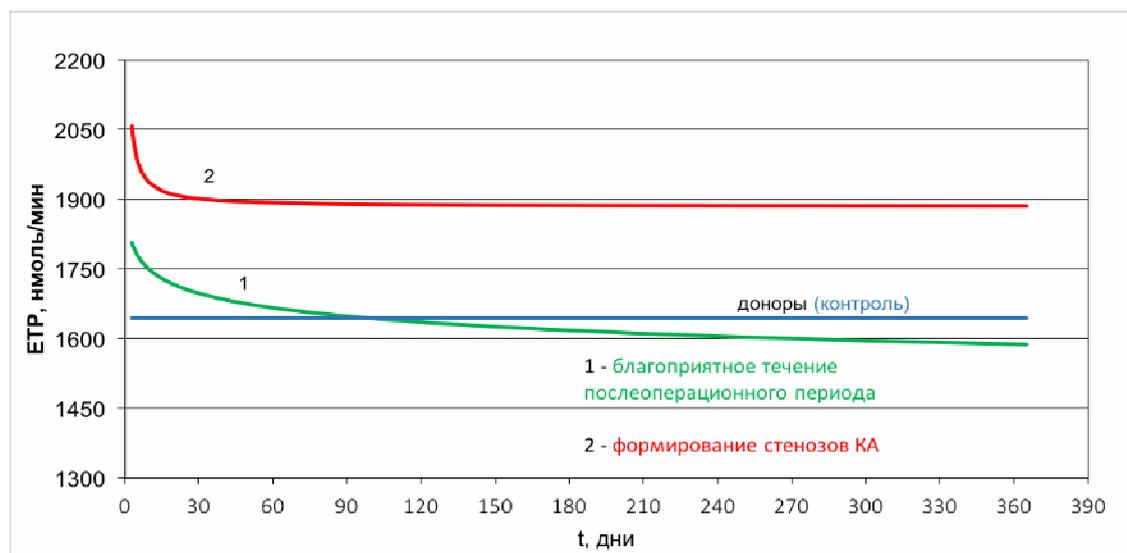


Рисунок 3. - Зависимости изменений параметра ЕТР от времени, прошедшего после стентирования у пациентов с благоприятным (1) и осложненным (2) течением послеоперационного периода по сравнению с группой контроля.

Вероятно, активность течения атеросклеротического повреждения сосудов и выраженность хронического воспалительного процесса у пациентов группы 2 выше, т.к. сохраняется повышенный уровень генерации тромбина в течении всего времени наблюдения. Оперативное устранение локальной ишемии не оказывает значимого влияния на патогенетические механизмы развития атеросклероза, что свидетельствует о необходимости детализации и применения терапевтических средств патогенетической направленности.

У пациентов группы 1 наблюдается заметное снижение уровня генерации тромбина, что позволяет использовать ЕТР как для прогнозирования осложнений тромботического характера, так и для оценки выраженности течения атеросклероза.

На основании полученных интервальные значений ЕТР в раннем и позднем послеоперационном периоде у пациентов, перенесших ЧКВ, целесообразно предложить алгоритм лабораторной оценки состояния системы гемостаза у пациентов со стабильной ИБС в течение 1 года после стентирования коронарных артерий для определения риска возникновения неблагоприятных исходов (рис. 4).

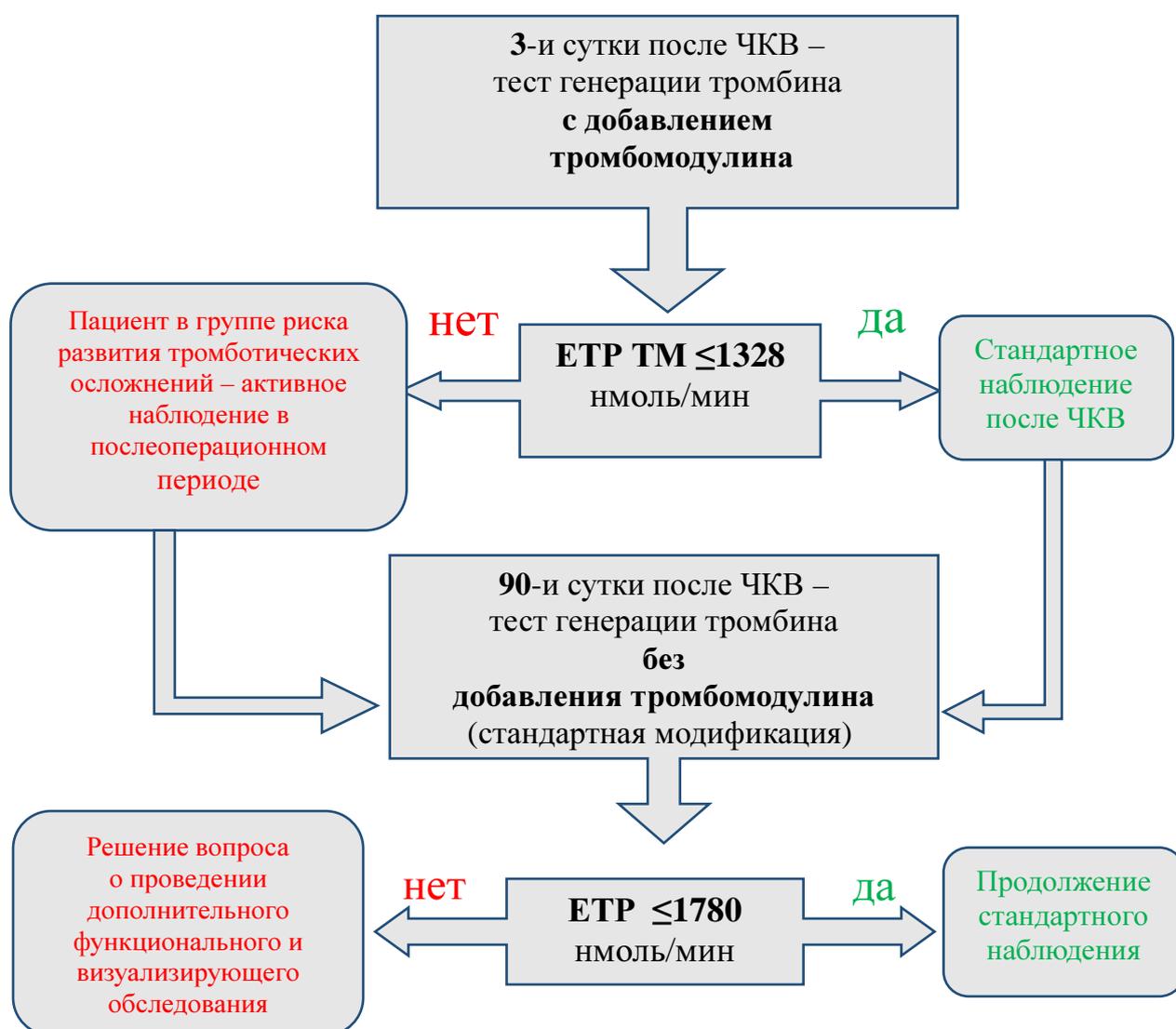


Рисунок 4. – Алгоритм лабораторной оценки системы гемостаза в течение 1 года после ЧКВ со стентированием коронарных артерий у пациентов стабильной ИБС на основании теста генерации тромбина.

ВЫВОДЫ

1. Результаты динамического определения показателей плазменного гемостаза, молекулярных маркеров активации (АЧТВ, протромбина по Квику, фибриногена, D-димера, антитромбина, фактора Виллебранда, фактора VIII) и тромбоцитарной функции показывают сходное изменение их активности у пациентов после реваскуляризации, не выходящее за границы соответствующих референтных интервалов и не зависящее от течения послеоперационного периода и развития осложнений тромботического характера

2. Параметры ТГТ коррелируют с развитием осложнений в послеоперационном периоде у пациентов стабильной ИБС после ЧКВ. Наиболее информативным для решения прогностических задач является эндогенный тромбиновый потенциал.

3. Моделирования направленностей изменений параметра ЕТР с добавлением и без добавления ТМ у пациентов с благоприятным течением послеоперационного периода или имеющих осложнения стенотического и тромботического характера в раннем и позднем послеоперационном периоде описываются однофакторными регрессионными выражениями следующего вида: $Y = b_0 \times t^{b_1}$ (1), $Y = 1/(b_1 - b_2/t)$ (2), $Y = b_0 + b_1/t$ (3), где: Y – значения параметра ЕТР, нмоль/мин; t- время, прошедшее после проведения ЧКВ, дни; b-коэффициенты.

4. Значения ЕТР ТМ в раннем послеоперационном периоде (3 день после ЧКВ) имеют статистически значимые различия, с 95% вероятностью находясь в интервале 1013,19÷1228,59 нмоль/мин у пациентов с благоприятным течением, в интервале 1328,80÷1869,63 нмоль/мин - у пациентов с осложнениями, развивающимися в течении года после стентирования.

5. Значения параметра ЕТР в модификации ТГТ без добавления тромбомодулина в позднем послеоперационном периоде (90 - 365 день после ЧКВ) имеют статистически достоверные различия и являются основой лабораторной оценки выраженности атеросклеротического повреждений коронарных сосудов, а также прогнозирования осложнений стенотического характера. С 95% вероятностью у пациентов с благоприятным течением ЕТР

определяется в интервале $1566,55 \div 1605,62$ нмоль/мин, у пациентов с осложнениями - в интервале $1781,23 \div 1831,28$ нмоль/мин .

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты проведенного исследования позволяют сформулировать практические рекомендации для врачей клинической лабораторной диагностики, кардиохирургов и кардиологов:

1. У больных стабильной ИБС, перенесших ЧКВ со стентированием коронарных артерий, тест генерации тромбина является дополнительным методом оценки состояния системы гемостаза как в раннем послеоперационном периоде, так и в сроки до 1 года послеоперационного периода.

2. Определение в раннем послеоперационном периоде (1-3 день после ЧКВ) уровня эндогенного тромбинового потенциала с тромбомодулином выше 1328 нмоль/мин означает нахождение пациента в группе лабораторного риска развития тромботических осложнений и требует активного наблюдения в послеоперационном периоде и проведения ТГТ без добавления ТМ через 3 и более месяцев после реваскуляризации.

3. Определение уровня ЕТР в модификации ТГТ без добавления ТМ на 90 - 365 день после ЧКВ выше 1780 нмоль/мин является неблагоприятным прогностическим признаком и требует решения вопроса о проведении дополнительного функционального и визуализирующего обследования.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Клиническая валидация представленных моделей в проспективном наблюдении сходной группы пациентов со стабильной ИБС после стентирования коронарных артерий.

Изучение информативности показателей теста генерации тромбина для прогнозирования осложнений в позднем послеоперационном периоде в прицельном исследовании отобранной группы пациентов с прогрессирующим и генерализованным атеросклерозом.

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 диссертации:

1. Юдина В.А. Моделирование прогностических значений параметров теста генерации тромбина у больных, перенесших стентирование коронарных артерий/ В.А. Юдина, О.С. Мельничникова., Е.В. Воробейчиков, М.А. Карпенко, Т.В. Вавилова / Медицинский алфавит. -2018. - №6.– С. 29-33.

2. Напалкова О.С.Тест генерации тромбина в динамике у пациентов, перенесших чрескожное коронарное вмешательство /О.С.Напалкова, В.Л. Эмануэль, М.А.Карпенко, Г.А.Березовская, А.Н.Яковлев, **В.А. Юдина**, Е.Ю Васильева, С.В. Лапин, А.В. Тишков, Н.А. Хышова / Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. –№4. –С.40-42.

3. Напалкова О.С. Тест генерации тромбина в оценке риска повторной операции реваскуляризации миокарда /О.С.Напалкова, В.Л.Эмануэль, М.А.Карпенко,Т.В. Вавилова,Г.А.Березовская, А.Н.Яковлев, **В.А.Юдина**, Е.Ю Васильева, С.В. Лапин, А.В. Тишков /Тромбоз, гемостаз и реология. –2016. –№ 1. –С.65-71.

Другие статьи в рецензируемых научных изданиях:

4. Юдина В.А. Тест генерации тромбина у больных стабильной ишемической болезнью сердца, имеющих показания к стентированию коронарных артерий / В.А. Юдина, О.С. Мельничникова., С.Г. Черных, Е.В. Воробейчиков, М.А. Карпенко, Т.В. Вавилова / Профилактическая и клиническая медицина. - 2017. - №1. - С.55-59.

Статьи, тезисы докладов в материалах конференций и симпозиумов:

5. Напалкова О.С. Тромбин как ключевой фермент гемостаза и его роль в атеросклерозе и воспалении / О.С.Напалкова, В.Л.Эмануэль, М.А.Карпенко, Т.В. Вавилова, Г.А. Березовская, А.Н.Яковлев, **В.А.Юдина**, Е.Ю Васильева, С.В. Лапин /Медицинский алфавит. – 2015. –№11. – С.46–51.

6. Юдина В.А. Измерение генерации тромбина после стентирования коронарных артерий позволяет прогнозировать развитие стенозирующих осложнений / В.А. Юдина, О.С.Мельничникова, Е.В. Воробейчиков, М.А.Карпенко, Т.В. Вавилова // Журнал для врачей. Лаборатория. – 2018. –№1– С.62.

7. Vavilova T. Thrombin generation in patients with coronary complications during the first year after percutaneous intervention / T.Vavilova, **V.Udina**,O.Napalkova, E.Vasilieva, M Karpenko //ISTH 2017. - PB 443.

8. **Юдина В.А.** ТГТ у пациентов со стабильной ИБС, имеющих показания к проведению коронарографии /**В.А. Юдина**, О.С. Напалкова, Е.Ю. Васильева, М.А. Карпенко, Т.В. Вавилова / Tromboz, Gemostaz, Reologia. – 2016. - №3 (67), Suppl 1, p. 472.
9. Напалкова О.С. Тест генерации тромбина в диагностике состояния гиперкоагуляции у пациентов с атеросклерозом /О.С.Напалкова, В.Л.Эмануэль, Т.В. Вавилова, М.А. Карпенко, С.В. Лапин, **В.А.Юдина**/ Журнал для врачей. Лаборатория. – 2016. –№1– С.37.
10. **Юдина В.А.** Эндогенный тромбиновый потенциал после чрескожных коронарных вмешательств /**В.А.Юдина**, О.С. Напалкова, М. А. Карпенко, Е.Ю. Васильева, Г.А.Березовская, А.Н. Яковлев, Т.В. Вавилова / Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. –№9. –С.45-46.
11. Napalkova O.S. Hypercoagulable state associated with percutaneous coronary intervention - thrombin generation testing results /O.S.Napalkova, V.L.Emanuel, M.A.Karpenko, G.A.Berezovskaya, A.N. Yakovlev, **V.A.Yudina**, E.U.Vasileva, S.V.Lapin, T.V.Vavilova / Thrombosis research. –2014.– (S1-S103).
12. Напалкова О.С. Исследования генерации тромбина в клинической практике /О.С.Напалкова, В.Л. Эмануэль, М.А.Карпенко, Г.А.Березовская, А.Н.Яковлев, **В.А.Юдина**, Е.Ю.Васильева, С.В. Лапин, Н.А.Хышова/ Российский кардиологический журнал. – 2014.– №5(109), прилож. 1.
13. Березовская Г.А. Интенсивность генерации тромбина и сократительная способность миокарда после чрескожного коронарного вмешательства/Г.А.Березовская, **В.А.Юдина**, М.А.Карпенко, О.С.Напалкова, Е.Ю.Васильева, Е.С.Клокова Н.В.Цай, П.А.Мочалов, Н.А.Хышова, Л.В. Губадова / Материалы Российского национального конгресса кардиологов «Кардиология: от науки — к практике». – 2013. - С.92-93.
14. Березовская Г.А. Влияние генерации тромбина на сократительную способность миокарда после чрескожного коронарного вмешательства у больных ишемической болезнью сердца./Г.А.Березовская, **В.А.Юдина**, М.А.Карпенко, О.С. Напалкова, Е.Ю.Васильева, Е.С. Клокова, Н.В.Цай, П.А. Мочалов, Н.А. Хышова, Л.В. Губадова / Российский кардиологический журнал. - 2013. - 2 (100), приложение 2. - С.27 (028).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБС – ишемическая болезнь сердца

КА – коронарные артерии

КАГ – коронароангиографическое исследование

ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство

ТГТ – тест генерации тромбина

ТМ – тромбомодулин

ЕТР – эндогенный тромбиновый потенциал

АРС – активированный протеин С

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ПВ – протромбиновое время

ФАТ – функциональная активность тромбоцитов