

ТЕСТ ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА В ОЦЕНКЕ ДЕЙСТВИЯ АНТИАГРЕГАНТОВ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПОСЛЕ ЧРЕСКОЖНОГО КОРОНАРНОГО ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Г.А. Березовская^{1, 3}, О.А. Смирнова², Н.Н. Петрищев^{1, 3}, Л.П. Папаян², М.А. Карпенко³, О.Г. Головина², Н.Н. Хромов-Борисов¹

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тест генерации тромбина, антиагреганты, ишемическая болезнь сердца, чрескожные коронарные вмешательства

Цель исследования. Изучить возможности использования теста генерации тромбина в богатой и бедной тромбоцитами плазме для оценки действия двойной антиагрегантной терапии у больных ИБС после чрескожного коронарного вмешательства. **Материалы и методы.** Материалом для исследования являлась венозная кровь 54 больных ИБС в возрасте от 53 до 77 лет, перенесших чрескожное коронарное вмешательство со стентированием в течение года и получающих клопидогрель и аспирин в стандартных дозировках (75 и 75–100 мг в сутки соответственно), а также 40 человек, сопоставимых по возрасту и полу, без клинических проявлений ИБС и не получавших данные препараты с какой-либо другой целью. Тест генерации тромбина проводился в богатой и бедной тромбоцитами плазме. Оценивались внутрисосудистая активация и индуцированная агрегация тромбоцитов, а также рутинные коагулогические показатели. **Результаты.** Прием антиагрегантных препаратов не повлиял на показатели рутинных коагулогических тестов и внутрисосудистой ак-

тивации тромбоцитов. При оценке индуцированной агрегации тромбоцитов было установлено, что наиболее значимым оказалось влияние антиагрегантов на коллаген-индуцированную агрегацию тромбоцитов ($p = 10^{-7}$). Среди показателей тромбограммы в богатой тромбоцитами плазме наиболее значимым под воздействием антиагрегантов оказалось снижение эндогенного тромбинового потенциала (ETP; $P = 0,0045$) и максимальной концентрации тромбина (PT; $P = 4 \cdot 10^{-6}$), а также увеличение времени достижения пиковых концентраций тромбина (TPP; $P = 0,0012$). Статистически наиболее высоко значимым оказалось снижение скорости образования тромбина (VI; $P = 10^{-8}$). Прием антиагрегантов не повлиял на показатели тромбограмм теста генерации тромбина, выполненного в бедной тромбоцитами плазме. **Заключение.** Показатели теста генерации тромбина в богатой тромбоцитами плазме могут быть использованы для оценки действия двойной антиагрегантной терапии. Наиболее информативным показателем является скорость образования тромбина.

¹ ФГБУ «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург.

² ФГБУ «Российский НИИ гематологии и трансфузиологии» ФМБА России, Санкт-Петербург.

³ ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» Минздрава России.

Чрескожная ангиопластика со стентированием коронарных артерий была и остается одним из наиболее широко используемых методов лечения ИБС.

Однако нередко эффективность данного вмешательства ограничивается развитием осложнений, связанных с тромбированием стента. Несмотря на сравнительно небольшой процент возникновения данного осложнения (0,9—2,2%), в подавляющем большинстве случаев оно приводит к развитию инфаркта миокарда и летальному исходу [1].

Одним из факторов, предрасполагающих к развитию тромбозов стентов, является повышение активности тромбоцитов, которую не всегда удастся преодолеть с помощью антиагрегантных препаратов: ацетилсалициловой кислоты и блокаторов рецепторов P₂Y₁₂. Среди причин недостаточной эффективности данной терапии называют отсутствие информативных методов контроля за их действием [2, 3]. В последние годы активно изучаются возможности использования с этой целью теста генерации тромбина (ТТТ), позволяющего оценить динамику образования и инактивации *in vitro* ключевого фермента гемостаза — тромбина (КФ 3.4.21.5).

Результаты теста характеризует ряд временных и количественных параметров. Период инициации образования тромбина (Lag Time), выражаемый в минутах, представляет собой промежуток времени, измеренный от момента внесения смеси флюорогенного субстрата и ионизированного кальция в лунку с образцом и триггером до момента отклонения флюоресцентного сигнала от основной базовой горизонтальной линии более чем на 2 стандартных отклонения. Время достижения пика в минутах (ТТPeak) — это время, за которое в образце образуется максимальное количество тромбина.

Показатель «эндогенный тромбиновый потенциал» (ЕТР) предложили Н. Hemker и соавт. для количественного выражения генерации тромбина [4]. ЕТР представляет собой площадь под кривой генерации тромбина. К количественным параметрам тромбограммы также относится пиковая концентрация тромбина (Peak thrombin), которая отражает максимальное количество образующегося тромбина.

Наиболее хорошо изучены возможности использования данного теста в бедной тромбоцитами плазме для мониторинга действия прямых [5—8] и непрямых [9—11] антикоагулянтов.

Для оценки действия антиагрегантных препаратов с помощью ТТТ было предложено использовать богатую тромбоцитами плазму, что позволило установить вклад в генерацию тромбина обоих звеньев гемостаза. В результате немногочисленных исследований по изучению влияния антиагрегантных препаратов с различным механизмом действия (аспирин, клопидогрел и антагониста гликопротеина П₂/Ш_a — абсиксимаба) на параметры генерации тромбина было установлено, что под воздействием данных препаратов происходит удлинение временных показателей тромбограммы (Lag Time и ТТPeak) при полном отсутствии изменений ЕТР [12, 13]. Наименее изученными остаются возможности данного теста для оценки действия двойной антиагрегантной терапии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель исследования: оценить возможности использования теста генерации тромбина в богатой и бедной тромбоцитами плазме для оценки эффективности двойной антиагрегантной терапии у больных ИБС после интракоронарного стентирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основную группу составили 54 больных ИБС (стенокардия напряжения II-III ФК) в возрасте от 53 до 77 лет (17 женщин, 37 мужчин), находящихся под наблюдением в Федеральном медицинском исследовательском центре имени В.А. Алмазова после плановой чрескожной транслюминальной коронароангиопластики со стентированием. Исследование проводилось на фоне двойной антиагрегантной терапии в среднетерапевтических дозировках (клопидогрел и аспирин в дозах 75 и 75—100 мг в сутки соответственно) спустя 6 мес. после вмешательства. В контрольную группу вошли 40 человек, сопоставимых по возрасту и полу, без клинических проявлений ИБС и не получавших данные препараты с какой-либо другой целью.

Исследования крови проводились в лаборатории свертывания крови ФГБУ РНИИГТ ФМБА России. В работе использовалась венозная кровь. Внутрисосудистая активация тромбоцитов оценивалась с помощью морфофункционального метода по А.С. Шитиковой с использованием фазово-контрастного микроскопа МИКРОМЕД 7 (ЛОМО, Россия). О степени активации тромбоцитов судили по доле активных форм тромбоцитов (%) и доле тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты (%). Агрегационная активность тромбоцитов оценивалась с помощью анализатора агрегации тромбоцитов АТ-02 (НПФ «Медтех», Россия) по методу Борна. В качестве индукторов агрегации использовали коллаген (2 мкг/мл) и АДФ (в концентрациях 1 мкМ и 5 мкМ).

Коагулогические параметры определяли на автоматическом коагулометре Helena AC-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием реагентов от производителя. Скрининговое исследование включало определение активированного парциального тром-

бопластинового времени (АПТВ, с), протромбинового теста по Квику (ПТ, %), тромбинового времени (ТВ, с), концентрации фибриногена (г/л). Кроме того, проводилось определение ристоцетин-кофакторной активности фактора Виллебранда (ФВ, %), активности фактора VIII (Ф VIII, %) и антитромбина III (АТ III, %).

При оценке полученных результатов руководствовались рекомендациями Лаборатории свертывания крови РосНИИГТ (Россия, Санкт-Петербург) [14].

Постановка и анализ результатов ТГТ выполнялись согласно методике, предложенной Hemker H et al. в 2003 г. [15]. В соответствии с поставленными задачами в данном исследовании использовали плазму крови, богатую тромбоцитами. Для стандартизации ТГТ образцы крови отбирали в вакуумные пробирки VACUETTE®, содержащие в качестве консерванта 3,2%-ный (0,109 М) раствор цитрата натрия при соотношении антикоагулянта и крови 1 : 9. Богатую тромбоцитами плазму получали путем центрифугирования при 22 °С в течение 10 мин при ускорении 120 g с последующим доведением концентрации тромбоцитов в каждом образце до $150 \cdot 10^9$ кл/л путем добавления аутологичной плазмы, бедной тромбоцитами. В качестве триггерного реагента использовали смесь рекомбинантного человеческого тканевого фактора rh-TF и отрицательно заряженных прокоагулянтных фосфолипидов в конечной концентрации 5 пМ и 4 мкМ соответственно.

Подготовка проб бедной тромбоцитами плазмы осуществлялась следующим образом: взятие крови выполнялось в аналогичные пробирки с последующим двойным центрифугированием при комнатной температуре при 120 g в течение 10 мин, затем при 2500 g в течение 30 мин.

Калибровку измерений проводили относительно активности тромбинового калибратора

ра, измеренной в аналогичных условиях. В качестве калибратора использовали синтетический аналог тромбина, высокоспецифичный к добавляемому в реакционную смесь субстрату — Thrombin Calibrator (Thrombinoscope by, Нидерланды). Постановку ТГТ осуществляли в двух повторностях на планшетном флюориметре Fluoroskan Ascent™, оборудованном диспенсером производства ThermoFisher SCIEN-TIFIC (Финляндия). Длина волны экстинкции составляла 390 нм, эмиссии — 460 нм. За одну постановку в 96-луночном планшете исследовалось до 24 образцов плазмы. Построение и расчет показателей кривых генерации тромбина производили при помощи программно-обеспечения Thrombinoscope 3.0.0.26.

Оценивали следующие показатели ТГТ: LT (Lag Time) — продолжительность фазы задержки (лаг-период) инициации образования тромбина (мин); Peak (Peak thrombin) — пиковая концентрация тромбина (нМ); TTPeak (Time to peak) — время достижения пика (мин); ETP (Endogenous Thrombin Potential) — эндогенный тромбиновый потенциал (нМ•мин). VI (Velocity Index) — скорость образования тромбина (нМ/мин), которую рассчитывали по формуле $VI = Peak / (TTPeak - LagTime)$.

Для статистического анализа полученных данных использованы программы AtteStat [16], PAST [17], LePrep (<http://lmrs.univ-rouen.fr/Persopage/Lecoutre/PAC.htm>).

В соответствии с международными рекомендациями [18] при проверке статистических гипотез ориентировались не только на *P*-значения, но и определяли доверительный интервал (ДИ) для изучаемых различий и оценивали так называемый размер эффекта (effect size) [19].

Оценка статистических взаимосвязей между изучаемыми показателями производилась с применением параметрического коэффициента линейной корреляции Пирсона «*r*» и непараметрического (рангового) коэффициента

корреляции Спирмена «*r_s*». Использована следующая интерпретация полученных значений коэффициентов корреляции: 0—0,5 — от ничтожной до слабой; 0,5—0,7 — умеренная; 0,7—0,9 — сильная; 0,9—1,0 — очень сильная [20].

Для ROC-анализа использовали отечественный универсальный пакет программ для статистического анализа данных AtteStat [16] (<http://sourceforge.net/projects/attestat/>) и демо-версию коммерческой программы MedCalc (<http://www.medcalc.org/>). Основные показатели качества диагностического теста оценивали с помощью оригинальной программы DiagStat.xls [21].

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом при ФГБУ «Федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Всем больным ИБС и практически здоровым людям, вошедшим в группу контроля, были проведены рутинные коагулологические тесты, включающие определение АПТВ, ПТ, ТВ, содержания фибриногена, антитромбина III и активности факторов VIII и Виллебранда. Анализ полученных данных показал, что наличие в терапии пациентов ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела практически не влияет на большинство выбранных показателей.

Статистически значимые различия между исследуемыми группами были выявлены в изменении активности фактора Виллебранда, отражающего степень эндотелиальной дисфункции у больных ИБС.

Прием антиагрегантных препаратов больными ИБС отразился на показателях индуцированной агрегации тромбоцитов под воздействием АДФ и коллагена, практическую важность которых можно интерпретировать как умеренно высокую (табл. 1). Однако только

ТАБЛИЦА 1. Показатели гемостаза со статистически значимыми различиями между исследованными группами

	Референс-ный интервал	Контроль-ная группа (M_1)	Боль-ные ИБС (M_2)	P	$D = M_1 - M_2$	StD
FW, %	54–153	94 100 105	140 155 170	10^{-10}	-70 -55 -40	-2,0 -1,6 -1,1
АДФ (1 мкМ), %	8–25	29 31 33	23 25 28	$2 \cdot 10^{-4}$	3,1 5,8 8,4	0,42 0,92 1,38
АДФ (5 мкМ), %	24–38	16 18 20	71 10 12	$2 \cdot 10^{-5}$	4,8 8,0 11,2	0,6 1,1 1,5
Коллаген, %	32–55	42 44 47	5,2 7,9 10,4	10^{-7}	33 36 40	1,8 2,6 3,3

Примечание. $D = M_1 - M_2$ — разность средних, размер эффекта в реальных единицах; StD — размер эффекта по Коуэну (Cohen), т. е. стандартизированная разность средних, безразмерная величина, позволяющая интерпретировать силу эффекта безотносительно к единицам его измерения. Слева и справа от точечных оценок для основных показателей в виде подстрочных индексов указаны нижняя и верхняя границы 95%-ных доверительных интервалов (ДИ).

для коллагена размер эффекта (т. е. различие между группой контроля и больными) можно признать большим, т. е. клинически важным, поскольку нижняя граница 95%-ного ДИ для него превышает значение 1,0 и близка к значению 2,0.

Полученные результаты показали также, что антиагреганты практически не влияют на образование как активных форм тромбоцитов, так и тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты (табл. 2). Напротив, у больных сохраняется усиленное образование данных форм тромбо-

ТАБЛИЦА 2. Показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов

	Референс-ный интервал	Контроль-ная группа (M_1)	Боль-ные ИБС (M_2)	P	$D = M_1 - M_2$	StD
Доля активных форм тромбоцитов, %	13,7—25,3	20 24 25	28 29 30	0,00035	-7,7 -5,0 -2,3	-1,33 -0,86 -0,39
Доля тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, %	4,9—8,5	5,3 6,7 8,1	7,7 8,4 9,1	0,032	-3,3 -1,7 -0,15	-0,94 -0,49 -0,04

Примечание. $D = M_1 - M_2$ — разность средних, размер эффекта в реальных единицах; StD — размер эффекта по Коуэну (Cohen), т. е. стандартизированная разность средних, безразмерная величина, позволяющая интерпретировать силу эффекта безотносительно к единицам его измерения. Слева и справа от точечных оценок для основных показателей в виде подстрочных индексов указаны нижняя и верхняя границы 95%-ных доверительных интервалов (ДИ).

ТАБЛИЦА 3. Показатели тромбограммы в богатой тромбоцитами плазме в контрольной группе и в группе больных ИБС, получающих антиагрегантную терапию (Ме, 95% ДИ)

	Контроль- ная груп- па (M_1)	Больные ИБС (M_2)	P	$D = M_1 - M_2$	StD
LT, мин	14 16 17	15 17 19	0,37	-3,4 -1,3 0,7	-0,61 -0,20 0,22
ТТР, мин	25 27 28	29 31 33	0,0012	-7,0 -4,5 -2,1	-1,13 -0,72 -0,28
ЕТР, нМ·мин	1820 1900 1990	1640 1740 1830	0,0045	42 167 294	0,19 0,62 1,04
РТ, нМ	125 134 144	100 106 113	$4 \cdot 10^{-6}$	17 28 39	0,6 1,1 1,5
VI, нМ/мин	11 13 15	7,1 7,9 8,7	10^{-8}	3,4 5,1 6,7	0,9 1,4 1,8

Примечание. $D = M_1 - M_2$ — разность средних, размер эффекта в реальных единицах; StD — размер эффекта по Коуэну (Cohen), т. е. стандартизованная разность средних, безразмерная величина, позволяющая интерпретировать силу эффекта безотносительно к единицам его измерения. Слева и справа от точечных оценок для основных показателей в виде подстрочных индексов указаны нижняя и верхняя границы 95%-ных доверительных интервалов (ДИ).

цитов, характерное для ИБС. При анализе параметров тромбограмм ТТГ, выполненного в богатой тромбоцитами плазме, было установлено, что прием антиагрегантов существенно не влияет на время инициации образования тромбина (табл. 3). Выявлено также, что

уменьшение образования тромбина под воздействием антиагрегантов в богатой тромбоцитами плазме характеризуется статистически значимым снижением эндогенного тромбинового потенциала (ЕТР; $P = 0,0045$) и максимальной концентрации тромбина (РТ; $P = 4 \cdot 10^{-6}$).

ТАБЛИЦА 4. Показатели тромбограммы в бедной тромбоцитами плазме в контрольной группе и в группе больных ИБС, получающих антиагрегантную терапию (Ме, 95% ДИ)

	Контроль- ная груп- па (M_1)	Больные ИБС (M_2)	P	$D = M_1 - M_2$	StD
LT, мин	2,4 2,8 3,1	2,4 2,6 2,8	0,66	-0,51 -0,16 0,23	-0,45 0,14 0,71
ТТР, мин	5,6 6,3 7,0	5,5 6,0 6,5	0,50	-1,06 -0,30 0,48	-0,38 0,21 0,79
ЕТР, нМ·мин	1600 1760 1900	1600 1770 1920	0,97	-190 10 210	-0,57 0,01 0,60
РТ, нМ	245 285 325	253 279 306	0,88	-48 -5,7 39	-0,54 0,05 0,63
VI, нМ/мин	70 97 123	74 89 104	0,69	-34 -7,3 22	-0,46 0,13 0,71

Примечание. $D = M_1 - M_2$ — разность средних, размер эффекта в реальных единицах; StD — размер эффекта по Коуэну (Cohen), т. е. стандартизованная разность средних, безразмерная величина, позволяющая интерпретировать силу эффекта безотносительно к единицам его измерения. Слева и справа от точечных оценок для основных показателей в виде подстрочных индексов указаны нижняя и верхняя границы 95%-ных доверительных интервалов (ДИ).

Выявлено также статистически значимое увеличение времени достижения пиковых концентраций тромбина (ТТР; $P = 0,0012$). Статистически наиболее высокозначимым оказалось снижение скорости образования тромбина (VI; $P = 10^{-8}$) (табл. 3).

С целью подтверждения предположения о том, что выявленные изменения показателей тромбограммы являются результатом действия антиагрегантных препаратов, было решено провести ТТТ у обследованных лиц в бедной тромбоцитами плазме, исключив таким образом вклад тромбоцитов в генерацию тромбина (табл. 4).

Было установлено, что никаких статистически значимых различий по всем без исключения показателям тромбограммы между исследованными группами не существует.

Проведенный ROC-анализ показал, что только кинетический показатель — скорость образования тромбина VI, вероятно, сможет получить практическое (клиническое) применение как диагностический признак. Результаты ROC-анализа представлены на *рисунке 1*.

На *рисунке 1а* ROC-кривая (жирная ломаная линия) с 95%-ными ДИ (тонкие ломаные линии); справа — графическое представление разрешающей способности для выявленного значения точки дискриминации порогового значения (cut-off point — точки отсечения). Об информативности предлагаемого диагностического теста свидетельствует то, что полученное значение такого показателя качества теста, как AUC , статистически высокозначимо отличается от неинформативного значения $AUC_{uninf} = 0,5$.

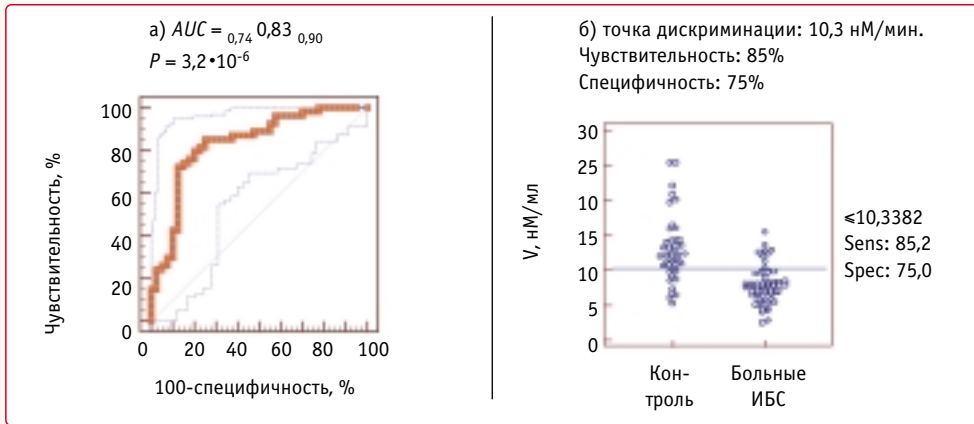
ОБСУЖДЕНИЕ

Хорошо известно, что пациенты с различными вариантами атеротромбоза, а также после оперативного лечения (ангиопластики со

стентированием и реконструктивных операций) нуждаются в длительном приеме антитромботических препаратов. Наиболее эффективным в таких случаях является назначение комбинированной терапии, включающей препараты с различным механизмом действия. Как правило, речь идет о назначении препаратов ацетилсалициловой кислоты и блокаторов P₂Y₁₂-рецепторов. Однако в ряде случаев снижение частоты тромботических осложнений у таких пациентов достигается ценой увеличения риска возникновения геморрагических осложнений. Но нередко и комбинированная терапия не способна предотвратить развитие тромбозов стентов и шунтов после реконструктивных операций. Именно поэтому в последние годы внимание исследователей приковано к решению проблем, связанных с индивидуальным подбором терапии, которую невозможно осуществить без лабораторной оценки действия антитромботических препаратов.

Эффективность антиагрегантных препаратов в клинической практике традиционно контролируют с помощью методов, в основе которых лежит оценка индуцированной агрегации тромбоцитов. Подобный подход позволяет определить степень блокады лишь одного из путей активации тромбоцитов, не давая полного представления об их готовности участвовать в агрегации. Так, например, использование арахидоновой кислоты при агрегатометрии используется для оценки действия ацетилсалициловой кислоты. Использование АДФ в качестве индуктора агрегации позволяет оценить действие блокаторов рецепторов P₂Y₁₂ (клопидогрела). Кроме того, в качестве индуктора агрегации при агрегатометрии возможно также использование коллагена, адреналина и ристомидина, но и при этом нельзя говорить о полном подавлении агрегационной способности тром-

РИСУНОК 1. Результаты ROC-анализа для показателя, характеризующего скорость образования тромбина



Примечание. AUC — площадь под ROC-кривой. Sens и Spec — чувствительность и специфичность «диагностического» теста. Использована программа MedCalc.

боцитов, поскольку механизмов их активации значительно больше.

Таким образом, с помощью данного метода невозможно оценить степень угнетения агрегационной способности тромбоцитов в целом и актуальность конкретных механизмов их активации, а также альтернативных путей тромбообразования в каждом отдельном случае. Тем не менее на основании результатов именно этого теста клиницисты делают выводы об эффективности антиагрегантной терапии.

В нашем исследовании проводилась оценка индуцированной агрегации тромбоцитов с двумя индукторами: АДФ ($1 \cdot 10^{-6}$ М и $5 \cdot 10^{-6}$ М) и коллагеном (2 мкг/мл) (табл. 2). Несмотря на то что статистически значимым снижением индуцированной агрегации в группе больных, получающих антиагреганты, было выявлено для всех индукторов агрегации, клинически значимым это влияние оказалось при оценке коллаген-индуцированной агрегации. Только для коллагена размер эффекта (т. е. различие между контрольной группой и больными) мож-

но признать большим, т. е. практически (клинически) важным, поскольку нижняя граница 95%-ного ДИ для него превышает значение 1,0 и близка к значению 2,0 (табл. 3).

Оцененные нами рутинные коагулологические показатели, характеризующие плазменно-коагуляционное звено гемостаза, в подавляющем большинстве не выходили за рамки референсных значений. И лишь активность фактора Виллебранда у пациентов с ИБС статистически значимо превышала значения данного показателя в группе контроля, что отражало у них степень эндотелиальной дисфункции [22].

По результатам нашего исследования показатели внутрисосудистой активации тромбоцитов также не дают информацию о действии антиагрегантных препаратов, поскольку отражают лишь общую тенденцию у больных ИБС к увеличению доли как активных форм тромбоцитов (в большей мере), так и тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты (табл. 2).

Поиск качественно новых методов оценки действия антиагрегантов привел к мысли о

том, что для этих целей следует использовать показатель, отражающий изменение агрегационной способности тромбоцитов независимо от путей их активации [23].

Хорошо известно, что активация тромбоцитов сопровождается транслокацией отрицательно заряженных фосфолипидов на наружную поверхность их мембран, создавая таким образом условия для образования тромбина из протромбина. Несложно предположить, что интенсивность генерации тромбина, связанная напрямую с активностью тромбоцитов, может дать информацию о действии препаратов, обладающих антиагрегантными эффектами.

В нашем исследовании было отмечено увеличение Lag Time, но лишь в виде статистически незначимого удлинения ($P = 0,37$). Для TTPeak, напротив, было выявлено значительное увеличение у больных, получающих антиагреганты ($P = 0,0012$) (табл. 3).

Нами выявлено статистически значительное уменьшение ETP и Peak Trombin под воздействием антиагрегантных препаратов, но высокосignificantным оказалось лишь снижение пиковой концентрации тромбина ($P = 4 \cdot 10^{-6}$), что свидетельствует о значительном угнетении образования тромбина под воздействием данных препаратов (табл. 3).

Чрезвычайно интересным оказался факт статистически высокосignificantного снижения скорости образования тромбина на фоне применения двойной антиагрегантной терапии. Нами было выявлено существенное снижение скорости образования тромбина у больных, получающих ацетилсалициловую кислоту и клопидогрел ($P = 10^{-8}$) (табл. 3). Диагностическую ценность данного показателя подтверждают и результаты проведенного ROC-анализа. Было найдено пороговое значение $VI = 10$ нМ/мин (рис. 1б), относительно которого выявляются оптимальные значения чувствительности (85%) и специ-

фичности (75%), что делает данный показатель наиболее информативным в плане его диагностической ценности (рис. 1а).

Вполне возможно, что действие антиагрегантов, направленное на подавление активности тромбоцитов, сопровождается не только уменьшением количества отрицательно заряженных фосфолипидов на внешней поверхности мембран тромбоцитов, но и снижением скорости их транслокации. Однако установление истинных причин выявленной чувствительности главного скоростного показателя ТТТ требует дальнейшего изучения.

Не исключено, что именно с этим показателем связан основной антитромботический эффект антиагрегантов. В пользу данного предположения свидетельствуют результаты экспериментальных исследований о влиянии скорости введения тромбина на состояние гемостаза [24, 25]. В этих работах было показано, что с увеличением скорости введения тромбина возрастает риск тромботических осложнений, а уменьшение — приводит к гипокоагуляции и развитию кровотечений.

Для большей убедительности полученных результатов, а также для исключения вклада в генерацию тромбина основной мишени антиагрегантных препаратов — тромбоцитов нами параллельно было проведено определение генерации тромбина в бедной тромбоцитами плазме. Как и ожидалось, по всем показателям ТТТ статистически значимых различий в сравниваемых группах обнаружено не было (табл. 4).

Полученные результаты свидетельствуют об изменении показателей теста генерации тромбина под воздействием антиагрегантных препаратов: ацетилсалициловой кислоты и клопидогрела. Наиболее информативной является скорость образования тромбина.

Проведенная в рамках нашего исследования сравнительная оценка рутинных тестов, ха-

рактизирующих состояние гемостаза, и показатели теста генерации тромбина продемонстрировала преимущества последнего в оценке действия антиагрегантных препаратов. Было установлено, что в отличие от рутинных тестов все показатели теста генерации тромбина изменяются под воздействием антиагрегантов, а степень статистической значимости этого влияния превосходит даже наиболее информативных из них — индуцированную агрегацию с коллагеном. Учитывая многофункциональность тромбина, можно предположить,

что подобное действие антиагрегантных препаратов на его образование способно предотвратить развитие не только тромбоза, но и рестеноза внутри стента. Полученные данные и выводы дают возможность предположить, что оценка образования тромбина, как основного показателя активации тромбоцитов, с помощью теста генерации тромбина в богатой тромбоцитами плазме позволит контролировать изменения в системе гемостаза под влиянием антиагрегантной терапии.



ИСТОЧНИКИ

1. Kandzari DE, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, O'Shaughnessy C, Ball MW et al. Comparison of zotarolimus-eluting and sirolimus-eluting stents in patients with native coronary artery disease: a randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 48: 2440–7.
2. Ben-Dor I, Kleiman NS, Lev E. Assessment, mechanisms, and clinical implication of variability in platelet response to aspirin and clopidogrel therapy. *Am J Cardiol*, 2009, 104: 227–33.
3. Can MM, Tanboga IH, Turkyilmaz E, Karabay CY, Akgun T, Koca F et al. The risk of false results in the assessment of platelet function in the absence of antiplatelet medication: Comparison of the PFA-100, multiplate electrical impedance aggregometry and verify now assays. *Thromb Res*, 2010, 125: e132–7.
4. Hemker HC, Wielders S, Kessels H, BOguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma. Its use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost*, 1993, 70: 617–24.
5. Al Dieri R, Alban S, BOguin S, Hemker HC. Thrombin generation for the control of heparin treatment, comparison with the activated partial thromboplastin time. *J Thromb Haemost*, 2004, 2: 1395–401.
6. Al Dieri R, Alban S, BOguin S, Hemker HC. Fixed dosage of low-molecular-weight heparins causes large individual variation in coagulability, only partly correlated to body weight. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 83–9.
7. Gerotziapas GT, Petropoulou AD, Verdy E, Samama MM, Elalamy I et al. Effect of the anti-factor Xa and anti-factor Ha activities of low-molecular weight heparins upon the phases of thrombin generation. *J Thromb Haemost*, 2007, 5: 955–62.
8. Stief TW. Inhibition of thrombin generation in recalcified plasma. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007, 18: 751–60.
9. Altman R, Scazzioa A, Herrera L, Gonz3lez C. Relationship between thrombin generation and international normalized ratio in patients receiving oral vitamin K antagonist therapy. *J Thromb Haemost*, 2007, 5: 1552–69.
10. Jackson CM, Esnouf MP, Lindahl TL. A critical evaluation of the prothrombin time for monitoring oral anticoagulant therapy. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2003, 33: 43–51.
11. Gatt A, van Veen JJ, Bowyer A, Cooper PC, Kitchen S, Markus M. Significant variation in thrombin generation potential in «adequately» anticoagulated patients. *J Thromb Haemost*, 2007, 5(Suppl. S2): P-M-097.
12. Altman R, Scazzioa A, Santoro S, Gonz3lez C. Abciximab does not inhibit the increase of thrombin generation produced in platelet-rich plasma in vitro by sodium arachidonate or tissue factor. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2005, 11: 271–77.
13. Altman R, Scazzioa A, de Lourdes Herrera M, Gonzalez C. Recombinant factor Vila reverses the inhibitory effect of aspirin or aspirin plus clopidogrel on in vitro thrombin generation. *J Thromb Haemost*, 2006, 4: 2022–27.
14. Матвиенко О.Ю., Наместников Ю.А., Хаит Е.А., Головина О.Г., Папаян Л.П., Герасименко Д.В. и соавт. Гиперкоагуляционный синдром при ишемическом инсульте. *Клин геронтол*, 2011, 9–10: 34–38.

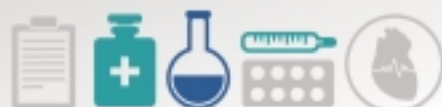
15. Hemker HC, Giesen P, Al Dieri R, Regnault V, de Smedt E, Wagenvoort R et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 2003, 33: 4–15.
16. Гайдышев И.П. Проект Attestat. Программное обеспечение анализа данных AtteStat. 2002–2014. http://ilizarov.center/?page_id=82.
17. Hammer O, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica* 2001; 4: 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm.
18. ICMJE. Recommendations for the Conduct, Reporting, Editing, and Publication of Scholarly Work in Medical Journals. 2013; 1–17. <http://www.icmje.org/recommendations/>
19. Kraemer HC, Frank E, J Kupfer D. How to assess the clinical impact of treatments on patients, rather than the statistical impact of treatments on measures. *Int J Methods Psychiatr Res*, 2011, 20: 63–72.
20. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина, 2011.
21. Тишков А.В., Хромов-Борисов Н.Н., Комашня А.В., Марченкова Ф.Ю., Семенова Е.М., Эюбова Н.Т. и соавт. Статистический анализ таблиц в диагностических исследованиях. СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2013.
22. Muller O, Bartunek J, Hamilos M, Berza CT, Mangiacapra F, Ntalianis A et al. von Willebrand factor inhibition improves endothelial function in patients with stable angina. *J Cardiovasc Transl Res*, 2013, 6: 364–70.
23. Gorog DA, Fuster V. Platelet function tests in clinical cardiology: unfulfilled expectations. *J Am Coll. Cardiol*, 2013, 61: 2115–29.
24. Hanson SR, Griffin JH, Harker LA, Kelly AB, Esmon CT, Gruber A et al. Antithrombotic effects of thrombin-induced activation of endogenous protein C in primates. *J Clin Invest*, 1993, 92: 2003–12.
25. Siller-Matula JM, Bayer G, Bergmeister H, Quehenberger P, Petxelbauer P, Friedl P et al. An experimental model to study isolated effects of thrombin in vivo. *Thromb Res*, 2010, 126: 454–61.

В медицине главным лекарством
является сам врач



МЕДИЦИНСКИЙ СОВЕТ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ ДЛЯ ВРАЧЕЙ



Журнал для практикующих
врачей различных
специальностей

Каждый номер посвящен
одному из разделов медицины

- Как лечить?
- Чем лечить?
- Эффективность лечения
- Экономическая приемлемость лечения



РЕМЕДИУМ
РУССКАЯ КОЛЛЕГИЯ

105082, Москва, ул. Бакунинская, 71, стр. 10.
Тел.: 8 495 780 3425, факс: 8 495 780 3426
www.remEDIUM.ru
remedium@remedium.ru

www.med-sovet.pro