

Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр»
Минздравсоцразвития России

ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский
университет» Росздрава

Лаборатория гематологии ЦНИЛ ГОУ ВПО АГМУ
при КГБУЗ «Краевая клиническая больница»

Современные методы распознавания состояния тромботической готовности

Монография

*Под научной редакцией
д-ра мед. наук, профессора А.П. Момота*



Барнаул

Издательство Алтайского
государственного университета
2011

УДК 61
ББК 5
С568

Авторский коллектив:

Момот А.П.,	Григорьева Е.В.,
Цывкина Л.П.,	Белозеров Д.Е.,
Тараненко И.А.,	Никитина Д.А.,
Мамаев А.Н.,	Строзенко Л.А.,
Сердюк Г.В.,	Петрекова О.В.,
Шахматов И.И.,	Беспалова О.В.,
Лыдина И.В.,	Ломаев И.С.

С568 **Современные методы распознавания состояния тромботической готовности** : монография / А.П. Момот, Л.П. Цывкина, И.А. Тараненко и др. ; под науч. ред. д-ра мед. наук, профессора А.П. Момота. – Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2011. – 138 с.
ISBN 978-5-7904-1176-2

Описаны современные подходы к лабораторной диагностике нарушений гемостаза, которые свойственны состоянию предтромбоза или сопровождают те или иные тромботические события. Охарактеризованы основные маркеры внутрисосудистого свертывания крови и методы их определения, доступные для российских специалистов. Намечен методологический подход к лабораторной диагностике для формирования группы высокого тромбогенного риска, определению показаний к проведению первичной и вторичной тромбопрофилактики для предотвращения тяжелых тромбоэмболических осложнений.

Монография предназначена для врачей различных специальностей, в первую очередь гематологов, травматологов, онкологов, урологов, акушеров-гинекологов, реаниматологов, кардиологов, терапевтов, врачей-лаборантов, в практике которых встречаются тромбозы и тромбоемболии.

УДК 61
ББК 5

ISBN 978-5-7904-1176-2

© Авторский коллектив, 2011
© Оформление. Издательство Алтайского государственного университета, 2011

Оглавление

Введение	6
1. Формулировка понятий и терминология: факторы тромботического риска, состояние тромботической готовности, тромбофилия	9
2. Клинико-лабораторные маркеры тромботической готовности	20
2.1. Свидетели активации свертывания крови и фибринолиза	22
2.1.1. Фактор VIIa	22
2.1.2. Тромбин	24
2.1.3. Фрагмент протромбина 1+2	24
2.1.4. Производные фибриногена	25
2.1.4.1. Фибринопептид A	27
2.1.4.2. Растворимые фибрин-мономерные комплексы	28
2.1.4.3. Комплекс тромбин-антитромбин	35
2.1.4.4. D-димеры	36
2.2. Маркеры активации тромбоцитов	48
2.2.1. Тромбоцитарный фактор 4	50
2.2.2. Индуцированная агрегация тромбоцитов	51
2.2.2.1. Определение функции тромбоцитов на агрегометре	54
2.2.2.2. Анализатор функции тромбоцитов (PFA-100)	54
2.3. Маркеры эндотелиальной дисфункции	56
2.3.1. Фактор Виллебранда	57
2.3.2. Эндотелин-1	58
2.3.3. Тромбомодулин	60
2.3.4. Оксид азота	61
2.4. Гомоцистеин	61
2.5. С-реактивный белок	64
2.6. Свидетели высокой вязкости крови	66
2.7. Интегральные методы оценки состояния тромботической готовности	73
2.7.1. Тромбоэластография/тромбоэластометрия	73
2.7.2. Тест генерации тромбина	78
2.7.3. Исследование пространственной динамики роста сгустка	86
2.7.4. Оценка полимеризации фибрин-мономера	86
3. Клиническое значение определения состояния тромботической готовности	90
Библиографический список	110

Список сокращений

АДФ – аденозиндифосфат
АПС-резистентность – резистентность фактора Va к активированному протеину С
АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время (синоним – АЧТВ)
АТ III – антитромбин III
АФС – антифосфолипидный синдром
ВА – волчаночный антикоагулянт
ГИТ-2 – гепарин-индуцированная тромбоцитопения 2-го типа
ДВС-синдром – синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания
ДЭ – дисфункция эндотелия
ИФА – иммуноферментный анализ
ЛПНП – липопротеиды низкой плотности
МНО – международное нормализованное отношение
МТГФР – метилентетрагидрофолатредуктаза
НМГ – низкомолекулярные гепарины
ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения
ОЦК – объем циркулирующей крови
О-ФТ – орто-фенантролиновый тест
ПДФг – продукты деградации фибриногена
ПДФн – продукты деградации фибрина
ПВ – протромбиновое время
ПТФС – посттромбофлебитический синдром
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РФМК – растворимые фибрин-мономерные комплексы, или растворимый фибрин
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
СРБ – С-реактивный белок
ТАТ – тромбин-антитромбиновый комплекс
ТГВ – тромбоз глубоких вен
ТГТ – тест генерации тромбина
ТЭГ – тромбоэластография/тромбоэластометрия
ТЭЛА – тромбоемболия легочной артерии
ФВ – фактор Виллебранда
ФМ – фибрин-мономер
ФП₁₊₂ – фрагмент протромбина 1+2
ХВН – хроническая венозная недостаточность
ЭКО – экстракорпоральное оплодотворение
ЭТ – эндотелин-1
NO – оксид азота

Памяти члена-корреспондента РАН,
заслуженного деятеля науки, профессора
Зиновия Соломоновича Баркагана
посвящается

ИНФОРМАЦИОННО

Развитие современной гемостазиологии в направлении выявления, диагностики, диспансеризации и этапного лечения больных тромбофилиями – одна из наиболее актуальных задач медицины XXI века.

З.С. Баркаган

Введение

В мире наблюдается рост сердечно-сосудистых заболеваний. При этом атеротромбоз как наиболее грозное осложнение атеросклероза является причиной смертности почти в 30% случаев. Известно, что морфологическим субстратом большинства артериальных катастроф является поврежденная (нестабильная) атеросклеротическая бляшка с тромбозом просвета артерии. Не менее актуальны для современной медицины и вопросы, связанные с профилактикой, диагностикой и лечением острых нарушений мозгового кровообращения. В России инсульт занимает второе место в структуре общей смертности населения. Примерно 20% больных, перенесших инсульт, становятся тяжелыми инвалидами и нуждаются в посторонней помощи. Причем среди всех видов инсульта преобладают ишемические (тромботические) поражения мозга в связи с тромбозом церебральных артерий либо системной (кардиогенной) эмболией [Гусев Е.И., Скворцова В.И., 2001; Инсульт..., 2008; Момот А.П. и др., 2009; Суслина З.А. и др., 2003; Henkey G. et al., 1999].

Наряду с этим, венозные тромбозы и легочная эмболия являются важной проблемой современной медицины, значение которой в практике врачей различных специальностей трудно переоценить. Это весьма распространенная патология: в США, например, с венозными тромбозами и/или тромбоэмболией легочной артерии (ТЭЛА) связано от 300 до 600 тыс. госпитализаций ежегодно; частота фатальной ТЭЛА составляет 94:100.000, или 240 тыс. смертей в год [Bick R., Haas S., 2003]. В Российской Федерации от легочной эмболии ежегодно погибают до 100 тыс. человек [Кириенко А.И., Андрияшкин В.В., 2004]. ТЭЛА как сосудистая катастрофа, причиной которой является тромбоз магистральных вен нижних конечностей и таза с отрывом тромба

с места его формирования, представляет собой одно из наиболее частых осложнений у больных, перенесших различные хирургические и иные инвазивные вмешательства. В 1884 г. Рудольф Вирхов первым выдвинул предложение, что тромбоз является результатом наличия хотя бы одного из трех базовых факторов, включающих в себя стаз крови в венах нижних конечностей, повышенную способность крови к тромбообразованию (тромбофилия) и повреждение стенки сосудов. В прошлом столетии большое признание получило утверждение о том, что все факторы риска венозного тромбоза реализуются этими важными патофизиологическими процессами и что венозная тромбоэмболия обычно при их отсутствии не развивается [Anderson F., Spencer F., 2003]. При анализе данных 1231 больного, проходивших лечение венозной тромбоэмболии, у 96% был обнаружен хотя бы один фактор риска. Более того, существует явное доказательство увеличения риска пропорционально количеству сопутствующих факторов [Anderson F., Spencer F., 2003; Rosendaal F., 1997].

Провоцирующую роль в этом играют хирургические манипуляции в области крупных венозных магистралей (операции на тазобедренном суставе, органах малого таза), другие фоновые виды патологии и состояния, предрасполагающие к тромбозу вен (злокачественные опухоли, ожирение, сахарный диабет, сердечная недостаточность и т.д.). Кроме того, длительная иммобилизация как в до-, так и в послеоперационном периоде приводит к существенному ухудшению показателей венозной гемодинамики [Баркаган З.С., 2005; Савельев В.С. и др., 2001].

Нередко венозный тромбоз развивается у амбулаторных больных и относительно здоровых пациентов [White R., 2003]. Не менее значима связь тромбофилии с тромбозами у беременных и синдромом потери плода. ТЭЛА является самой частой предотвратимой причиной материнской смертности и госпитальной летальности в экономически развитых странах [Bick R., Haas S., 2003]. Беременность и послеродовой периоды – установленные состояния гиперкоагуляции, связанной с увеличенными уровнями прокоагулянтных факторов (повышены уровни фибриногена, факторов V и VIII) и уменьшенной антикоагулянтной активностью (снижен уровень протеина S и повышена резистент-

ность активации протеина С) [Clark P. et al., 1998]. В этот период жизни женщины риск тромбоза глубоких вен (ТГВ) и легочной эмболии увеличен в пять раз по сравнению с небеременными женщинами того же возраста. Последнее является одной из ведущих причин смерти во время вынашивания плода и при родоразрешении [Prandoni P., 2005; Walker M. et al., 1998]. Убедительно доказано, что риск тромбоза глубоких вен и легочной эмболии во время беременности увеличивается при наличии тромбофилических расстройств, таких как мутация V фактора Лейдена, мутация гена протромбина (G20210A), дефицит антипротромбина, протеина С и протеина S и наличие антител к фосфолипидам [Clark P. et al., 1998; Walker M. et al., 1998].

С другой стороны, эти женщины имеют повышенный риск преэклампсии, так же как выкидыша и рождения мертвого ребенка из-за образования тромбов в плаценте, пуповине или у плода [Макацария А.Д., Бицадзе В.О., 2003; Brenner B., 2003; Lindqvist P. et al., 1999; Walker M. et al., 1998].

Интерес к тромбофилии, или состоянию склонности к повышенной свертываемости, и к самой гиперкоагуляции настолько широк, что поиск в электронной базе данных Медлайн статей, напечатанных в 2000–2008 гг., дает на 30% больше публикаций (19 029) по теме тромбофилии, чем по теме тромбоза коронарной артерии (13 558) – патологии, которая в индустриальном мире является первой причиной смерти. Более того, описания клинических проявлений врожденных и приобретенных тромбофилических состояний, а также вопросы, связанные с обоснованием и выбором различных средств антитромботической профилактики и терапии, описаны с 2000 г. по настоящее время более чем в 5 тыс. публикациях.

Авторы благодарят лаборантов лаборатории патологии гемостаза Т.А. Лапшину, Т.Г. Усову, Л.Г. Кравченко и Г.Э. Чуеву за помощь в получении материалов, приведенных в настоящей монографии.

1. Формулировка понятий и терминология: факторы тромбогенного риска, состояние тромботической готовности, тромбофилия

Система гемостаза филогенетически предназначена для остановки кровотечения при травме и обеспечения жидкого состояния крови при сохранении биологической целостности сосудистой стенки. В то же время свертывание крови известно и как сложный и многоступенчатый процесс, в финале которого происходит «выплеск» тромбина, а завершающий, конечный этап коагуляции связан с зависимым от тромбина преобразованием фибриногена в фибрин, обеспечивающим формирование каркаса сгустка крови вблизи поврежденных кровеносных сосудов. Система гемостаза неотложно реагирует на различные внешние и внутренние агрессивные факторы. Выраженный и устойчивый дисбаланс при взаимодействии клеточных и ферментативных участников, обеспечивающих гемостаз, у больных с различными заболеваниями является причиной развития как геморрагических, так и тромботических осложнений, нередко опасных для жизни.

Поскольку тромбофилия предшествует внутрисосудистому тромбообразованию и ассоциируется с тромбозами различной локализации, имеет смысл остановиться на таких понятиях, как «тромбофилия», «гиперкоагуляционное состояние/синдром», «факторы риска тромбоза», находящихся в логической связи и описывающих клиническую последовательность событий, опережающих внутрисосудистое тромбообразование.

Прежде всего полагаем необходимым уточнить содержание понятий, касающихся проблемы тромбообразования. Считается, что тромбозу предшествует и сопутствует *тромбофилия* – состояние, объединяющее все наследственные (генетически обусловленные, постоянные) и приобретенные (вторичные, симптоматические, действующие в определенный промежуток времени) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов [Баркаган З.С., 2005].

С учетом многолетнего клинического опыта, полученного при работе в Алтайском филиале ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздравсоцразвития России (далее – Алтайский гематологический центр), авторы настоящего издания считают, что

тромбофилия не является какой либо болезнью, но представляет собой патологическое состояние, вызванное комбинацией врожденных и/или приобретенных факторов риска, *реализованных развитием тромбоза (тромбозов)*, объективные сведения о котором (которых) могут быть получены в настоящий момент или по данным индивидуального анамнеза [Момот А.П. и др., 2010].

Данное состояние может быть унаследовано или связано с болезнью (например, при наличии рака, ряда форм соматической патологии), приемом лекарственных препаратов (оральных контрацептивов, противоопухолевого действия и др.) или обусловлено состоянием здоровья (например, беременностью, ограничением подвижности). Однако, как отмечалось выше, большинство людей с наличием постоянных или временных факторов риска тромбоза не страдают артериальным тромбозом, ТТВ или ТЭЛА на протяжении всей жизни, хотя и имеют вероятность развития этой патологии. Понимание последнего представляется необходимым прежде всего для обоснования проведения первичной или вторичной тромбопрофилактики. Кроме того, рассмотрение этих вопросов важно, учитывая неоднозначность терминологии, используемой рядом известных авторов [Баркаган З.С., 1996; Воробьев А.И. и др., 2001; Seghatchian M.J. et al., 1996; Taylor F. et al., 2001], что дезориентирует врачей и является причиной, во многих случаях, как показывает практика, установления необоснованных заключений.

Частое заблуждение среди диагностов сегодня – замена понятия «фактор (или факторы) тромбогенного риска» на понятие «тромбофилия». Таким образом, носительство той или иной известной протромбогенной мутации или полиморфизма генов (участников гемостатических реакций и обмена метионина) нередко рассматривается и диагностируется как тромбофилия. С другой стороны, термины «тромбофилия» и «повышенная свертываемость крови» часто используют как синонимы, в то время как на самом деле это понятия различны.

Повышенная свертываемость крови, или гиперкоагуляционный синдром/состояние, – это лабораторный феномен (фенотип), посредством которого «*in vitro*» специальными методами анализа гемостаза распознаются активация тромбоцитов и процессы образования фибрина, подавление фибринолитических реакций, повреждение эндотелия кровеносных сосудов, которые сопровождаются такими проявлениями, например, как тромби-

рование иглы при венепункции, или замедление венозного кровотока. Повышенная свертываемость крови может провоцироваться лекарствами, используемыми для лечения кровотечения при гемофилии, сепсисом, воспалением, хирургическим вмешательством, стазом крови, атеросклерозом, чрезмерными стрессорными воздействиями и другими факторами. Но она может проявляться и гипокоагуляцией при анализе результатов коагулограммы (при наличии ВА или дисфибриногемии, варфариновых некрозах кожи или ГИТ-2) [Момот А.П., 2006].

В 1995 г., через 30 лет после появления сообщения О. Egeberg о наследственном дефиците антитромбина, вызывающем тромбофилию, ВОЗ и Международное общество по тромбозу и гемостазу (ISTH) определили наследственную тромбофилию как необычную наклонность к тромбозу с ранним возрастным началом, отягощенностью семейного анамнеза, степенью тяжести тромбоза, непропорциональной известному причинному фактору и эпизодам рецидивов тромбоза [World Health Organization..., 1995]. Согласно же описанию З.С. Баркагана под *гематогенной тромбофилией* можно понимать все наследственные (генетически обусловленные) и приобретенные (вторичные, симптоматические) нарушения гемостаза, которым свойственна предрасположенность к раннему появлению и рецидивированию тромбозов, тромбоэмболий, ишемий и инфарктов органов [Баркаган З.С., 2005].

Тем не менее в июне 2008 г. опубликована обновленная версия практических клинических рекомендаций Американской коллегии торакальных врачей по антитромботической и тромболитической терапии (АССР), которая определила тромбофилию как наличие одного или более следующих признаков: дефицит антитромбина, дефицит протеина С, дефицит протеина S, резистентность активированному протеину С, мутация фактор V Лейден, мутация протромбина G20210A, гипергомоцистеинемия, гомозиготное носительство термолабильного варианта метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), антифосфолипидных антител (ВА или антикардиолипидные антитела), увеличение активности фактора VIII или сниженный уровень протеина Z [Bates S.M. et al., 2008].

Таким образом, можно заключить, что тромбофилия – это наследуемый или приобретенный клинический фенотип, опре-

деляющий предрасположенность или восприимчивость к тромбозу в более молодом, чем в общей популяции возрасте, при ряде известных дефектов гемостаза, заболеваний и патологических состояний (табл. 1).

Таблица 1

Наиболее часто встречающиеся нарушения гемостаза, обуславливающие склонность к тромбозу (по: [Kyrle P., Eichinger S., 2005])

Нарушения	Распространенность в популяции, %	Распространенность у больных с венозными тромбозами, %	Метод диагностики	Исследование во время беременности	Диагностика при остром тромбозе	Диагностика на фоне антикоагулянтной терапии
Антифосфолипидный синдром	1-2	5	ВА, антитела к кардиолипину и β_2 -гликопротеину I	Да	Да	Да
Дефицит антитромбина	0,2-0,4	3-8	Определение активности	Да	Нет	Нет
Дефицит протеина С	0,5	3	Активный протеин С	Да	Нет	Нет
Дефицит протеина S	0,03-0,13	3	Протеин S общий и свободный	Да	Нет	Нет
Фактор V Лейден G1691A	5	20	АПС-резистентность ПЦР	Нет	Да	Да
- гетерозигота - гомозигота	0,02	-		Да	Да	Да
Мутация гена протромбина G20210A	2-3	6	ПЦР	Да	Да	Да
Гипергомоцистеинемия	-	8-25	Уровень гомоцистеина в плазме	Да	Не выяснено	Да
МТГФР 677Г (гомозигота)	10	25	ПЦР	Да	Да	Да

Сразу после открытия связи эпизодов тромбоза с носительством врожденных факторов тромбогенного риска создается впечатление, которое остается и сегодня, что у всех лиц с таким риском развивается тромбоз. Однако многие специалисты отрицают значимость генетических отклонений для возникновения тромбоза, что аргументируется не всегда видимой связью между этими явлениями. Действительно, прямая ассоциация может быть сомнительной, о чем свидетельствует ряд публикаций, в том числе ретроспективное когортное семейное исследование с привлечением 723 родственников первой и второй линии для 150 пациентов, которые имели наследственные дефициты и посещали два медицинских итальянских центра по тромбозу в Милане и Риме [Martinelli I. et al., 1998]. Собранные в этом исследовании данные представляют интересную информацию о величине тромботического риска у лиц с врожденными дефектами в системе физиологических антикоагулянтов, проявляемость которого сравнительно не велика. Согласно J. Heit et al. (2005) кумулятивная пожизненная вероятность возникновения тромбоза (пенетрантность) среди носителей наиболее часто встречающейся семейной тромбофилии (фактор V Лейден) составляет лишь около 10%. Таким образом, у 90% носителей этой аномалии имеется лишь постоянный фактор риска, который в исследуемый промежуток жизни не проявил себя эпизодом тромбоза.

В соответствии с приведенными в таблице 2 данными более высокий риск возникновения венозного или артериального тромбоза был найден у лиц с дефицитом антитромбина, протеина С или протеина S, а также мутации фактор V Лейден по сравнению с людьми, не имеющими этих отклонений. Риск тромбоза для людей с мутацией фактор V Лейден был ниже, чем риск у тех, кто имел все другие три коагуляционных дефекта (0,3, 95% CI 0,1–1,6), даже тогда, когда артериальный и поверхностный венозный тромбоз были исключены и анализ был ограничен глубоким венозным тромбозом (0,3, 95% CI 0,2–0,5). В исследовании [World Health Organization., 1995] не было найдено ассоциации между изучаемыми дефектами коагуляции и артериальным тромбозом.

Таблица 2

Относительный риск и годовая частота для всех тромбозов, ТГВ и поверхностных вен нижних конечностей, а также венозного тромбоемболизма для каждой причины тромбофилии [World Health Organization., 1995]

	Да	Нет	Условное отношение рисков (95% CI)	Частота тромбозов на 100 пациентов в год
Все тромбозы				
Нет изучаемого дефекта	15	312	1	0,15
Дефицит антитромбина	30	55	8,1 (3,4–19,6)	1,0
Дефицит протеина С	19	45	7,3 (2,9–18,4)	0,85
Дефицит протеина S	15	26	8,5 (3,5–20,8)	1,0
Фактор V Лейден (G1691A)	35	165	2,2 (1,1–4,7)	0,29
Венозный тромбоз				
Нет изучаемого дефекта	9	312	1	0,09
Дефицит антитромбина	30	55	8,1 (3,4–19,6)	1,0
Дефицит протеина С	16	45	7,4 (2,7–20,5)	0,72
Дефицит протеина S	12	26	10,4 (3,8–28,7)	0,78
Фактор V Лейден (G1691A)	30	165	4,6 (1,5–13,7)	0,25
Венозная тромбоемболия				
Нет изучаемого дефекта	3	312	1	0,03
Дефицит антитромбина	27	55	42,8 (10,2–180,3)	0,93
Дефицит протеина С	14	45	31,3 (7,0–138,8)	0,63
Дефицит протеина S	12	26	35,7 (7,9–160,1)	0,78

Примечание. Отношение условных рисков рассчитано с учетом пола и семейного статуса.

Наиболее частым проявлением венозного тромбоза был глубокий венозный тромбоз с наличием и без наличия легочной эмболизации (90% при дефиците антитромбина, 88% – протеина С, 100% – протеина S, и 57% – мутации фактор V Лейден), но относительно умеренные проявления, такие как тромбоз поверхностных вен, наблюдались сравнительно чаще при мутации фактор V Лейден (43%). Однако и в этом исследовании отмечено, что тромботический риск усиливается сопутствующими

факторами риска в виде хронических заболеваний, беременности, оперативного вмешательства или травмы [Bovill E. et al., 1999]. Не включенными в данное исследование были лица, имеющие замену нуклеотида G→A в гене протромбина, которая имеется у 1–2% здоровых лиц в контроле и у 18% в обследуемой популяции с личным тромбозом или имеющих тромбоз в семейном анамнезе. Эта мутация, независимо от других факторов, дает 2,8-кратное увеличение риска венозного тромбоза [Giro-lami A., Vianello F., 2000].

Тромбоз не является обязательным исходом при тромбофилии, но пациенты с наследственным дефицитом протеина C, протеина S или антитромбина имеют высокий абсолютный риск рецидива тромботических событий. Встречаемость приведенных причин генетически обусловленной тромбофилии составляет 24–37% у лиц с тромбозом в сравнении с 10% у лиц без этих вариантов тромбофилии, но имеющих тромбоз [Bovill E. et al., 1999; Makris M., 2009; Pabinger I., Schneider B., 1996; Rosendaal F., 1999].

В задачи настоящего издания не входило подробное рассмотрение и классификация факторов тромбогенного риска, этому будет посвящено следующее издание, но важно учитывать все факторы, предрасполагающие к тромбозу, сопровождающие человека на протяжении всей его жизни, учет которых позволит определить индивидуума в группу высокого тромбогенного риска. К числу врожденных факторов тромбогенного риска можно отнести:

- глубокий дефицит физиологических антикоагулянтов (антитромбина, витамин К-зависимых протеинов C, S или Z, а также ингибитора внешнего пути свертывания – TFPI);
- мутации и полиморфизмы генов – участников гемостатических реакций (мутация фактор V Лейден, протромбина и др.);
- стойкое увеличение концентрации и/или активности факторов свертывания крови I (фибриногена), II, VIII, IX или XI;
- врожденную депрессию фибринолиза в связи со снижением уровня плазминогена, дисплазминогемией, дефицитом тканевого активатора плазминогена (ТРА), избыточным уровнем ингибитора активатора плазминоге-

- на I типа (PAI I) или избытком активируемого тромбинного ингибитора фибринолиза (TAFI);
- гипергомоистеинемия в связи с дефектом ферментов, участвующих в метаболизме метионина;
 - ряд гематологических заболеваний, сопровождающихся патологией эритроцитов и тромбоцитов (врожденные полиглобулии, серповидно-клеточная анемия, талассемия, синдром «липких» тромбоцитов);
 - сосудистые аномалии (мальформации, артерио-венозные шунты, врожденные пороки сердца, повышенная извитость артерий и др.).

Учитывая изложенное и собственный, опыт мы считаем, что связь генетических факторов риска с тромбозом объективна и обоснованна, но ее необходимо оценивать в контексте присутствия у пациента не какого-либо одного фактора риска, а их комбинаций, в том числе сочетания врожденных (постоянных) и временных (преходящих) факторов риска (см. рис. 16, 17). Ведь по существу нет оснований для разделения на моногенные и комбинированные/мультигенные тромбофилии, тромбоз – всегда многовекторное событие, возникающее в силу комбинации ряда предрасполагающих к нему причин в данный момент времени, и возражением к этому не могут служить результаты недостаточного обследования больных на наличие имеющихся факторов тромбогенного риска.

В соответствии с имеющимися в литературе данными риск венозных тромбозомболических осложнений (ВТО) среди носителей мутации фактор V Лейден увеличивается с возрастом; большинство случаев происходит в возрасте старше 50–55 лет [Heit J. et al., 2005; Juul K. et al., 2004]. У гомозиготных носителей мутации фактор V Лейден наблюдается в 80 раз увеличенный риск тромбоза, и этот риск может быть еще выше под воздействием окружающей среды или других генетических факторов риска [Ehrenforth S. et al., 2004]. Пенетрантность фенотипа тромбоза увеличивается среди пациентов с многочисленными генетическими дефектами (например, сопутствующий дефицит антитромбина, протеинов C или S) [Vossen C. et al., 2004]. Этот же показатель зависит от клинического воздействия приобретенных факторов риска, таких как применение оральные контра-

цептивов (ОК), беременности, или оперативного вмешательства. В частности, относительный риск ВТО среди гетерозиготных носителей мутации фактор V Лейдена, принимающих эстроген-содержание ОК, увеличивается в 30 раз [Vandenbroucke J. et al., 1994; Wu O. et al., 2005].

Приведенные выше положения были обоснованы также клинико-генетическими исследованиями, проведенными сотрудниками Алтайского гематологического центра и лаборатории гематологии ЦНИЛ Алтайского медицинского университета в период с 2007 по 2010 г., у больных с ранними (до 45 лет) ишемическими инсультами (165 наблюдений), при синдроме потери плода (477 женщин) и в сплошной выборке у подростков (962 ребенка в возрасте 12-15 лет), проживающих в Барнауле Алтайского края [Момот А.П. и др., 2009 а,б,в].

Очень важен тот факт, что, согласно рекомендациям Международного общества по тромбозам и гемостазу (ISTH), диагноз АФС считается достоверным при сочетании хотя бы одного или более клинических проявлений данной патологии с результатами специальных лабораторных признаков (эффекты волчаночного антикоагулянта, антифосфолипидные антитела в диагностическом титре) (табл. 3).

Считаем возможным и необходимым распространить данные критерии диагностики (состоявшийся эпизод тромбоза при наличии тех или иных факторов риска) на все тромбофилии в целом, что позволит устранить терминологическую путаницу и очертить условия для применения соответствующей профилактической или лечебной тактики предупреждения или лечения тромбозов.

К сожалению, до настоящего времени нет единого взгляда на значимость тех или иных факторов риска и стандартизированных подходов к оценке величины тромбогенной опасности, поскольку невозможно предопределить в каждом клиническом случае их критичность. В публикациях различных авторов делаются акценты на особенностях оперативного вмешательства и применяемого наркоза либо на детализацию преимущественно приобретенных факторов риска [Heit J., et al., 2000; Kyrle P., Eichinger S., 2005; White H., Murin S., 2004].

Таблица 3

Диагностические критерии антифосфолипидного синдрома
[Harris E., Pierangeli S., 2008]

Клинические критерии	Лабораторные критерии
<p>1. <u>Сосудистый тромбоз</u> Один или более случаев артериального и/или венозного тромбоза или тромбоза мелких сосудов в любом органе или ткани. Тромбоз должен быть подтвержден доплеровским исследованием или гистологически. Морфологически должны быть признаки тромбоза без значительного воспаления сосудистой стенки.</p> <p>2. <u>Патология беременности</u> - Три и более необъяснимых случая прерывания беременности до 10 недель гестации с исключением анатомических, генетических, гормональных причин и хромосомных нарушений; - один или более случаев внутриутробной гибели нормального плода после 10 недель гестации; - один или более случаев преждевременных родов недоношенным плодом до 34 недель гестации, протекающей с выраженной фетоплацентарной недостаточностью или тяжелым гестозом.</p>	<p>1. <u>Антикардиолипиновые антитела</u> - наличие изотипов IgG и IgM в высоких титрах в двух или более исследованиях с промежутком не менее 6 недель; - выявление стандартизированным ELISA методом антител IgG, IgM к β_2-гликопротеину I.</p> <p>2. <u>Волчаночный антикоагулянт</u> Обнаруживается в двух или более последовательных исследованиях с промежутком не менее 6 недель.</p>

В виде меры оценки реализации факторов тромбогенного риска у тех или иных пациентов мы предлагаем к широкому использованию понятие «*состояние тромбоцической готовности*», которое способно объединить лабораторно выявляемую гиперкоагуляцию по так называемым «глобальным» тестам коагулограммы, увеличение содержания в крови маркеров активации гемостаза, подавление антикоагулянтной и фибринолитической активности и ряд клинических признаков предтромботического состояния – повышение вязкости крови, замедление

венозного кровотока (по данным ультразвукового дуплексного исследования сосудов), преходящие и начальные признаки органной дисфункции. Соответственно, реализация этой готовности при сохраняющихся факторах риска и их умножении (операцией, травмой, воспалительной реакцией, неотложным состоянием, приемом эстрогенов и др.) проявляется *тромбозом*, под которым может пониматься патологическое образование значительных масс фибрина, которое происходит в сосудах с клиническими симптомами одной или более артериальных и/или венозных окклюзий, и выявляемого визуальными методами исследования (ультразвуковыми, при контрастировании сосудов и др.). Практически важно то, что верифицированное, установленное по ряду маркеров состояние тромботической готовности может являться основанием к принятию мер профилактической фармакологической направленности в целях первичной или вторичной тромбопрофилактики.

Исследования последних лет, проводимые с нашим участием на базе Алтайского государственного медицинского университета, показали, что состояние тромботической готовности может формироваться и при воздействии на организм чрезмерных по силе либо длительности стрессоров по достижении ими определенного критического уровня [Киселёв В.И. и др., 2008; Шахматов И.И., 2010, 2011; Шахматов И.И., Вдовин В.М., 2011]. По существу, претромбоз представляет собой универсальную дизадаптивную реакцию системы гемостаза на дистресс, являясь одним из компонентов в комплексе патологических изменений, регистрируемых в рамках генерализованной ответной реакции организма на дистрессорное воздействие. Отсутствие зависимости между возникновением признаков претромбоза и специфичной (природой) дистрессора позволяет думать о неспецифичности данной реакции со стороны системы гемостаза и выделении этого фактора тромбогенного риска в число ведущих предикторов тромбоза.

2. Клинико-лабораторные маркеры тромботической готовности

Как известно, активация системы гемостаза, потенциально способная привести к развитию тромбоза, сопровождается появлением в крови специфических маркеров, отражающих степень повышения гемостатического потенциала крови. С учетом современных представлений о гемостазе и появления новых, более чувствительных лабораторных исследований в одном из недавних международных руководств выделяются следующие маркеры тромбообразования, возникающие в естественных условиях [Practical hemostasis and thrombosis..., 2005]:

Коагуляционный гемостаз:

- активированный фактор VII (Ф-VIIa);
- комплекс тромбин-антитромбин (ТАТ);
- фрагмент протромбина 1 + 2 (FP₁₊₂);
- фибринопептиды А и В (FPA, FPB);
- фрагмент, освобождающийся после активации протеина С;
- продукты активации факторов IX и X.

Фибринолиз:

- тканевой активатор плазминогена (tPA);
- ингибитор тканевого активатора плазминогена 1-го типа (PAI-1);
- плазминоген;
- комплекс плазмин-антиплазмин (РАР);
- продукты распада фибриногена и фибрина (FDP);
- растворимые фибрин-мономерные комплексы или растворимый фибрин (SFMC, SF);
- D-димеры (D-dimer).

Тромбоциты:

- β -тромбоглобулин;
- тромбоцитный фактор 4 (TF 4);
- тромбоксан А₂ (ТхА₂);
- растворимый Р-селектин;
- мембранные маркеры CD62, CD63.

Лейкоциты:

- моноциты;
- тканевой фактор (TF);

- фактор ткани S;
- *нейтрофилы*;
- мембранный маркер CD11b;
- эластаза;
- миелопероксидаза.

Эндотелий:

- тромбомодулин;
- фактор Виллебранда (fW);
- тканевой активатор плазминогена (tPA);
- ингибитор тканевого активатора плазминогена 1-го типа (PAI 1);
- SE-селектин;
- s-VCAM и s-ICAM-1
- ингибитор тканевого пути свертывания (TFPI).

Их можно объединить в следующие основные группы:

- пептиды, образующиеся во время протеолитических реакций (FP₁₊₂, фрагмент, освобождающийся после активации протеина C, продукты активации факторов IX и X, фибринопептиды);
- свидетели ингибирования коагуляционных и фибринолитических реакций (TAT, PAP);
- продукты распада фибрина (D-димеры) и фибриногена (FDP);
- другие маркеры, описывающие активацию клеток крови и эндотелия, участвующих в гемостатических реакциях.

В последнее десятилетие появились и новые комплексные подходы, претендующие на особую роль в распознавании тромботической готовности, основная характеристика которых сводится к возможности оценки напряжения конечного этапа свертывания – генерации тромбина и фибринообразования при сложении всех потенциальных векторов активации системы гемостаза (тест генерации тромбина, определение пространственной динамики роста фибринового сгустка). Ниже предпримем попытку охарактеризовать и систематизировать как традиционные, так и новые методические подходы в этой области.

2.1. Свидетели активации свертывания крови и фибринолиза

Многие из них на протяжении десятилетий с успехом используются в широкой клинической практике для выявления состояния предтромбоза, распознавания различных видов внутрисосудистого свертывания крови и контроля за применением антикоагулянтов с различным механизмом действия. Гепарины и кумарины, а также пришедшие недавно в клинику прямые ингибиторы фактора Ха (ривароксабан) и фактора IIa (дабигатран) способствуют снижению тромбемии, что отражается на уровне ее маркеров.

Надежное определение свидетелей (маркеров) активации гемостаза весьма чувствительно к преаналитическому этапу, погрешности которого могут свести усилия исследователя к получению недостоверных результатов [Гильманов А.Ж., 2009; Пана-ян Л.П., Князева Е.С., 2002; Мамаев А.Н. и др., 2011; Момот А.П., 2006; Наместников Ю.А., 2010].

2.1.1. Фактор VIIa

Активация VII фактора (Ф-VII) происходит посредством протеолиза (аналогично активируются факторы IX, X, XII и II), а также аутоактивации Ф-VII фактором VIIa.

В соответствии с современной моделью свертывания крови Ф-VIIa формирует комплекс с тканевым фактором (TF), в результате чего образуется мощный ферментативный комплекс (Ф-VIIa-TF), инициирующий коагуляцию (рис. 1). Этот комплекс в последующем активирует Ф-IX и Ф-X [Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И., 2008; Пантелеев М.А. и др., 2011; Ханин М.А., Тюрин К.В., 2007; *Practical hemostasis and thrombosis.*, 2005].

Активированный фактор X (Ф-Xa) на фосфолипидных мембранах тромбоцитарного и эндотелиального происхождения преобразует протромбин (Ф-II) в тромбин (Ф-IIa). При этом небольшое количество изначально сформированного тромбина активирует ряд факторов, что критично для реализации второй фазы свертываемости крови – фазы распространения (факторы V, VIII и XI).

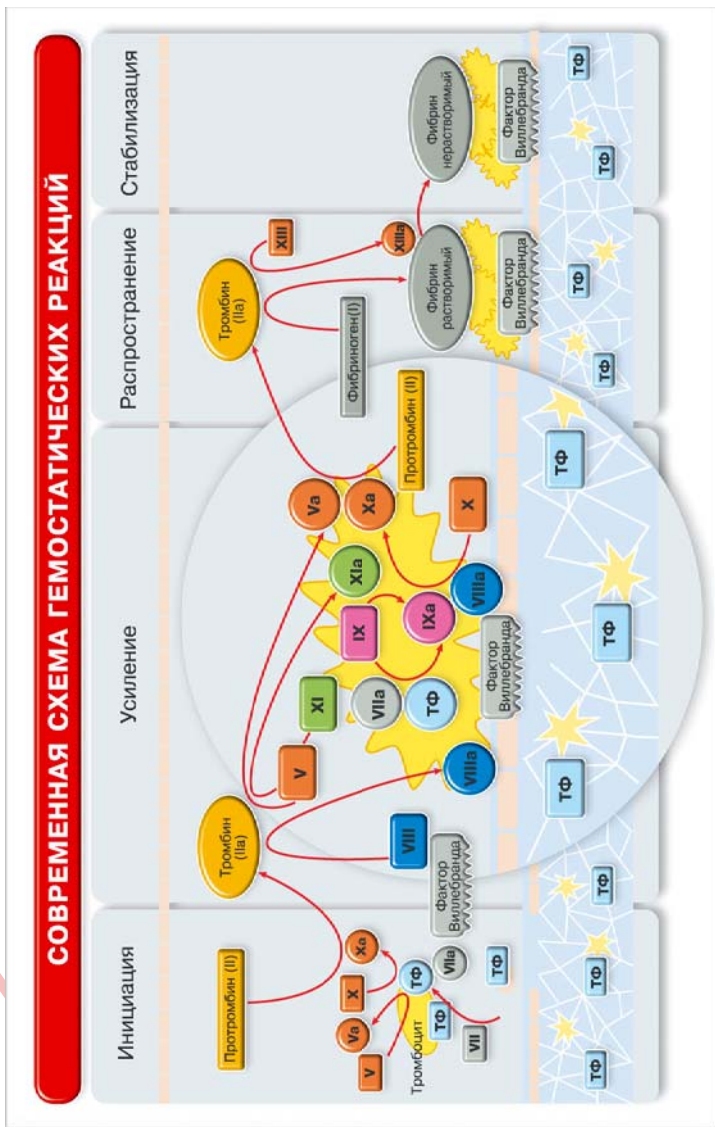


Рис. 1. Современная схема гемостатических реакций (приведено по: [CSL Behring GmbH, 2008]):

ТФ – тканевой фактор; II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XIII – факторы свертывания крови; то же с литерой «а» – активированные факторы свертывания крови

Уровень Ф-VIIa в плазме составляет в норме около 1% от пула Ф-VII (или около 5 нг/мл). Для исследований в области начальной, пусковой активации свертывания крови может быть использован набор реагентов *IMUBIND® Factor VIIa ELISA* фирмы American Diagnostica Inc. (Cat. №827). Этот метод позволяет определить количество как свободного Ф-VIIa, так и Ф-VIIa в комплексе с тканевым фактором (Ф-VIIa-TF) [Morrissey J. et al., 1993].

2.1.2. Тромбин

Другой активированный фактор свертывания – тромбин (фактор IIa) – относится к коротко живущим ферментам (*in vivo*), период его активной жизни составляет от нескольких секунд до нескольких минут, он инактивируется антитромбином и тромбомодулином, в связи с чем его прямое определение в крови не представляется возможным. Тем не менее свидетели его присутствия в кровотоке на протяжении ряда десятилетий привлекают пристальное внимание исследователей.

2.1.3. Фрагмент протромбина 1+2

Прежде чем в крови появляются значимые количества тромбина и он приобретает способность коагулировать фибриноген в фибрин, каскадная активация свертывающей системы приводит к генерации фактора Ха и зависимой от него протеолитической деградации протромбина в тромбин (см. рис. 1). В результате последней реакции в крови накапливаются фрагменты протромбина 1+2 (PF_{1+2}), определение которых (как свидетелей тромбинемии) нередко используется в диагностической практике и при научных исследованиях [Practical hemostasis and thrombosis., 2005]. Эти фрагменты имеют относительно малый период полувыведения из кровотока – до 1,5 часов, а количество их пропорционально количеству образовавшегося тромбина (см. табл. 1).

Для определения PF_{1+2} в плазме крови может быть использована тест-система на основе ИФА *Reagents for Determination of Human Prothrombin Fragment F 1+2* фирмы SIEMENS/DADE BEHRING (Cat. №OWV11).

2.1.4. Производные фибриногена

Для описания других методов оценки состояния высокой тромбогенности остановимся на фибриногене и его метаболизме «*in vivo*». Данный белок относится к одним из ведущих субстратов свертывания, который при превращении в фибрин способен останавливать кровотечение во взаимодействии с тромбоцитами и другими клетками крови вблизи поврежденного сосуда. Еще в 1686 г. *M. Malpighi* описал структурную основу кровяного сгустка как белое фибриллярное вещество, которое можно видеть после промывания красного кровяного сгустка обычной водой [*Луговской Э.В., 2003*]. Данный крупномолекулярный белок (молекулярная масса 330–340 кДа), присутствующий в плазме крови в сравнительно высокой концентрации (2,0–4,0 г/л), обуславливает повышенную вязкость плазмы, а его универсальность проявляется участием в процессах как гемостаза, так и воспаления, идущих в тесной взаимосвязи [*Кузник Б.И., 2010; Шойхет Я.Н., Момот А.П., 2008; Bonnar J., 1996; Schouten M. et al., 2008*].

Таблица 4

Время жизни отдельных маркеров тромбинемии в кровотоке
[*Davie E. et al., 1991*]

Маркеры тромбинемии	Время полужизни
Фрагмент протромбина (F ₁₊₂)	30–90 мин
Тромбин-антитромбиновый комплекс (ТАТ)	до 2 часов
Растворимые фибрин-мономерные комплексы (SFMC)	несколько часов
Фибринопептид А (FPA)	3–5 мин
D-димеры (D-dimer)	от 6 до 24 часов*
Тромбоцитарный фактор 4 (PF4)	около 5 мин

Примечание. * – продолжительность полужизни в зависимости от активности моноцитов/макрофагов.

Основной объект действия тромбина – молекула фибриногена – имеет димерную структуру и состоит из трех пар полипептидных цепей $[(A-\alpha)(B-\beta)(\gamma)]_2$, ковалентно связанных между собой дисульфидными связями. Свободные концы $A\alpha$ - и $B\beta$ -цепей фибриногена в последующем являются источниками фибринопептидов А и В. Именно на эти области фибриногена и направлена протеолитическая активность тромбина (рис. 2).

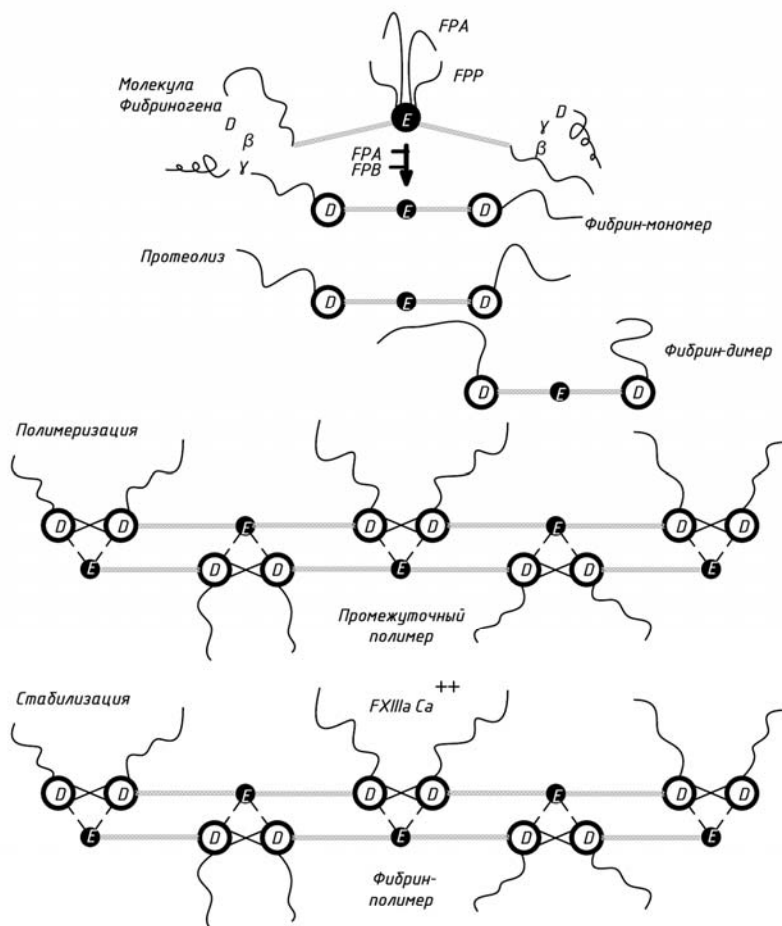


Рис. 2. Схема превращения фибриногена в фибрин

В фибриногене различают три домена: один центральный (домен E) и два периферических (домены D). Обе субъединицы данного белка имеют половину центрального домена E и один периферический - D. Аминотерминальные концы всех цепей находятся в домене E, карбокситерминальные участки цепей β и γ находятся в доменах D, а Aα-цепи образуют два особых дополнительных домена - αC, которые в целом характеризуют не

только структуру белка, но и его функциональные свойства [Белицер В.А., 1982; Медведь Л.В., 1985; Blomback B., Blomback M., 1972]. В частности, в доменах D и E имеются специфические центры, ответственные за стыковку фибрин-мономеров и образование полимера фибрина, а домены αC ответственны за глобулярное строение молекулы фибриногена и играют важную роль в механизме взаимного узнавания мономеров фибрина в их взаимодействии.

Тромбин последовательно отщепляет от молекулы фибриногена две пары фибринопептидов: сначала А, затем В, путем гидролиза четырех связей – Arg–Gly. При этом образуются фибрин-мономеры со структурой $[\alpha\text{-}\beta\text{-}\gamma]_2$, имеющие в E-домене (на местах отделения фибринопептидов) участки с повышенной реакционной способностью.

2.1.4.1. Фибринопептид А

Фибринопептид А (FPA) – это пептид с молекулярной массой 1536 Да, состоящий из 16 аминокислотных остатков, фрагмент N-концевого участка $A\alpha$ -цепи фибриногена, образующийся при действии тромбина на фибриноген. Он относится к прямым, коротко живущим маркерам тромбинемии, и его определение довольно часто применяется в зарубежной диагностической практике, о чем свидетельствует ряд опубликованных работ [Amiral J. et al., 1984; Auger M. et al., 1987; Coccheri S. et al., 1982; *Practical hemostasis and thrombosis...*, 2005; Soria J. et al., 1980]. Несмотря на высокую информативность, его определение, как и оценку содержания PF_{1+2} , ограничивает короткий период полужизни (в связи с быстрым удалением через почки), строгость соблюдения преаналитического этапа и формат определений – ELISA, предполагающий в классическом варианте длительный, клинически неудобный период до получения результатов исследований [Гильманов А.Ж., 2009; Папаян Л.П., Князева Е.С., 2002; Наместников Ю.А., 2010].

Определение фибринопептида А возможно при использовании тест-системы для иммуноферментных определений «PFA ELISA» (Cat. №635) производства компании «American Diagnostica Inc.».

2.1.4.2. Растворимые фибрин-мономерные комплексы

В завершении реакций гемокоагуляции под действием тромбина происходит преобразование растворимых в плазме крови молекул – фибриногена и его производных – в нерастворимые, с образованием полимерной сети в виде геля или сгустка фибрина. Главная роль в этом принадлежит фибрин-мономеру, способному кратно наращивать свою массу при взаимодействии с другими мономерами фибрина и фибриногеном [Murano G., 1983]. Это неферментативный, тромбин-независимый процесс, при котором фибрин-мономеры взаимодействуют по принципу «конец с серединой», так, что E-домен одной молекулы через свои реакционные участки оказывается связанным с находящимися рядом четырьмя D-доменами других молекул фибрин-мономеров слабыми нековалентными связями. В итоге образуются комплексы (обозначаемые в литературе как протофибриллы, или олигомеры фибрина, растворимый фибрин (SF) или растворимые фибрин-мономерные комплексы – РФМК, SFMC), состоящие из 2–15 субъединиц фибрин-мономера и фибриногена. Критическая величина молекулярной массы, при которой растворимость протофибрилл еще не утрачивается при +37 °С, составляет примерно 10–12 масс фибриногена, или около 3,5–4,5 млн Да [Muller-Berghaus G. et al., 1975, 1993]. Д.М. Зубаиров и соавт. (1985) показали, что РФМК могут быть как промежуточными, так и конечными продуктами реакции, что наблюдается лишь при относительно низких концентрациях тромбина. Выпадение фибрина начинается после того, как концентрация РФМК в плазме достигает 24–26% от общего содержания фибриногена [Момот А.П., 1997, 1990; Соболева И.В. и др., 1978; Gaffney P., 1982; Greenberg C.S. et al., 1985]. Таким образом, при высоких концентрациях фибрин-мономеров их взаимодействие завершается образованием сгустка фибрина, тогда как при низких или блокаде реакции полимеризации (фрагментом D, D-димерами, миеломными белками) фибринообразование тормозится на стадии формирования РФМК. Выявление последних в повышенном количестве как наиболее долгоживущих в кровотоке (см. табл. 4) используется в целях документации тромбинемии и внутрисосудистого свертывания крови [Баркаган З.С., Момот А.П., 2001; Зубаиров Д.М., 2000].

На протяжении последних 50 лет, начиная с работ, опубликованных *B. Lipinski, K. Worowski (1968)* и *H. Godal et al. (1971)*, велись интенсивные поиски методических подходов, позволяющих быстро и надежно определять комплексы фибрин-мономера с фибриногеном и продуктами деградации фибриногена и фибрина – РФМК, а предложенные в разное время методы (β -нафтоловый, этаноловый, протаминсульфатный, тест склеивания стафилококков – «клампинг-тест») нашли в 90-е гг. прошлого века широкое распространение в клинической практике, на наш взгляд, с немалой пользой для больных. До настоящего времени во многих клинико-диагностических лабораториях нашей страны с разрешения Министерства здравоохранения РФ (РУ №ФС 01010348/4326-06) используется один из последних с точки зрения времени описания и предложения к применению паракоагуляционных тестов – орто-фенантролиновый (О-ФТ), разработанный в Алтайском гематологическом центре [*Момот А.П. и др., 1996; Момот А.П. et al., 1996*]. Этот метод был случайной диагностической находкой и прошел проверку на специфичность и чувствительность с использованием метода гель-хроматографии, в пробах смешивания плазмы с тромбином низкой активности и при калибровке с помощью высокоочищенного фибрин-мономера (табл. 5) [*Момот А.П., 1997; Момот А.П. и др., 1996*].

Таблица 5

Зависимость времени положительной реакции О-ФТ от концентрации фибрин-мономера (ФМ), внесенного в плазму крови

Время, сек	Концентрация ФМ, г/л $\times 10^{-2}$	Время, сек	Концентрация ФМ, г/л $\times 10^{-2}$
5-6	28,0	24-25	9,0
7	26,0	26	8,5
8	24,0	27-28	8,0
9	22,0	29-31	7,5
10	21,0	32-33	7,0
11	19,0	34-36	6,5
12	17,0	37-40	6,0
13	16,0	41-45	5,5
14	15,0	46-54	5,0
15	14,0	55-69	4,5
16	13,0	70-87	4,0
17-18	12,0	88-120	3,5
19-20	11,0	свыше 120	3,0
21-23	10,0		

В ответ на критику ряда специалистов в области клинической гемостазиологии в его адрес, надо заметить, что О-ФТ носит скрининговый характер, со всеми недостатками и преимуществами этой группы методов, и привлекает к себе внимание не только своей доступностью и малым временем, необходимым для проведения исследования, но и обоснованностью к применению. В частности, при разработке метода была проведена его широкая клиническая апробация [Момот А.П. и др., 1996]. В ходе этой апробации О-ФТ был выполнен на 345 образцах плазмы здоровых людей (в возрасте от 16 до 48 лет) и у 912 больных в острой стадии заболевания (в возрасте с 12 до 57 лет), из них у 500 больных – с острым и подострым ДВС-синдромом разного генеза, у 312 больных – с острыми тромбозами и тромбоземболиями, а также 100 больных – с геморрагическим микротромбоваскулитом (табл. 6).

У 94,2% здоровых людей контрольной группы положительный результат реакции в О-ФТ определялся в интервале от 70 до 150 сек или вообще не определялся на протяжении более длительного времени, что по табличным данным соответствовало содержанию РФМК от 3,0 до 4,0 г/л $\times 10^{-2}$. В остальных случаях (5,8%) время по О-ФТ составило 52–69 сек, и концентрация РФМК, соответственно, находилась в диапазоне от 4,5 до 5,0 г/л $\times 10^{-2}$. В среднем, в контроле, уровень РФМК в плазме (в эквиваленте фибрин-мономера) составил $3,38 \pm 0,02$ г/л $\times 10^{-2}$, с пределами нормальных колебаний ($\pm 1,5 \delta$) от 2,72 до 4,03 г/л $\times 10^{-2}$.

У обследованных больных с острым и подострым ДВС-синдромом среднее содержание РФМК в плазме по О-ФТ достоверно возрастало и превышало среднюю норму в 3,7–4,6 раза, без существенной разницы между этиопатогенетическими видами ДВС. При этом во всех наблюдениях изучавшийся показатель превышал верхнюю границу нормы. Несколько менее выраженное, но также достоверное ($P < 0,001$) повышение показаний О-ФТ отмечалось при тромбозах магистральных сосудов, причем у больных с тромбоземболией в бассейне легочной артерии РФМК был достоверно выше, чем у больных с острым инфарктом миокарда, мозговыми инсультами и геморрагическим микротромбоваскулитом Шенлейна-Геноха. Наименьшим, но также достоверным по сравнению с контролем это повышение было у больных с тромбозом сосудов сетчатки.

Таблица 6

Результаты определения РФМК в плазме по данным О-ФТ
(в эквиваленте фибрин-мономера)

Заболевания	Число больных	Количество РФМК, г/л × 10 ⁻²
I. ДВС-синдром		
- акушерский:	114	12,8±0,5
в т.ч. при токсикозе беременных	86	12,9±0,6
в т.ч. при антенатальной гибели плода	28	12,6±1,1
- послеоперационный:		
в т.ч. в связи с акушерской патологией	46	13,8±0,8
в т.ч. после аденэктомии	72	13,8±0,8
- токсико-инфекционный:	268	14,8±0,4
в т.ч. при локальной инфекции	64	15,7±0,7
в т.ч. при сепсисе	125	14,0±0,6
в т.ч. при ожоговой болезни	79	15,4±0,7
- в стадии токсемии	31	14,9±1,1
- в стадии септикотоксемии	48	15,7±0,9
II. Тромбозы		
- глубоких вен нижних конечностей без ТЭЛА	30	8,0±0,8
- то же с ТЭЛА	34	11,2±0,7
- поверхностных вен нижних конечностей	110	8,6±0,5
- периферических артерий	23	10,8±0,6
- инфаркт миокарда	57	8,3±0,5
- инсульты	45	11,6±0,6
- тромбоз сосудов сетчатки	13	6,5±0,8
III. Геморрагический микротромбоваскулит	100	9,3±0,4
IV. Контроль	345	3,38±0,02

При выяснении вопроса о специфичности О-ФТ как пробы, определяющей фибрин-мономер и его комплексы (РФМК или растворимый фибрин), был применен метод гель-фильтрации, позволяющий идентифицировать эти высокомолекулярные производные фибриногена по молекулярной массе. Исследовали плазму 28 больных с синдромом ДВС различной этиологии. Результаты хроматографии такой плазмы свидетель-

ствовали, что орто-фенантролин закономерно осаждает высокомолекулярную и наиболее подвижную фракцию производных фибриногена. В то же время тепловая дефибринация плазмы больных (10 мин при +56 °С) приводила исходно положительный результат О-ФТ в отрицательный, что подтверждало специфичность изучаемой пробы.

Наглядны результаты к сказанному результаты следующих экспериментов. К пулированной, обедненной тромбоцитами плазме, от восьми практически здоровых людей добавляли тромбин (в конечной концентрации 0,01 НИН ед./мл) и инкубировали на водяной бане при +37 °С. Через равные промежутки времени (2 мин) смесь плазмы с тромбином исследовали с помощью О-ФТ в соответствии с описанной для него методикой (см. инструкцию к набору реагентов «РФМК-тест» фирмы «Технология-Стандарт»). Измерения повторяли трижды разными наблюдателями и учитывали средний результат (рис. 3).

В данном эксперименте было определено, что О-ФТ фиксирует значительное увеличение уровня РФМК, начиная с 6–8-й мин инкубации смеси, с максимумом на 12-й минуте (до $28 \text{ г/л} \times 10^{-2}$), а также резкое снижение содержания этих комплексов сразу после образования фибринового сгустка (до $8,0 \text{ г/л} \times 10^{-2}$).

При изучении динамики показаний О-ФТ в процессе эволюции ДВС-синдрома и его лечения нами было установлено, что при формах, протекающих без выраженной гипофибриногемии, уровень РФМК по О-ФТ отражает тяжесть процесса, возрастая в наиболее тяжелых случаях до уровня более $20 \text{ г/л} \times 10^{-2}$. При успешной терапии этот показатель постепенно снижается и при выздоровлении нормализуется или приближается к нормальным значениям. В других случаях, при остро протекающих (катастрофических) формах ДВС, приводящих к глубокой гипофибриногемии, изначально высокие показания О-ФТ могут (по мере прогрессирования процесса) снижаться. Последнее, очевидно, связано с истощением источника образования фибрин-мономеров либо с рассогласованностью реакций коагуляционного каскада (коагулопатия потребления).

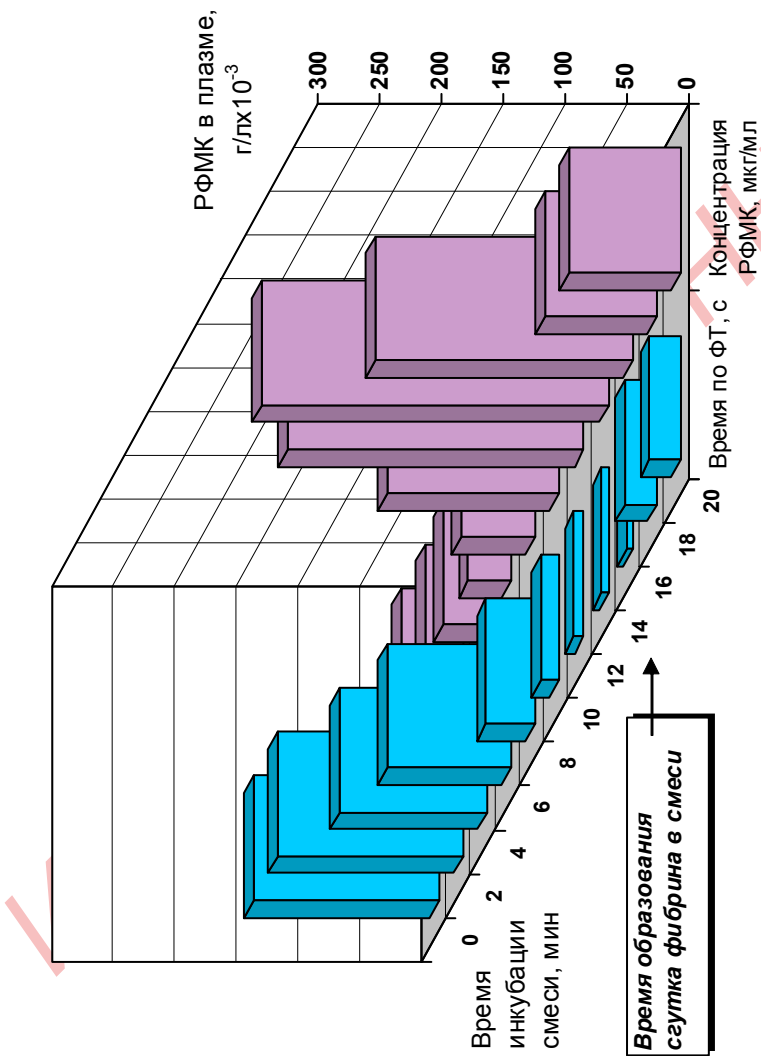


Рис. 3. Определение РФМК в смеси плазмы с тромбином низкой активности

В 2009–2010 гг. в Алтайском гематологическом центре канд. мед. наук И.А. Тараненко проведены сравнительные исследования результатов О-ФТ и общепринятых в мире тестов для документации тромбинемии у 24 больных с острыми венозными тромбозами нижних конечностей (табл. 7).

Таблица 7

Сопоставимость результатов определения РФМК в плазме крови по О-ФТ и классических маркеров тромбинемии (коэффициент корреляции Спирмена)

Фибриноген А (FPA)	Комплекс тромбин-анти-тромбин (ТАТ)	Фрагменты протромбина 1+2 (PF ₁₊₂)	Фактор VIIa	D-димеры
+0,77	+0,72	+0,54	+0,64	+0,49

Полученные данные показали хорошую линейку результатов, и обнаруженная связь во всех случаях была умеренной или высокой ($P < 0,001$), что лишнее раз подчеркнуло обоснованность применения О-ФТ в клинической практике. Понятно, строгого соответствия уровня D-димеров с другими исследованными маркерами тромбинемии мы не ожидали, поскольку D-димеры – продукт не только активации свертывания, но и состоявшегося фибринолиза.

Тем не менее согласимся с тем, что необходимо предпринять усилия для стандартизации О-ФТ в части перевода на автоматизированный учет результатов, а также создания образцов калибровочного и контрольного материалов. И то, что это отечественная разработка, а не зарубежная, не умаляет ее значение, о чем свидетельствуют многочисленные положительные отзывы из клиник, как и результаты диссертационных работ [Агаркова Т.А., 2011; Воробьева Н.А., 2005; Зимина Н.Н., 2006; Зиновьева И.Е., 2006; Киняйкин М.Ф. и др., 2009; Колесников В.В., 2005; Николаева М.Г., 2009; Чупрова А.В., 2005; Шилова А.Н., 2008; и др.].

Достижением лабораторной диагностики в части распознавания внутрисосудистого свертывания крови можно считать появившуюся возможность количественного определения РФМК иммуноферментной техникой. Они могут быть выполнены, например, с помощью метода латексного иммуноферментного анализа реагентами *Auto LIA FM* (фирмы Nissui Pharmaceutical Co Ltd, Япо-

ния) с моноклональными антителами F405, согласно методике, описанной в работе *A. Hamano et al. (2002)*. Доступно описание и других тест-систем в этом направлении – фирмы Cusabio Biotech Co., Ltd «*Human soluble fibrin monomer complex, SFMC ELISA Kit*» (Cat. №CSB-E09097h), 96 t. (www.cusabio.com) и фирмы BIOTANG Inc. «*Human soluble fibrin monomer complex, SFMC ELISA Kit*» (Cat. №HU518) (www.biotangusa.com).

Имеется ряд сообщений о клинических результатах применения данной технологии рядом японских исследователей [*Hamano A. et al., 2002; Kaniyu K. et al., 2003; Kubo T. et al., 2001; Onishi H. et al., 2007; и др.*]. В одном из них количество РФМК измерялось у пациентов, подвергшихся хирургическому вмешательству, в том числе при ДВС-синдроме. При этом использовались моноклональные антитела IF-43, специфически распознающие модифицированный тромбином фибриноген (дез-АА-и дез-ААВВ-фибриноген) [*Koga S., 2004*]. По представленным данным, уровень растворимых фибрин-мономеров был закономерно увеличен как в раннем послеоперационном периоде, так и в начальной фазе диссеминированного внутрисосудистого свертывания. В другой работе похожие результаты были получены и при остром коронарном синдроме, что, по данным авторов, убедительно свидетельствовало в пользу высокой значимости определения РФМК как маркера ранней генерации тромбина [*Mega J. et al., 2008*]. В России эта технология пока мало доступна, поскольку соответствующие тест-системы не зарегистрированы.

2.1.4.3. Комплекс тромбин-анти тромбин

Свободный тромбин, как отмечалось выше, очень мало живет в крови. После образования он быстро нейтрализуется преимущественно анти тромбином с образованием стехиометрического комплекса тромбин-анти тромбин (ТАТ), время полужизни которого достигает двух часов. Французские ученые *A. Diquelou et al.* в 1994 г. предложили рассматривать этот комплекс в качестве одного из информативных маркеров тромбонемии. Высокая эффективность таких исследований была показана в Аргентине при геморрагической лихорадке [*Heller M. et al., 1995*], у больных с хроническим гемодиализом [*Kario K. et al.,*

1992], преэклампсии [Terao T. et al., 1991], для прогноза неблагоприятных исходов при расслаивающей аневризме аорты [Lyano K. et al., 2004] и многих других видах патологии. В России в настоящее время доступна зарегистрированная в начале 2011 г. тест-система «AssayMax Human Thrombin-antithrombin (TAT) Complexes ELISA Kit.» фирмы AssayPro (Cat. №ET1020-1).

2.1.4.4. D-димеры

D-димеры были и остаются наиболее специфичным и информативным маркером образования и растворения фибриновых сгустков, широко применяемым в клинической практике.

В соответствии с современными представлениями одновременно с образованием олигомеров фибрина мономеров тромбин активирует находящийся в плазме крови фактор XIII – фермент фибриназу (трансглутаминазу), которая в присутствии ионов Ca^{++} образует перекрестные ковалентные связи («поперечные шпивки») между находящимися рядом D-доменами фибрин-мономеров. В результате этого сгусток фибрина становится более плотным и резистентным к плазмину [Баркаган З.С., Молот А. П., 2001; Chesterman K., 1982; Gaffney P., 1996].

Обычно за образованием тромба следует немедленный фибринолитический ответ, сопровождающийся нарастанием в кровотоке продуктов деградации фибрина (преимущественно D-димеров). Из этого следует, что при отсутствии повышения (за предельно допустимые значения) уровня D-димеров можно считать, что тромбообразование в данном конкретном случае слабо выражено. Тем не менее у здоровых людей образование микросгустков фибрина и их лизис происходят постоянно, а благодаря естественным антикоагулянтам (антитромбину, протеину С, тромбомодулину и др.) клинически значимой активации гемостаза не происходит.

К одним из наиболее доступных и востребованных в клинике методов определения состояния тромботической готовности и/или состоявшегося тромбоза относят определение D-димеров (рис. 4). Они представляют собой семейство продуктов лизиса поперечно сшитого фибрина (D-D, D-D-E, D D/Y-D и др.) и сигнализируют о состоявшемся фибринообразовании, стабилизации и последующем лизисе поперечно сшитого фак-

тором XIII фибрина [Дранник Г.Н. и др., 1987; Зубаиров Д.М., 2000; Barnes D. et al., 2008; Heit J., 2007].

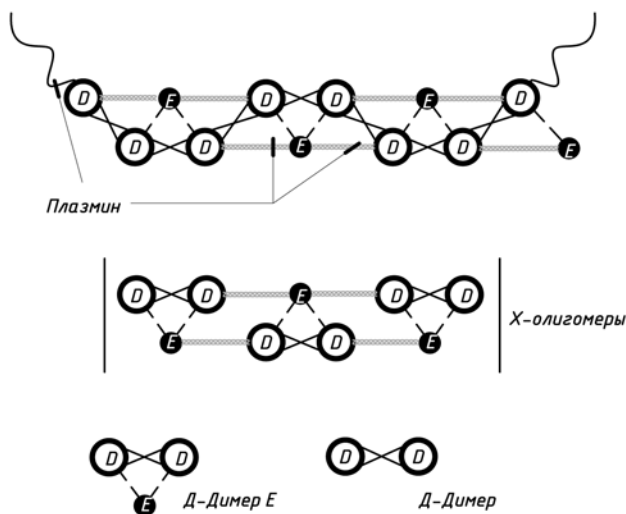


Рис. 4. Схема образования D-димеров

D-димеры – наиболее детально изученный маркер активации гемостаза [Баркаган З.С., Момот А.П., 2001; Гильманов А.Ж., 2009; Папаян Л.П., Князева Е.С., 2002; Righini M. et al., 2008].

Имеется огромное количество клинических исследований, доказывающих как диагностическую, так и прогностическую значимость нарастания содержания этого свидетеля внутрисосудистого свертывания крови. Например, на его основе разработаны и утверждены уровни принятия решений для исключения венозных тромбозомболических осложнений. Важно то, что сегодня имеются удобные и клинически приемлемые методы определения, позволяющие быстро получить ожидаемый в количественном измерении результат.

В целом определение D-димеров используется:

- для диагностики ТГВ и ТЭЛА;
- контроля за лечением антикоагулянтами (гепарины, варфарин, прямые ингибиторы фактора Ха и Па – ривароксабан и дабигатран);

- уточнения необходимой длительности антитромботической (антикоагулянтной) терапии;
- диагностики и мониторинга лечения ДВС-синдрома;
- определения состояния тромботической готовности, в том числе и при наличии врожденных факторов тромботического риска.

Обширный клинический опыт показывает, что высокий уровень D-димера в крови отмечается:

- при инфекции и воспалении;
- после травм и оперативных вмешательств (ортопедических, гинекологических, урологических и др.);
- при распространенном атеросклерозе с облитерацией сосудов, при появлении нестабильных бляшек в коронарных артериях (острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия) и артериях головного мозга (острый ишемический инсульт);
- после лекарственного тромболитика как показатель его эффективности;
- при мерцательной аритмии и/или аневризме левого желудочка и аорты (маркер тромбообразования в ушке предсердия или в полости аневризмы, предвестник тромбоэмболических осложнений);
- при злокачественных новообразованиях, как свидетель не только тромбообразования, но и опухолевой прогрессии;
- при тяжелых заболеваниях печени;
- после массивной кровопотери;
- при низкой эффективности или недостаточной продолжительности антикоагулянтной терапии после эпизода ТГВ или ТЭЛА;
- при интенсивных физических нагрузках (в спортивной медицине) и др.

Для определения D-димеров имеется целый спектр современных качественных и количественных тест-систем, но все они основаны на использовании различных моноклональных антител (табл. 8), специфичных по отношению к D-димерам и не реагирующих (или слабо реагирующих) с фибриногеном, фибриномономером, а также продуктами фибриногенолиза – фрагментами X, Y, D и E [Nieuwenhuizen W., Bos R., 1999; Gardiner C. et al., 2002].

Таблица 8

Моноклональные антитела, используемые в диагностических
для определения D-димеров

Название тест-систем	Производитель	Моноклональные антитела
<i>D-Dimer Plus</i>	<i>Dade Behring</i>	DD5
<i>Auto D-Dimer</i>	<i>Sigma Diagnostics</i>	MA8D3
<i>IL Test™ D-Dimer</i>	<i>Instrument Laboratory</i>	MA8D3
<i>VIDAS D-Dimer New</i>	<i>BioMerieux</i>	P10B5E12C9, P2C5A10
<i>MiniQuant-D-dimer</i>	<i>Biopool</i>	MA8D3
<i>Biopool AutoDimer™</i>	<i>Biopool</i>	MA8D3
<i>Auto D-dimer 700</i>	<i>Helena Biosciences</i>	MA8D3
<i>Auto D-dimer 540</i>	<i>Helena Biosciences</i>	MA8D3
<i>MDA® D-Dimer</i>	<i>BioMerieux</i>	MAb8-8G
<i>Nycocard® D-Dimer</i>	<i>Axis-Shield</i>	54H9
<i>SimpliRed D-Dimer</i>	<i>BBInternational</i>	3B6

В основе перечисленных выше методов используются турбидиметрия, метод агглютинации латексных частиц или эритроцитов, флюоресцентный иммуноанализ, иммунофилтрационные тесты и иммуноферментный твердофазный анализ (ИФА).

Эти подходы используются в целом ряде автоматизированных систем. Наряду с этим установлено, что методы на основе иммуноферментного анализа – ИФА (ELISA) – гораздо более чувствительны (порог чувствительности ниже 60 нг/мл), хотя и менее специфичны при выявлении ТГВ и ТЭЛА, чем методы латексной агглютинации или гемагглютинации (табл. 9 и 10) [Verhaeghe R. et al., 2004; Legnani C. et al., 2008].

К сожалению, известно, что при сравнении результатов разных методов имеются заметные разногласия, в частности это касается определения нормального диапазона значений и того, какие клинические величины следует считать предельными при исключении, например, венозного тромбоза. Это можно объяснить использованием спектра моноклональных антител, обладающих неодинаковым сродством к D-димерам (см. табл. 8), а также особенностями, касающимися контрольных материалов и техники определения.

Таблица 9

Характеристика различных методов и реагентов
для определения D-димеров [Guidelines on diagnosis..., 2000]

Тип анализа	Характеристика	Чувствительность	Специфичность	Примеры
Связывание фермента с иммуносорбентом на микропланшете (ELISA)	- D-димеры обнаруживаются уже в концентрации 30–80 нг/мл; - Считается «золотым» стандартом; - Длительный временной цикл делает тест малоприменимым в клинике	Высокая	Низкая	<i>Asserachrom Ddi</i> <i>Dimertest</i> <i>Enzygnost</i> <i>Fibrinostika</i> <i>FbDP</i>
Быстрый тест ELISA	- Количественный анализ; - Результаты в течение менее 1 часа	Высокая	Низкая	<i>VIDAS</i>
Иммунофильтрация (мембранная ELISA)	- D-димер обнаруживается также в диапазоне 200–500 нг/мл; - Результаты в течение менее 10 мин	Высокая	От низкой до средней	<i>Instant IA</i> <i>Nycocard</i>
Агглютинация цельной крови	- Качественный или полуквантитативный анализ; - Прост в применении; - Результаты в течение менее 5 мин; - Вариабельность между наблюдателями	От средней до высокой	Средняя	<i>SimpliRED</i>
Латексная агглютинация первой генерации (плазма)	- Прост в применении; - Качественный анализ; - Вариабельность между наблюдателями; - Недостаточная чувствительность для тестирования ТГВ и ТЭЛА	Средняя	Средняя	<i>Dimertest latex</i> <i>D-dimertest</i> <i>Minutest</i>
Латексная агглютинация второй генерации (иммунотурбидиметрический анализ)	- Качественный или полуквантитативный анализ	Высокая	Средняя	<i>Tinaquant</i> <i>Liatest</i> <i>MDA, STA</i> <i>IL-test (или IL-DD)</i> <i>Miniquant</i> <i>Turbiquant</i> <i>Accuclot</i>

Таблица 10

Сравнение 13 методов определения D-димера у 99 пациентов с подозрением на ТГВ

Диагностикумы для определения D-димеров	Пороговое значение, мг/мл	Чувствительность, %	Специфичность, %	Отриц. прогностич. значим., %	Положит. прогностич. значим., %
1	2	3	4	5	6
Качественные методы					
<i>Minutex</i>	-	80 (66-90)	90 (78-97)	81 (68-91)	89 (76-96)
<i>SimpliRED</i>	-	80 (66-90)	94 (83-99)	82 (70-91)	93 (81-99)
<i>Instant LA</i>	-	94 (83-99)	63 (48-77)	91 (76-98)	72 (60-83)
Количественные / полуколичественные методы					
<i>NycoCard</i>	<0-5	100 (93-100)	12 (5-25)	100 (54-100)	54 (43-64)
	0-5	98 (98-100)	31 (18-46)	94 (69-100)	59 (48-70)
	1-0	94 (83-99)	57 (42-71)	90 (74-98)	69 (57-80)
<i>BC-DD</i>	0-25	83 (69-92)	87 (73-95)	83 (69-92)	87 (73-95)
	0-3	77 (62-88)	91 (79-98)	79 (65-89)	90 (76-97)
	0-6	45 (30-60)	98 (88-100)	63 (50-74)	95 (77-100)
<i>Turbiquant</i>	0-25	98 (88-100)	40 (25-56)	95 (73-100)	63 (51-74)
	0-3	89 (77-97)	60 (44-74)	84 (67-95)	70 (57-81)
	0-6	68 (53-81)	89 (76-96)	73 (59-84)	86 (71-96)
<i>IL-DD</i>	0-13	100 (93-100)	47 (32-62)	100 (85-100)	66 (54-76)
	0-25	90 (78-97)	78 (63-88)	88 (75-96)	80 (67-90)
	0-50	80 (66-90)	90 (78-97)	81 (68-91)	89 (76-96)
<i>Liatest</i>	0-35	100 (93-100)	33 (20-48)	100 (79-100)	60 (49-71)
	0-50	96 (86-100)	47 (32-62)	92 (74-99)	65 (53-76)
	1-00	90 (78-97)	76 (61-87)	88 (74-96)	79 (66-87)
<i>Tinaquant</i>	0-58	100 (93-100)	39 (25-54)	100 (82-100)	63 (51-73)
	0-50	100 (93-100)	39 (25-54)	100 (82-100)	63 (51-73)
	1-00	90 (78-97)	73 (59-85)	88 (74-96)	78 (65-88)
<i>VIDAS</i>	0-52	100 (93-100)	41 (27-56)	100 (83-100)	63 (52-74)
	0-50	100 (93-100)	41 (27-56)	100 (83-100)	63 (52-74)
	1-00	94 (83-99)	71 (57-83)	92 (78-99)	77 (64-87)
<i>Asserachrom</i>	0-43	100 (92-100)	33 (20-49)	100 (78-100)	61 (49-72)
	0-50	98 (88-100)	42 (28-58)	95 (75-100)	64 (52-75)
	1-00	91 (79-98)	73 (58-85)	89 (74-97)	78 (65-88)

Окончание таблицы 10

1	2	3	4	5	6
<i>Enzygnost</i>	0-05	100 (92-100)	44 (30-60)	100 (83-100)	65 (53-76)
	0-07	94 (82-99)	62 (46-76)	90 (74-98)	72 (59-83)
	0-14	87 (74-95)	82 (68-92)	86 (72-95)	84 (70-93)
<i>Fibrinostika</i>	0-52	100 (92-100)	36 (22-51)	100 (79-100)	62 (50-73)
	0-50	100 (92-100)	36 (22-51)	100 (79-100)	62 (50-73)
	1-00	89 (77-97)	71 (56-84)	86 (71-96)	76 (63-87)

Примечание. Для расчета точных количественных показателей равные или ниже порогового значения считали отрицательными. Пороговые значения указаны в мг/л фибриноген эквивалентных единиц за исключением реагентов *NycoCard*, *BC-ДД*, *Turbiquant*, *IL-DD* и *Enzygnost*, где цифровые значения приведены из расчета мг D-димеров/л. Точность показателей количественного анализа D-димеров приведена для трех пороговых значений: первое значение представляет самый высокий уровень D-димеров, что связано с чувствительностью и отрицательной прогностической значимостью 100%, второе пороговое значение является верхним пределом референсного диапазона; третье значение соответствует концентрации D-димеров в два раза выше предела референсного диапазона. В скобках приведен диапазон концентраций искомого показателя исходя из 95% доверительного интервала.

Считается, что отрицательный результат теста на D-димеры имеет существенное значение для исключения диагноза ТГВ или легочной эмболии. При этом отмечается, что ложно положительные результаты обычно наблюдаются у госпитализированных пациентов вследствие коморбинных состояний, в частности при инфекции и злокачественных новообразованиях, в послеоперационном периоде [Elias A. et al., 1993; Goodacre S. et al., 2006; Killewich L. et al., 1989; Verhaeghe R. et al., 2004]. У пожилых пациентов (старше 80 лет) специфичность определения уровня D-димеров как диагностического теста ТГВ и ТЭЛА вообще снижается до критических значений [Killewich L. et al., 1989].

Причины отрицательных результатов теста на D-димеры при наличии венозного тромбоза заслуживают отдельного внимания. Уровень D-димеров, не превышающий пороговое значение, – редкое явление у больных с тромбозом (менее 2% случаев). Возможные объяснения: небольшой размер тромба, позднее исследование (уровень D-димеров нормализуется в течение 2–3 недель после случая тромбоза и, следовательно, исследова-

ния наиболее полезны в течение первых двух недель от появления симптомов заболевания), ложно положительные результаты функциональных исследований, ошибки на преаналитическом этапе, в том числе возникающие в связи с нарушением сроков хранения образцов плазмы до проведения исследования (в течение более 6 ч при комнатной температуре), низкой фибринолитической активности, связанной с дефицитом тканевого активатора плазминогена (t-PA) или вследствие высокого уровня ингибитора активатора плазминогена (PAI-1).

С другой стороны, повышенный уровень D-димеров при отрицательных результатах поиска тромбоза может быть предиктором развития злокачественных новообразований, что должно являться предпосылкой для онкологической настороженности и соответствующей тактики дальнейших исследований [King V. et al., 2008].

Вызывает недоумение, что во всей англоязычной литературе, а вслед и русскоязычной, значение определения D-димеров сводится, как правило, лишь к оценке его отрицательного или положительного результата (по чувствительности, специфичности, прогностической значимости) при подтверждении ТГВ или ТЭЛА [Савельев В.С. и др., 2010; Eng C. et al., 2009; Geerts W.H. et al., 2008].

Между тем понятно, что повышение этого показателя, определяемого надежными методами, свидетельствует лишь о факте повышенного фибринообразования в сосудистом русле, без указания на локализацию этого события, что важно для оценки клинических событий не менее, чем подтверждение или исключение венозного тромбоза. В этом авторы настоящего издания согласны с мнением А.Ж. Гильманова, опубликовавшего обзор по обсуждаемой теме [Гильманов А.Ж., 2009], и в этом видится важнейшая роль положительного теста на D-димеры в числе маркеров состояния тромботической готовности, когда клинически значимый тромбоз еще не наступил и есть время для его предотвращения.

Изначально в качестве достаточно чувствительных тестов к D-димерам считались анализы, осуществляемые методом ELISA (см. табл. 9). Однако для выполнения таких исследований требуется много времени, они предназначены для изучения

предварительно заготовленных партий проб в исследовательских лабораториях. В настоящее время в распоряжении лабораторий имеются быстрые методы исследования на принципе ELISA для разовых определений, например D-димер VIDAS или Nycocard, в комплекте с недорогим анализатором (ридером). Этот подход сочетает скорость проведения анализа (не более 5 мин) с достаточно высокой чувствительностью (пороговое значение 100 нг/мл). Такая оперативность проведения анализа может быть нужна, например, при тяжелых тромботических осложнениях, тромболизисе, когда концентрация D-димеров значительно изменяется в течение одного часа (рис. 5).



Рис. 5. Внешний вид анализатора Nycocard Reader II для количественного определения D-димеров (с шагом в 100 нг/мл) фирмы Axis-Shield PoC AS, Норвегия

Основные характеристики теста с использованием анализатора Nycocard Reader II:

- продолжительность исследования 2 мин;
- границы измерения 0,1–20,0 мг/л;
- уровень Cut-off 0,3 мг/л;
- позитивный контроль ~2 мг/л;
- тест сертифицирован Европейской референс-лабораторией.

Позднее были разработаны модифицированные методы, в которых процесс латексной агглютинации измеряется с использованием системы фотодетекции, установленной в автоматизированных коагулометрах. В одном из опубликованных на эту тему исследований сравнивали применение 13 методов у одних и тех же 99 пациентов с подозрением на ТГВ [van der Graaf F. et al., 2000]; их результаты представлены в таблице 10.

Считается, что в норме содержание D-димеров в плазме крови не должно превышать 250–300 нг/мл. Однако надо учитывать, что не существует стандартного уровня D-димеров, единицы их измерения варьируют от теста к тесту, данные из одного теста нельзя переносить на другой, различия между операторами могут оказать влияние на результаты, и в каждой лаборатории необходимо устанавливать пороговые границы для варианта постановки теста. Ориентировочные значения концентрации D-димеров в крови для практически здоровых людей составляют при количественном определении 110–300 нг/мл (реже указывается диапазон <500 нг/мл), в качественных тестах – ниже уровня *cut-off* (не выявляются). Пока нет окончательной стандартизации единиц измерения, могут использоваться фибриногеновые эквивалентные единицы (Fibrinogen Equivalent Unit, FEU) с *cut-off* значением в отношении отсутствия венозного тромбоза 400–500 нг/мл, а также единицы D-димеров (*D-Dimers Unit, DDU*) с *cut-off* уровнем 250 нг/мл. Приведенные единицы различаются в два раза, поэтому, сравнивая результаты различных тестов, нужно учитывать единицы измерения полученного результата.

В настоящее время в России зарегистрированы и используются апробированные тест-системы компании Хелена (Helena, Великобритания) для качественного или количественного определения D-димеров, основанные на иммунотурбидиметрическом методе и предусматривающие использование частиц латекса – *Auto Blue D-Dimer 400* (для коагулометров-автоматов, работающих на 350–550 нм – AC-4, IL, Stago), *Auto Blue D-Dimer 700* (для коагулометров-автоматов, работающих на волне 600–800 нм – Hitachi, Sysmex, Benk), а также в качественном варианте определений – «*D-Dimer*», которые, по нашему опыту, вполне могут обеспечить потребности в определениях этого важнейшего параметра коагулограммы (рис. 5 и 6).



Рис. 6. Внешний вид анализатора D-димеров с количественным (в течение около 5 мин) выражением результатов (фирма Helena, Великобритания; С-1)

Возвращаясь к интерпретации результатов анализа и диагностической значимости обсуждаемого обследования, важно учитывать, что D-димеры, высвобождаемые при лизисе поперечношпигтого фибрина, в равной мере выявляются коммерческими моноклональными антителами в случаях как плазминового, так и клеточного (лейкоцитарного) протеолиза [Кузник Б.И., 2010; Moir E. et al., 2002; Zhang L. et al., 2003].

Особое и принципиальное значение имеет измерение количества D-димеров в период беременности. Известно, что при физиологически протекающей беременности в системе гемостаза происходят компенсаторно-приспособительные изменения, обусловленные подготовкой к уменьшению кровопотери в родах. В связи с этим уровень D-димеров неуклонно возрастает по срокам гестации и к моменту родоразрешения может превышать обычный, определяемый вне беременности, в 3–4 раза [Kline J. et al., 2005]. При этом значимо большее повышение уровня D-димеров наблюдается у женщин с тромбозом глубоких вен и/или с патологически протекающей беременностью и родами (синдром потери плода, преэклампсия, преждевремен-

ная отслойка нормально расположенной плаценты, акушерский ДВС-синдром и др.) [Kovac M., 2010] (табл. 11).

Таблица 11

Ориентировочные значения уровня D-димеров на разных сроках физиологически протекающей беременности и венозном тромбозе

Неделя гестации	D-димеры	Нормально протекающая беременность (1)	Беременные с ТГВ (2)	Достоверность отличий (P ₁₋₂)
8-12	$\bar{X} \pm \sigma$	222 ± 64*	1596 ± 95	<0,0001
	Допустимый диапазон	121-474	1500-1691	
22-24	$\bar{X} \pm \sigma$	326 ± 131*	1330 ± 700	<0,0001
	Допустимый диапазон	171-733	524-1784	
32-34	$\bar{X} \pm \sigma$	475 ± 169*	1157 ± 374	<0,0001

Примечание. Результаты получены при автоматизированном количественном определении D-димеров с помощью тест-системы Hemosll D-dimer HS (IL) на коагулометре ACL 6000 «Instrumentation Laboratory».

В настоящее время в Алтайском гематологическом центре ведутся исследования по определению допустимого диапазона нормальных значений на разных сроках нормально протекающей беременности по 45 параметрам гемостаза, включая количественное измерение D-димеров тремя тест-системами, зарегистрированными в Российской Федерации, предусматривающими использование разных моноклональных антител.

Во многих опубликованных работах приведен анализ прогностической роли D-димеров после прекращения тромбопрофилактики, они продолжают и сегодня. Показано, что нормальный уровень этого маркера спустя месяц после отмены варфарина имеет высокую отрицательную предсказательную ценность в отношении рецидива ВТЭ, особенно у больных с впервые развившимся спонтанным венозным тромбозом, а повышенные показатели D-димеров соответствовали значимо более высокому риску венозного тромбоза [Verhovsek D.]. et al., 2008].

В одном из исследований рецидив ТГВ и ТЭЛА был в 2,4 раза выше среди пациентов, уровень продуктов фибриноли-

за у которых не пришел к норме [Palareti G. et al., 2003]. Еще в одной работе, выполненной в Австрии, показано, что повтор венозного тромбоза отмечался на 40% реже при уровне D-димеров между 250 и 500 нг/мл (верхняя часть нормального диапазона) и на 70% реже при уровне этого показателя менее 250 нг/мл [Eichinger S. et al., 2003].

2.2. Маркеры активации тромбоцитов

Тромбоцитам принадлежит ведущая роль в поддержании нормальной жизнедеятельности и функции эндотелиальных клеток, прочности и полноценности стенок микрососудов и в осуществлении первичного гемостаза при повреждении этих сосудов. Образуясь из цитоплазмы полиплоидных клеток костного мозга – мегакариоцитов, тромбоциты поступают в кровь, в которой у человека их количество колеблется в пределах 170–350×10⁹/л, а продолжительность жизни составляет 8–11 дней.

Выраженная активация тромбоцитов – повышение их адгезивных и агрегационных свойств – по современным представлениям является важнейшим пусковым механизмом тромбообразования. Особенно важную роль этот механизм играет в формировании артериальных тромбозов (у больных атеросклерозом, облитерациях периферических артерий, ишемиях мозга и сердца, при сахарном диабете 2-го типа, метаболическом синдроме). Однако многочисленными исследованиями показано, что лабилизация тромбоцитов свойственна не только артериопатиям, но и тромбофилии, свойственной рецидивирующим венозным тромбозам, в том числе обусловленным резистентностью активированных факторов свертывания (Va и VIIIa) к активированному протеину С, дефицитом физиологических антикоагулянтов и неполноценности фибринолитических реакций [Баркаган З.С., 2005; Баркаган З.С., Момот А.П., 2001; Гемостаз., 1999; Шитикова А.С., 2000].

Активация тромбоцитов *in vivo* может быть вызвана следующими патологическими причинами (см. также табл. 12):

- повреждением эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов и экранированием коллагена;
- тромбинемией при активации коагуляционного гемостаза;

- гемолизом эритроцитов при высвобождении аденозиндифосфата – АДФ;
- повышением содержания в плазме крови высокомолекулярных мультимеров фактора Виллебранда в связи с наследственной или приобретенной недостаточностью металлопротеиназы *ADAMTS 13*;
- антитромбоцитарными антителами при антифосфолипидном синдроме – АФС.

Описана также значительная вероятная роль курения и приема эстрогенов в избыточной активации тромбоцитов [Maly J., 1990].

Таблица 12

Условия для активации тромбоцитов в норме и при патологии

В организме		
практически здорового человека		больного
в крови, в зоне повреждения сосуда	в поврежденной стенке сосуда	в крови
АДФ, эпинефрин (адреналин), серотонин, вазопрессин, тромбин, плазмин, фактор, активирующий тромбоциты (FAT), тромбоксан А ₂ , простагландины G ₂ и H ₂ , фактор Виллебранда	коллаген, микрофибриллы вокруг эластина, фактор Виллебранда	протеолитические ферменты, эндотоксин, антитромбоцитарные антитела, комплексы антиген-антитело, бактерии, вирусы, опухолевые клетки

Действие этих факторов ведет к повышению адгезии тромбоцитов, их расплыванию на поверхности поврежденной сосудистой стенки. Тромбоциты адгезируют к субэндотелию посредством образования связей гликопротеиновых рецепторов Ia/IIa – GIIb/фIX – фVIII-ФВ, образуя слой, к которому присоединяются другие тромбоциты. Последующая агрегация тромбоцитов является обратимой до тех пор, пока клеточная мембрана тромбоцитов остается относительно интактной. В дальнейшем процесс агрегации вызывается и поддерживается всеми активными веществами, выделяющимися в области повреждения (из тромбоцитов, форменных элементов крови, эндотелиоцитов), большое значение имеет здесь и скорость сдвига [Шумикова А.С., 2000; *Practical hemostasis and thrombosis.*, 2005].

Агрегаты увеличиваются в размерах, уплотняются и высвобождают следующие биологически активные вещества (в фазе секреции):

- серотонин, адреналин, норадреналин;
- АДФ, β -тромбоглобулин, тромбоксан A_2 (TxA_2);
- P-селектин – активаторный рецептор, ассоциированный с плазматической мембраной тромбоцитов. Экспрессия на мембране лейкоцитов P-селектин-связывающего гликопротеина-1 (PSGL-1) позволяет нейтрофилам присоединять тромбоциты и реагировать экспрессией тканевого фактора (TF);
- тромбоцитарные факторы PF3 (фосфолипид, содержащийся в клеточной мембране, играющий важную роль в активации факторов свертывания крови), PF4 (обладающий способностью связывать гепарин).

2.2.1. Тромбоцитарный фактор 4

Остановимся на одном из этих молекулярных маркеров активации тромбоцитов – PF4 – как наиболее часто описываемом в литературе. PF4 представляет собой белок с молекулярной массой 30 кДа, который высвобождается в плазму из α -гранул тромбоцитов при их активации и характеризуется антигепариновой активностью, формируя с гепарином стехиометрический комплекс [Hemodson M. et al., 1977; Kerry P., Curtis A., 1985; Zucker M., Katz I., 1991].

Показано, что 1,0 мг PF4 связывает и ингибирует около 27 МЕ гепарина [Lane D. et al., 1984]. Он относится к коротко живущим маркерам и время его полужизни составляет около 5 мин в связи со связыванием с гликозаминогликанами на поверхности сосудистого эндотелия. Увеличение концентрации PF4 наблюдается при выраженной активации тромбоцитов, например, при воспалении инфекционной природы, ДВС-синдроме, цереброваскулярных нарушениях, первичной полицитемии, диабете, онкологических заболеваниях и др. [Frischi J., 1984; Kaplan L., Owen J., 1981; Practical hemostasis and thrombosis., 2005].

Определение фактора 4 тромбоцитов, как свидетеля активации тромбоцитарного гемостаза, сегодня возможно, например, при использовании тест-системы для иммуноферментных

определений «IMUCLONE® Platelet Factor 4 ELISA» (Cat. №634) производства компании «American Diagnostica Inc.».

2.2.2. Индуцированная агрегация тромбоцитов

В скрининговом варианте оценка агрегации тромбоцитов может быть сделана визуально, например, в ходе гемолизат-агрегационного теста, описанного Л.З. Баркаганом (1993), реагенты для которого имеются в составе набора реагентов «Агрескрин-тест» фирмы «Технология-Стандарт», Россия. Однако этот и другие выполняемые мануально методы, основанные на визуальной оценке, дают лишь ориентировочную информацию исследователю и выявляют только грубые нарушения, свойственные тромбоцитам.

Использование приборов для оценки агрегации тромбоцитов – агрегометров (анализаторов агрегации тромбоцитов), открыло в 1960-х гг. новую эпоху в диагностике нарушений деятельности тромбоцитов, способной выполняться в обычных лабораторных условиях. Агрегометрию до сих пор называют «золотым стандартом» и широко используют в исследованиях функции тромбоцитов. Преимуществом данного подхода является то, что «живые» тромбоциты изучаются в условиях, приближенных к физиологическим, и это исследование в той или иной мере достаточно стандартизировано. Приборы для агрегометрии подразделяются на оптические (турбодиметрические), регистрирующие агрегацию в обогащенной тромбоцитами плазме по изменению ее оптической плотности, и кондуктометрические, определяющие агрегацию в цельной крови по изменению электропроводности, что показывает, впрочем, менее воспроизводимые результаты, но ускоряет их интерпретацию.

Для оценки тромбоцитарного звена гемостаза в настоящее время чаще используются агрегометры различных зарубежных фирм («Chrono-log», США, «Helena Laboratories», Великобритания и др.), а также приборы отечественного производства («Биола», Россия). Современные приборы этого типа обычно имеют несколько каналов измерения, компьютерный анализ полученных данных и сохранение/архивирование результатов исследования (рис. 7).



Рис. 7. Внешний вид 5-канального агрегометра MULTIPLATE (Германия) с исследованием крови импедансным методом

Применяя тот или иной агрегометр и соответствующие агонисты агрегации (АДФ, адреналин, коллаген, арахидоновую кислоту), следует максимально стандартизировать условия выполнения метода, осуществлять подбор доз агрегирующих агентов, вызывающих максимальную и необратимую двухволновую, а также пороговую агрегацию кровяных пластинок. Для этого используются следующие ориентировочные конечные концентрации индукторов агрегации тромбоцитов (табл. 13), в пределах которых целесообразно проводить исследования в соответствии с рекомендациям Британской рабочей группы по гемостазу и тромбозам [Guidelines on platelet function testing..., 1988] и рекомендациям Международного общества по тромбозу и гемостазу – ISTE (Platelet Function Testing By Aggregometry Approved Guideline. Clinical and Laboratory Atandarts Institute, USA, 2008).

Пределы рекомендуемых концентраций индукторов
агрегации тромбоцитов

Агенты, вызывающие агрегацию	Конечные концентрации агонистов агрегации при агрегометрии
АДФ, динатриевая соль (мол. масса 471,2)	0,5–10,0 мМ
Адреналин/эпинефрин (мол. масса 183,2)	0,5–5,0 мМ
Коллаген	1,0–5,0 мкг/мл
Арахидоновая кислота (мол. масса 304,5)	0,5–1,0 мМ
Тромбин	0,1–0,5 ед./мл
Ристомицин (ристокитин)	0,5–1,5 мг/мл

Агрегация при воздействии АДФ. Профиль АДФ-агрегации при одном и том же количестве тромбоцитов и при постоянной температуре зависит только от применяемой концентрации агониста агрегации. Используя различные концентрации АДФ, получают три вида записи агрегатограммы:

- большая доза АДФ показывает однофазную кривую (агрегация происходит с такой силой и с такой скоростью, что первичную и вторичную фазы агрегации различить невозможно). Графики такого типа наблюдаются при применении конечной концентрации АДФ от 5 до 10 мМ;

- достигается получение двухфазной кривой, что наиболее вероятно при использовании АДФ в дозе 2,5 мМ. Данная концентрация АДФ используется чаще всего для обследования больных с кровоточивостью (с тромбоцитопатиями, с нарушениями реакции высвобождения, исследование действия лекарственных препаратов).

Низкая доза АДФ (0,5–1,0 мМ) вызывает только первичную агрегацию, протекающую без высвобождения содержания гранул тромбоцитов. Чаще всего именно эта концентрация АДФ применяется для обследования больных со склонностью к внутрисосудистому тромбообразованию.

Адреналиновая агрегация. Агрегация, вызванная адреналином, внешне похожа на таковую, вызванную средними доза-

ми АДФ (двухфазную), но этот вид агрегации намного меньше зависит от концентрации индуктора и, следовательно, является наиболее подходящим для обследования больных с наклонностью к тромбозам.

2.2.2.1. Определение функции тромбоцитов на агрегометре

Кровь забирается в пластиковые пробирки натощак из локтевой вены в соотношении со стабилизатором 9 : 1 (в качестве стабилизатора используется 3,8% раствор цитрата натрия). Из забранной таким образом крови после центрифугирования получают богатую тромбоцитами плазму, которую извлекают в отдельную пластиковую пробирку, а кровь снова центрифугируют для получения бедной тромбоцитами плазмы. Затем приступают к определению функции тромбоцитов при условии, что количество тромбоцитов в исследуемой и контрольной (нормальной) плазме должно быть примерно одинаковым. При повышенном содержании тромбоцитов у больного разведение должно проводиться «собственной» бедной тромбоцитами плазмой. Критически важно, чтобы исследование было проведено в первые три часа после забора крови [Баркаган З.С., Момот А.П., 2001; Шитикова А.С., 2000].

Обогащенную тромбоцитами плазму помещают в специальную инкубационную кювету при температуре +37 °С между потоком света и фотоэлементом. Добавление различных агонистов агрегации при перемешивании компонентов в кювете позволяет определить увеличение светопропускания, обусловленное агрегацией кровяных пластинок.

2.2.2.2. Анализатор функции тромбоцитов (PFA-100)

Стремительное распространение в индустриально развитых странах получила новая технология для комплексной оценки как адгезивной, так и агрегационной активности тромбоцитов с помощью анализаторов PFA-100® и PFA-200 (Platelet Function Analyzer, фирмы «Simens»). В данных устройствах регистрируется скорость закупорки апертуры (отверстия диаметром 150 мкм) регистрирующего устройства агрегатами тромбоцитов при пропускании через нее исследуемой цитратной крови в объеме 800 мкл (рис. 8 и 9).



Рис. 8. Внешний вид анализатора PFA-100 (Siemens, Германия)

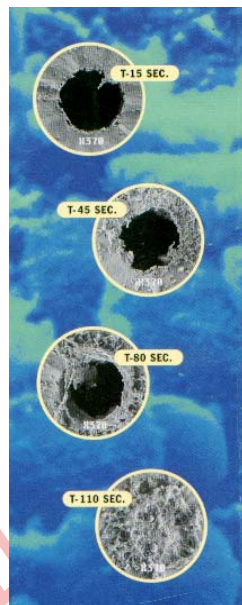


Рис. 9. Варианты результатов, получаемых на анализаторе PFA-100

Для проведения анализа используются двухвариантные одноразовые катриджи, имеющие в своем составе смесь коллагена с АДФ (CADP) или коллагена с адреналином (CEPI). В ходе определения, которое выполняется в течение примерно 5 мин, измеряется время при температуре + 37,9 °С от начала до прекращения истечения крови через регистрирующую ячейку (в сек). Оцениваемый показатель учитывается как «время смыкания», максимально допустимое значение которого составляет 300 с.

Данные исследования в первую очередь ориентированы на выявление снижения функции тромбоцитов, в том числе при оценке чувствительности к антиагрегантам. Результаты анализа зависят от функции тромбоцитов, активности фактора Виллебранда, количества тромбоцитов и гематокрита. Роль данной технологии в определении активации тромбоцитов и тромбогенного риска находится пока в стадии исследования [Practical hemostasis and thrombosis., 2005].

2.3. Маркеры эндотелиальной дисфункции

Дисфункция эндотелия (ДЭ) определяется как неадекватное (увеличенное или сниженное) образование в эндотелии различных биологически активных веществ.

Как известно, эндотелий обеспечивает внутреннюю выстилку кровеносных сосудов, которая включает в себя примерно $1-6 \times 10^{13}$ клеток, что в весовом выражении для взрослого человека составляет величину от 0,5 до 1,5 кг и сопоставимо с массой любого жизненно важного органа. Эти клетки выполняют ряд важнейших функций – барьерную, секреторную, гемостатическую, вазотоническую функции, в процессах воспаления и ремоделирования сосудистой стенки [Дисфункция эндотелия..., 2003; Петрищев Н.Н., Власов Т.Д., 2007].

ДЭ может быть самостоятельной причиной нарушения кровообращения в органе, поскольку нередко провоцирует спазм либо тромбоз сосудов. С другой стороны, нарушения регионарного кровообращения (ишемия, венозный застой), в свою очередь, также могут приводить к ДЭ.

В нормальных условиях эндотелий кровеносных сосудов обладает высокой тромборезистентностью, что поддерживает жидкое состояние крови и препятствует тромбообразованию. Эти свойства эндотелия обеспечиваются следующими механизмами:

- отрицательным зарядом и контактной инертностью внутренней, обращенной в просвет сосуда поверхности этих клеток, в силу чего последняя не активирует систему гемостаза;

- синтезом мощного ингибитора агрегации тромбоцитов – простациклина (простагландина I₂);

- наличием на мембране эндотелиальных клеток тромбомодулина, связывающего и инактивирующего тромбин. Благодаря этому тромбин утрачивает способность вызывать свертывание крови, но сохраняет свое активирующее действие на систему двух важнейших физиологических антикоагулянтов – протеинов С и S_i;

- способностью стимулировать фибринолиз путем синтеза и выделения в кровь мощного активатора фибринолиза – «тканевого плазминогенового активатора» (ТПА), обеспечивающего пристеночный лизис образующихся в сосудах тромбов;

- фиксацией на эндотелии кислых мукополисахаридов, в том числе гепарина и комплекса «гепарин – антитромбин»;
- элиминацией из крови активированных факторов свертывания крови и их метаболитов.

Вместе с тем эндотелий обладает способностью менять свой антитромботический потенциал на тромбогенный, что происходит при его повреждении экзо- и эндотоксинами, антителами и иммунными комплексами (при иммунных васкулитах и инфекционно-иммунных процессах), медиаторами воспаления (цитокины, фактор некроза опухоли), лейкоцитарными протеазами, при повреждающем действии перекиси водорода и гомоцистеина, инфльтрации интимы артериальных сосудов липидами и др.

При разнообразных видах патологии в качестве маркеров ДЭ принимается увеличение в кровотоке десквамированных эндотелиальных клеток и ряда субстанций – фактора Виллебранда, эндотелина-1, свободно циркулирующего в крови тромбомодулина, тканевого активатора плазминогена (ТРА), а также его ингибитора (РАІ 1), оксида азота, Е- и Р-селектина, ІСАМ-1, VСАМ-1, рецептора к протеину С, аннексина II, простаглицлина, нитритов и нитратов, тканевого фактора (ТF), ангиотензина и ряда других [Дисфункция эндотелия., 2003; Костюченко Г.И., 2004; Пеприщев Н. Н., Власов Т. Д., 2007; Blann A., Tarberner D., 1995; *Practical hemostasis and thrombosis.*, 2005]. Остановимся на некоторых маркерах ДЭ, которые доступны сегодня для исследований.

2.3.1. Фактор Виллебранда

Фактор Виллебранда (ФВ) – адгезивный гликопротеин, синтезируемый эндотелием кровеносных сосудов. В плазме крови ФВ образует комплекс с фактором VIII-С, в результате чего последний получает защиту от неспецифического протеолиза и обретает большее время полужизни. Другая важная функция ФВ – содействие адгезии тромбоцитов [Баркаган З.С., 2005; Баркаган З.С., Момот А.П. , 2001; Шитикова А.С., 2000; Шмелева В.М. и др., 2009].

ФВ может взаимодействовать с коллагеном и, возможно, другими эндотелиальными структурами, опосредует адгезию тромбоцитов к субэндотелию через связывание поверхностного

рецептора тромбоцитов гликопротеина IIb. Он также может участвовать в тромбоцит-тромбоцитарном взаимодействии через связывание рецептора гликопротеина IIb/IIIa. Необходимо отметить значение гемодинамических факторов для адгезии тромбоцитов с участием ФВ. Опосредованная ФВ адгезия кровяных пластинок происходит наиболее интенсивно при высоких скоростях сдвига, т.е. в артериях [Dockrell M., 1999].

Основная часть ФВ имеет эндотелиальное происхождение, однако активация тромбоцитов может приводить к накоплению в кровотоке и его тромбоцитарного пула. Различают два типа секреции ФВ – поддерживающую и быструю. Тригерами немедленной секреции являются участники гемостатических и воспалительных реакций. Кроме того, быстрое, кратковременное увеличение ФВ вызывается парентеральным введением адреналина, вазопрессина, десмопрессина, физической нагрузкой, гипогликемией и венозной окклюзией, что может быть скорее показателем активации или стимуляции эндотелиальных клеток, чем повреждения. Медленное, длительное увеличение имеет место при остром коронарном синдроме, циррозе печени, в послеоперационном периоде, при онкологических заболеваниях, беременности, диабете и ряде других состояний [Баркаган З.С., 2005; Гематология/онкология детского возраста., 2004; Кузник Б.И., 2010; Мамаев А.Н. и др., 2007].

Впервые представление о ФВ как о маркере повреждения эндотелия было сформулировано *V. Voneu et al. (1975)*, которые основывались на установлении факта, что пациенты с атеросклерозом имели повышенный уровень ФВ и степень этого повышения соответствует распространенности сосудистого поражения.

Два варианта иммуноферментных тест-систем производства компании TECHNOCLO-NE позволяют идентифицировать содержание (*Cat. №5450201*) и функциональную активность vWF в плазме (по способности связываться с коллагеном – *Cat. №5450301*).

3.3.2. Эндотелин-1

В многочисленных работах было показано, что концентрация эндотелина-1 (ЭТ) имеет прогностическое значение при нарушении сердечной деятельности, при инфаркте миокарда, является маркером коронарного атеросклероза [Kinugawa T. et al., 2003].

ЭТ был впервые идентифицирован в 1988 г. в культуре эндотелиальных клеток. ЭТ является главным вазоконстрикторным пептидом – этот потенциал у него примерно в 10 раз выше, чем у ангиотензина II. В настоящее время изучена химическая структура четырех эндотелиновых пептидов с 21 аминокислотой, имеющих сходную химическую структуру (ЭТ-1, ЭТ-2, ЭТ-3 и ЭТ-4). ЭТ-1 представлен в наибольшем количестве по сравнению с другими изоформами в тканях и жидкостях организма (эндотелиальные и гладкомышечные клетки сосудов, клетки головного и спинного мозга, почек, печени, сердца, надпочечников, в плазме крови и моче). Основным механизмом действия ЭТ заключается в высвобождении кальция, что вызывает:

- 1) стимуляцию всех фаз гемостаза, начиная с агрегации тромбоцитов и заканчивая образованием красного (венозного) тромба;

- 2) сокращение и рост гладких мышц сосудов, приводящие к утолщению стенки сосудов и уменьшению их диаметра – вазоконстрикции.

Синтез ЭТ усиливается тромбином (активизирующий эндотелин-превращающий фермент) и активированными тромбоцитами. ЭТ, в свою очередь, вызывают адгезию и агрегацию тромбоцитов.

Эндотелин-1 причастен к ряду патологических процессов, отражая повреждение сосудистой стенки, что описано при инфаркте миокарда, нарушениях ритма сердца, легочной и системной гипертензии, атеросклерозе, сахарном диабете и др. [Migdalis I. et al., 2001; Wagner A. et al., 2002].

Показано, что улучшение функции эндотелия предшествует обратному развитию структурных атеросклеротических изменений [Benzuly K. et al., 1994; Davis S. et al., 1996]. Влияние на вредные привычки – отказ от курения – приводит к улучшению функции эндотелия [Celemajer D. et al., 1993]. Жирная еда способствует ухудшению функции эндотелия у практически здоровых лиц [Vogel R. et al., 1997]. Физические нагрузки улучшают состояние эндотелия даже при сердечной недостаточности [Homing B. et al., 1996].

Обеспечение надежного контроля гликемии у больных с сахарным диабетом само по себе уже является фактором кор-

рекции ДЭ [Jensen-Urstad K. et al., 1996], а нормализация липидного профиля у пациентов с гиперхолестеринемией приводила к нормализации функции эндотелия [Stroes E. et al., 1995], что значительно уменьшало частоту острых сердечно-сосудистых инцидентов [Scandinavian Simvastatin Sunnval Study Investigators., 1994].

Для количественного измерения данного маркера эндотелиальной дисфункции может использоваться, в числе других, набор реагентов для иммуноферментного анализа «*ENDOTHELIN (1-21)*» фирмы BIOMEDICA GRUPPE www.bmgrp.com (Cat. №BI-20052).

2.3.3. Тромбомодулин

Тромбомодулин (CD141) – рецептор тромбина, фиксированный на поверхности эндотелиальных клеток [Esmon N. et al., 1982; Salem H. et al., 1984]. В комплексе с тромбином тромбомодулин выступает в качестве кофактора, ускоряя примерно в 20 тыс. раз обуславливаемую тромбином активацию протеина С. Следовательно, тромбомодулин осуществляет регуляцию свертывания крови, поскольку активный протеин С инактивирует факторы Va, VIIIa, Ха и XIIIa [Зубаиров Д. М., 2000; Дисфункция эндотелия., 2003; Шиффман Ф.Д., 2000]. Наряду с этим, тромбомодулин через образование комплекса с тромбином блокирует превращение фибриногена в фибрин, ускоряет инактивацию тромбина антитромбином. Связывание тромбина с тромбомодулином препятствует также инактивации протеина S, лабильности тромбоцитов, моноцитов, Т-лимфоцитов и тучных клеток. Концентрация тромбомодулина (трансмембранной формы) возрастает с увеличением соотношения поверхности сосудов к объему крови. Это соотношение изменяется более чем в 1000 раз при движении от крупных сосудов к микроциркуляции. В микроциркуляции почти весь тромбин связан с тромбомодулином, и его свертывающая активность подавлена. В целом нарастание концентрации тромбомодулина в плазме крови свидетельствует в пользу повреждения сосудистого эндотелия [Кузник Б.И., 2010].

Определение тромбомодулина в сыворотке плазмы и плазме крови может быть осуществлено иммуноферментным анализом, например, с помощью тест-системы «*CD 141 ELISA KIT*» фирмы Cell Sciences, Inc. www.cellsciences.com (Cat.№ 850.720.096).

2.3.4. Оксид азота

Среди множества биологически активных веществ, вырабатываемых эндотелием, одним из важнейших является оксид азота (NO). Определено, что нормально функционирующий эндотелий отличается непрерывной базальной выработкой NO при помощи NO-синтетазы (eNOS) из L-аргинина [Esther C. et al., 1997]. Оксид азота обладает антиоксидантным действием, обеспечивает эндотелиально-лейкоцитарные взаимодействия и миграцию моноцитов [Lasher T., 1993]. Показано, что NO уменьшает адгезию лейкоцитов к эндотелию [Kubes P. et al., 1991; Lefler A., 1997], тормозит трансэндотелиальную миграцию моноцитов [Zeiker A. et al., 1995; Tsao P. et al., 1997], поддерживает нормальную проницаемость эндотелия для липопротеидов и моноцитов [Kubes P., Granger D., 1992], ингибирует окисление ЛПНП в субэндотелии [Austin M., 1991]. NO способен тормозить пролиферацию и миграцию гладко-мышечных клеток сосуда [Comwell T. et al., 1994; Sarkar R. et al., 1996], а также синтез ими коллагена [Kolpakov V. et al., 1995].

Таким образом, можно предположить, что NO обладает универсальным ангиопротекторным действием, а также антитромботическими свойствами, ингибируя адгезию тромбоцитов [De Graaf J. et al., 1992], их активацию и агрегацию [Azurna H. et al., 1986; Lasher T., 1993], активируя тканевой активатор плазминогена [Stamler J., 1994].

Количественное определение NO может быть выполнено методом иммуноферментного анализа, например, с использованием реагентов фирмы BCM Diagnostics (Cat. №KGE001) [www.BCM Diagnostics](http://www.BCM-Diagnostics.com).

2.4. Гомоцистеин

Гипергомоцистеинемия можно охарактеризовать как нарушение метаболизма метионина, возникающее вследствие точечных мутаций соответствующих генов и (или) дефицита в организме витаминов группы В (фолиевой кислоты, В₆ и В₁₂), которое проявляется повышением в крови концентрации гомоцистеина [Хубутия М.Ш., Шевченко О.П., 2004; Шмелева В.М. и др., 2003; Homocysteine Research., 2005].

Гипергомоцистеинурия (наличие гомоцистеина в моче) привлекла интерес исследователей еще в середине 20-го столетия. Вначале Butz и du Vigneaud в 1932 г. описали нарушение обмена метионина у детей, которое характеризовалось появлением в моче гомоцистеина. В 1962 г. Savon и Neil установили, что описываемая у детей гипергомоцистеинемия и гомоцистеинурия связаны с дефектом фермента β -цистатинсинтетазы и проявляется ранним развитием атеросклероза. Wilcken и Wilcken в 1976 г. первыми описали тот факт, что у взрослых пациентов, страдающих заболеваниями коронарных артерий, встречаются те же нарушения обмена гомоцистеина. Результаты дальнейших исследований позволили установить, что наличие гипергомоцистеинемии повышает риск раннего атеросклероза и тромбоза коронарных, церебральных и периферических артерий, независимо от традиционных факторов риска, и является прогностическим маркером летального исхода [Jacobsen D., 1998].

Гомоцистеин – промежуточный продукт метаболизма метионина. Регуляция скорости и эффективности метаболизма гомоцистеина зависит от ряда факторов: активности вышеперечисленных ферментов у человека, количества поступающего с пищей метионина, содержания в крови фолиевой кислоты, витаминов B_6 и B_{12} , а также от количества в клетках универсального донатора метильных групп – S-аденозилметионина.

Гомоцистеин даже в небольших концентрациях обладает выраженной цитотоксической активностью по отношению к эндотелию, способен ингибировать циклооксигеназную активность в этих клетках, в результате чего уменьшается продукция простациклина и в то же время усиливается продукция тромбоксана A_2 , что проявляется повышением агрегационной активности тромбоцитов. Гипергомоцистеинемия сопровождается повышенной продукцией тканевого фактора, снижением активности естественных антикоагулянтов и тканевого активатора плазминогена [Кузник Б.И., 2010; Шмелева В.М. и др., 2003; *Homocysteine Research...*, 2005].

Эндотелиальные клетки и продуцируемый ими NO выполняют важную регуляторную роль в обмене гомоцистеина. В нормальных условиях выделяемый клетками избыток гомоцистеина связывается в циркуляторном русле с эндотелиальным

NO с образованием S-нитрозо-гомоцистеина, лишённого цитотоксического эффекта и обладающего способностью вазодилататора и антитромбоцитарного агента. При гипергомоцистеинемии происходит блокада эндотелиальной NO-синтетазы, уменьшается выработка NO и нарушается процесс образования S-нитрозо-гомоцистеина. Гомоцистеин также способен индуцировать активность 3-гидрокси-3-метилглутарил-КОА-редуктазы, что приводит к повышенному синтезу в клетках холестерина и отложению его в местах повреждения эндотелия.

Уровень гомоцистеина в крови взрослых здоровых людей составляет 5-15 мкмоль/л, его концентрация заметно меньше у детей (около 5 мкмоль/л). В целом же данный показатель зависит от возраста, пола, социальной группы, этнической принадлежности, характера питания и образа жизни, что следует учитывать при получении нормативных данных в каждой региональной лаборатории. Различают низкую (от 15 до 30 мкмоль/л), промежуточную (от 30 до 100 мкмоль/л) и тяжёлую (от 100 до 500 и выше мкмоль/л) гипергомоцистеинемии [*Homocysteine Research.., 2005*].

Для оценки склонности к этому состоянию можно использовать нагрузочные пробы с определением толерантности к метионину [*Гуржий А.А., 2008*]. При проведении этой пробы пациенту дают для приема внутрь метионин в дозе 0,1 г на 1 кг массы тела или 3,8 г на 1 м² поверхности тела. До нагрузки метионином и несколько раз после нее измеряют содержание гомоцистеина в плазме крови. В результате оно увеличивается и достигает максимальных значений примерно через 6 ч после начала пробы. У здоровых людей максимальная концентрация гомоцистеина существенно ниже, а уменьшение его концентрации происходит быстрее, чем у больных, склонных к гипергомоцистеинемии [*Шевченко О.П., 2008*].

Измерение уровня гомоцистеина может проводиться различными методами: высокоэффективной жидкостной хроматографией, иммунохимическим или ферментативным способами анализа. Первый метод отличается высокой точностью, но требует дорогостоящего оборудования и подготовленного штата сотрудников. Второй предусматривает использование моноклональных антител против S-аденозилгомоцистеина, третий – наиболее про-

стой и широко применяемый метод, позволяющий проводить анализ на любом биохимическом анализаторе, без участия специфических антител [Хубутія М.Ш., Шевченко О.П., 2004].

2.5. С-реактивный белок

С-реактивный белок (СРБ) открыт Tilet и Francis (1930) в плазме пациентов, больных пневмонией, и был так назван из-за своей способности связывать и осаждать С-полисахарид пневмококков. Он синтезируется в гепатоцитах и является важным участником двух типов воспалительных реакций: А) остро-го воспалительного процесса, связанного с системными инфекциями или с некрозом тканей (например, при ожогах, злокачественных опухолях, при инфаркте миокарда). В таких ситуациях уровень СРБ в сыворотке возрастает в острофазном воспалительном диапазоне от 10 мг/л и выше (вплоть до 1000 мг/л) и отражает тяжесть и динамику системной воспалительной реакции; Б) вялотекущего воспалительного процесса, идущего в эндотелии, связанного с атерогенезом и, как правило, не ассоциированного с остро протекающей инфекцией. В последних случаях концентрация СРБ возрастает лишь в высокочувствительном диапазоне – от 0,05 до 10,0 мг/л. Данное, высокочувствительное измерение СРБ обозначается как измерение hsСРБ (hs – high sensitive – высокочувствительный) [Дисфункция эндотелия..., 2003].

Не подлежит сомнению, что СРБ играет ключевую роль как в атерогенезе, так и в атеротромбозе и служит эффективным предиктором сердечно-сосудистых событий. Считается, что повышение hsСРБ ассоциируется с эндотелиальной дисфункцией, тромбообразованием и инсулинорезистентностью [Кузник Б.И., 2004, 2010].

Показано, что СРБ «опознает» окисленный Х-ЛПНП как чужеродное соединение и стимулирует поглощение окси Х-ЛПНП макрофагами, что ведет к образованию и накоплению пенистых клеток, этот острофазный белок повышает синтез молекул адгезии (ICAM, VCAM, E-selectin, хемокин MCP-1), активирует дифференцировку моноцитов в макрофаги, индуцирует секрецию моноцитарного тканевого фактора (monocyte tissue factor – TF), выход провоспалительных цитокинов из моноцитов,

снижает циркуляцию предшественников эндотелиальных клеток, активирует гладкомышечные клетки, что повышает нестабильность бляшки, блокирует образование NO и нарушает вазореактивность эндотелия, повышает синтез активных форм кислорода, стимулирует синтез матриксных металлопротеиназ в бляшке, повышает активность колагеназы в моноцитах и макрофагах, что ведет к нестабильности бляшки, и, наконец, стимулирует тромбоз за счет подавления ингибитора активатора плазминогена I (PAI-I) и тканевого активатора плазминогена (tPA). В итоге синтез и секреция СРБ в местах атеросклеротических повреждений повышают локальные концентрации СРБ гораздо выше тех его уровней, которые обнаруживаются в плазме. Все перечисленное приводит к проатерогенным, провоспалительным и прокоагуляционным эффектам этого маркера. В целом считается, что чем выше концентрация СРБ в высокочувствительном диапазоне, тем значимее проявляется дисфункция эндотелия [Вельков В.В., 2009; Шевченко О.П., 2003; Devaraj S. et al., 2009; Kavsak P., et al., 2007; Scirica B. et al., 2007; Tanaka A. et al., 2005; Tsimikas S. et al., 2006; Verma S. et al., 2005].

В 2003 г. Американской кардиологической ассоциацией (*American Heart Association*) были рекомендованы правила применения hsСРБ для оценки риска ССЗ и предложены алгоритмы (формулы) подсчета кардиориска, включающие семь показателей: возраст, текущий статус курения, систолическое артериальное давление, общий холестерин, Х-ЛПВП, hsСРБ, случаи ИМ в семейном анамнезе [Pearson T. et al., 2003].

Считается, что перед высокочувствительным определением hsСРБ необходимо провести измерение СРБ в островоспалительном диапазоне (уровни < 10 мг/л), чтобы выяснить, нет ли у пациента острых воспалительных процессов. Если уровень СРБ выше 10 мг/л, проводят обследование пациента для выявления инфекционных, воспалительных или онкологических заболеваний [Шевченко О.П., 2003].

Для определения СРБ существует большое количество тест-систем различных производителей, применение которых способно дать необходимую информацию. В числе других может использоваться набор реагентов «*hs-CRP ELISA*» фирмы Biomerica, www.biomerica.com (Cat. №7033), основанный на иммуноферментном принципе определения.

2.6. Свидетели высокой вязкости крови

Нарушения кровотока обычно вызываются варикозным расширением вен, сдавлением сосудов извне (опухолями, кистами, воспалительными инфильтратами, увеличенной маткой, костными фрагментами), разрушением клапанного аппарата после перенесенного ранее флеботромбоза. Одной из важных причин замедления тока крови служит иммобилизация, приводящая к нарушению функции мышечно-венозной помпы голени. У терапевтических больных, вынужденных соблюдать постельный режим, недостаточность кровообращения, кроме замедления тока крови, приводит к повышению венозного давления, вазодилатации, с также, что весьма важно, увеличению вязкости крови. Полицитемия, гипотермия, эритроцитоз, тромбоцитоз, дегидратация, диспротеинемия, значительное увеличение содержания фибриногена, повышая вязкостные свойства плазмы и крови, замедляют кровоток, что, в свою очередь, способствует внутрисосудистому тромбообразованию.

В 1856 г. Р. Вирхов постулировал, что повреждение стенки сосудов, изменения потока крови и активация свертывания крови являются основными причинами образования венозного тромба [Virchow R., 1856]. Это патофизиологическое представление все еще действительно в настоящее время.

Недавно в эксперименте было показано, что локальное скопление эритроцитов, по ультразвуковым данным, способствует формированию ТГВ (на фоне травмы или стеноза сосудистой стенки) [Yu F. et al., 2011]. Авторы данной работы утверждают, что увеличенное число эритроцитов способно изменять гемостатическое равновесие и выступать критическим фактором в реализации венозного тромбоза. Однако ранее было показано, что уровень гемодилуции, соответствующий величине гематокрита 30–36%, наиболее целесообразен с точки зрения поддержания таких реологических свойств крови, которые не являлись бы факторами, самостоятельно нарушающими гомеостаз: с одной стороны, обеспечивали бы кислород-транспортную функцию крови, с другой – не создавали избыточной гемоконцентрации – фактора, реально способствующего развитию тромбоза [Ройтман Е.В., 2002].

В соответствии с рядом исследований [Braekkan S. et al., 2010; Dormandy J., Edelman J., 1973; Lowe G., 1998; Zuccarelli F., 1995] повышенная вязкость крови и гиперагрегация эритроцитов – классические проявления претромбоза, как с явным, так и неявным ТГВ, которые часто остаются вне внимания специалистов. Крупное исследование, построенное по типу «случай – контроль» показало, что гиперфибриногенемия в большей мере способствовала опасности рецидива ТГВ в сравнении с гипергомоцистеинемией и дефицитом физиологических антикоагулянтов [Christiansen S. et al., 2005]. Высокая концентрация фибриногена у пациентов в возрасте старше 45 лет увеличивает риск тромбоза в 4,2 раза [Chien S., 1967; van Hylckama V., Rosendaal F., 2003].

Международным обществом по тромбозу и гемостазу (ISTH) также определена важная роль измененных реологических параметров – гиперфибриногенемии, агрегации эритроцитов и вязкости плазмы крови как факторов риска венозных тромбозомболических осложнений [Alt E. et al., 2002].

С учетом изложенного выше мы считаем, что нарушение реологических свойств крови может и должно расцениваться не только в качестве одного из факторов тромбогенного риска, но и как проявление претромбоза или состояния тромботической готовности, предшествующего внутрисосудистому тромбообразованию.

В настоящее время не подлежит сомнению склонность к тромбозам, инфарктам органов и гангренам конечностей больных с миелопролиферативными заболеваниями. Частота таких осложнений составляет 30% и более [Баркаган З.С., 1980]. Причина такой наклонности к тромбозам заключается в повышении вязкости крови, которая тем выше, чем более высоки у больных уровень гемоглобина и число эритроцитов в крови, гематокритный показатель, а также замедленное СОЭ. У этих пациентов может быть также повышено содержание тромбоцитов в крови и увеличен уровень их спонтанной агрегации. Содержание эритроцитов в крови, превышающее $5 \times 10^{12}/л$, с соответствующим высоким содержанием гемоглобина (свыше 170 г/л) и замедление СОЭ (менее 3 мм/ч) в результате обезвоживания или сопутствующих миелопролиферативных заболеваний часто является критическим фактором риска, включаю-

щим, на фоне имеющейся предрасположенности, механизмы реализации тромбоза коронарных, мозговых и периферических кровеносных сосудов.

Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) – общедоступный, легко выполнимый метод для определения повышенной вязкости крови, используемый при общеклиническом обследовании больных [Луговская С.А., Долгов В.В., 2006; International Council for Standardization in Haematology., 1993]. СОЭ – показатель скорости разделения крови в пробирке на два слоя. Процесс оседания (седиментации) эритроцитов можно разделить на три фазы, которые происходят с разной скоростью:

- эритроциты медленно оседают отдельными клетками;
- эритроциты образуют агрегаты, или «монетные столбики», и оседание происходит быстрее;
- образуется большое число агрегатов эритроцитов, их оседание сначала замедляется, а в последующем постепенно прекращается.

Этот показатель меняется в зависимости от ряда физиологических и патологических факторов:

- в течение дня возможно колебание значений, максимальный уровень отмечается в дневное время;
- анемия в крови приводит к ускорению СОЭ и, напротив, повышение содержания эритроцитов в крови замедляет скорость седиментации;
- основным фактором, влияющим на образование «монетных столбиков» при оседании эритроцитов, является белковый состав плазмы крови. Острофазные белки, адсорбируясь на поверхности эритроцитов, снижают их заряд и отталкивание друг от друга, способствуют образованию монетных столбиков и ускоренному оседанию эритроцитов;
- при хроническом воспалении повышение СОЭ обусловлено увеличением концентрации фибриногена и иммуноглобулинов;
- дегидратация и повышение концентрации альбуминов сопровождается снижением СОЭ;
- при морфологических изменениях эритроцитов.

Наиболее часто встречающиеся формы эритроцитов могут приводить к изменению агрегационных свойств эритроцитов, что, в свою очередь, сказывается на СОЭ. Эритроциты аномальной или необычной формы, такие как серповидные, с формой, препятствующей образованию столбиков, приводят к замедлению СОЭ. Сфероциты, анизоциты и пойкилоциты также влияют на агрегацию эритроцитов, снижая СОЭ. Макроциты имеют заряд, соответствующий их массе, и оседают быстрее.

Наиболее частой причиной значительного замедления СОЭ является увеличение вязкости крови при заболеваниях и синдромах, сопровождающихся увеличением числа эритроцитов (эритремия, вторичные эритроцитозы). При этом основное влияние на скорость оседания эритроцитов, взвешенных в плазме, оказывает степень их агрегации [Баркаган З.С., 2005; Луговская С.А., Долгов В.В., 2006].

Тем не менее определение СОЭ с целью выявления гипервязкости крови можно рассматривать не более, как ориентировочный метод.

Другой широко доступный метод косвенной оценки повышенной вязкости крови – учет показателей «красной крови», получаемый с помощью любого современного гематологического анализатора. Число эритроцитов, уровень гемоглобина и величина гематокрита косвенно могут свидетельствовать в пользу наличия полиглобулии [Баркаган З.С., 1988, 2005; Клиническая онкогематология., 2007]. Поэтому используется так называемая «проба на упаковку»: одна и та же кровь центрифугируется в гематокритных капиллярах одновременно при 1000 об./мин и при 10000 об./мин. Сравнение результатов более надежно в оценке (поли)глобулии как реального фактора, влияющего на реологические свойства крови.

Важно, что в клинической практике необходимо применять только унифицированные методы исследования и аппаратуру, предполагающие стандартизацию измерений и контроль качества, единую терминологию и единицы измерения. Для адекватной оценки гемореологических свойств должно использоваться комплексное исследование, с одновременным получением вискозиметрических, агрегометрических данных и ин-

формации о деформируемости эритроцитов. Запись результатов гемореологического обследования должна иметь вид формализованного протокола [*Ярославское соглашение...*, 2003].

Поэтому основной подход заключается в прямом инструментальном измерении гемореологических свойств крови и плазмы.

Имеется несколько интересных сообщений о вкладе синдрома высокой вязкости крови в формирование состояния тромботической готовности.

Так, по данным диссертационной работы Е.В. Ройтмана, для послеоперационных осложнений в кардиохирургической практике характерна определенная последовательность событий, при которой гемореологические изменения фиксируются за 1–2 часа до развития протромботических нарушений свертывания крови и микроциркуляции и за 2–4 часа до клинических проявлений последних [*Ройтман Е.В.*, 2002]. В другой работе продемонстрировано, что у больных с септическим ДВС-синдромом имеется повышение вязкости крови, плазмы и спонтанной агрегации эритроцитов при их низкой кислотной резистентности и отсутствии значимых изменений деформабельности эритроцитов [*Усынин В.В.*, 2000]. Более подробно на этих вопросах остановились в своей монографии *Д.В. Муравьев* и *С.В. Чепоров* (2009).

Для адекватной оценки гемореологических свойств необходимо использовать комплексное исследование, предполагающее одновременное получение вискозиметрических, агрегометрических данных и информации о деформируемости эритроцитов на базе современного оборудования (табл. 14, рис. 10). [*Ройтман Е.В.*, 2002; *Dealy J.*, 1995; *Forconi S.*, 1985; *Korotaeva T. et al.*, 2007; *Lingard P.*, 1977].

С особенностями и технологией гемореологических измерений в клинической практике можно ознакомиться по материалам ряда русскоязычных публикаций [*Муравьев Д.В.*, *Чепоров С.В.*, 2009; *Реологические исследования в медицине...*, 1997, 2000; *Ройтман Е.В. и др.*, 2000; *Фирсов Н.Н.*, 2002; *Фирсов Н.Н. и др.*, 2000а,б].

Таблица 14

Формализованный протокол записи результатов
гемореологического обследования [Ройтман Е.В. и др., 2000]

Данные о пациенте					
Материал исследования	Кровь		Место взятия	Время взятия	Время исслед.
	венозная	артер.			
Вискозиметрия	Вискозиметр		Тип	Диапазон скоростей/ напряжений сдвига	
Агрегометрия	Агрегометр			Метод детекции	
Деформируемость эритроцитов	Прибор			Метод определения	Фильтр
Результаты			Референтный лаборат. диапазон		
Вискозиметрия					
Гематокрит, %					
Вязкость, η_{sp} , мПа×с					
Высокий сдвиг (τ или $\dot{\gamma}$)					
Низкий сдвиг (τ или $\dot{\gamma}$)					
Асимптотическая вязкость, мПа×с					
Кессоновская вязкость, K , мПа×с					
АсимпВ - Кессон.вязкость, мПа×с					
Относительная вязкость, η_r					
Вязкость плазмы, η_p , мПа×с					
Вязкость сыворотки, η_s , мПа×с					
η_p/η_s					
Предел текучести, τ_0 , мПа					
Агрегометрия					
Буфер:					
Гематокрит, %					
Время образования линейных агрегатов, T_1 , с					
Время образования трехмерных агрегатов, T_2 , с					
Конечный размер агрегатов, $Ampl$					
Общая гидродинамическая прочность агрегатов, β , с ⁻¹					
Индекс прочности особо крупных агрегатов, $I_{r^{2.5}}$, %					
Индекс агрегации эритроцитов					
Исследование деформируемости эритроцитов					
Индекс ригидности, IR					
Индекс деформации эритроцитов					
Заключение:					



Рис. 10. Внешний вид реометра Low Shear LS 300:

основные характеристики: вязкость – $1,5 \times 10^{-3}$ – $6,0 \times 10^6$ мПа x с; напряженность сдвига – $2,0 \times 10^{-5}$ – $6,0 \times 10^{-1}$ мПа; скорость сдвига – $3,5 \times 10^{-3}$ – $2,5 \times 10^2$ с⁻¹; объем заливаемой пробы – 0,07–2,4 см³

Для определения вязкостных характеристик крови и плазмы, а также показателей агрегации эритроцитов может быть использован зарегистрированный в России лазерный агрегометр-деформометр эритроцитов (Реометр Low Shear LS 300, ProRheo Inc, Hanover, Germany, www.ecomeds.ru; www.proRheo.de). Этот прибор представляет собой ротационный вискозиметр с низкой скоростью сдвига, работающий по принципу Куэтта, то есть с вращающимся внешним цилиндром-стаканом и неподвижным внутренним измерительным цилиндром, с соответствующим программным обеспечением.

2.7. Интегральные методы оценки состояния тромботической готовности

События последних лет в области фундаментальной и клинической гемостазиологии оказались весьма плодотворны в части появления новых или усовершенствованных традиционных технологий для решения чрезвычайно важной задачи – раннего, субклинического распознавания активации внутрисосудистого свертывания крови, предшествующей тромбозу. Способствовало этому понимание значимости в реализации тромботических событий конечного этапа свертывания крови и новые представления о реакциях гемостаза «*in vivo*».

2.7.1. Тромбоэластография/тромбоэластометрия

Как отмечалось выше, классический скрининг нарушений свертываемости крови включает в себя обычные коагуляционные тесты, такие как активированное парциальное (или частичное) тромбопластиновое время и протромбиновое время свертывания плазмы крови, обедненной тромбоцитами. Наряду с этим, сравнительно недавно произошло возрождение популярного, но неудобного и мало воспроизводимого в прошлом интегрального теста для оценки свертывающей системы крови – тромбоэластографии (ТЭГ), с исследованием крови, в том числе у постели больного (рис. 11–13).

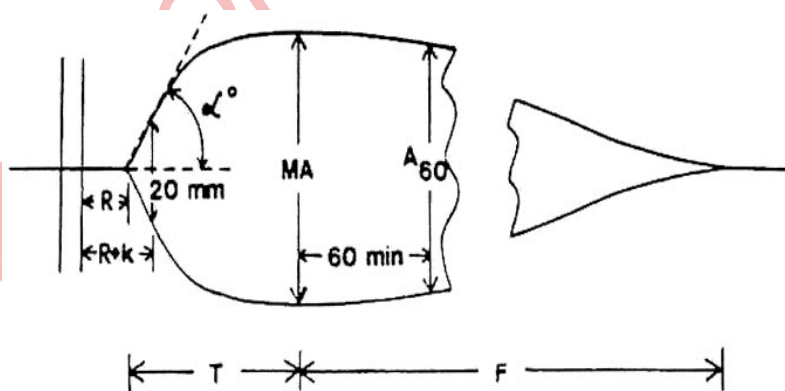


Рис. 11. Оценка результатов классической тромбоэластографии

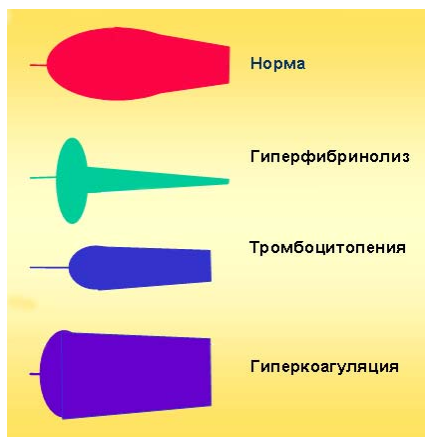


Рис. 12. Схематические варианты записи ТЭГ в норме и при различных патологических состояниях



Рис. 13. Внешний вид компьютерного тромбоэластометра Rotem delta® фирмы Pentapharm (Япония)

Усовершенствованный метод носит название «активационная тромбоэластометрия». Он также выполняется на стабилизированной цитратом натрия крови (или так называемой цельной крови) при добавлении к ней различных активаторов коагуляционных реакций. Анализ проводится в специальных одноразовых микрокуветах при +37 °С, а его результаты учитывают появление, упрочнение и последующий лизис фибринового сгустка. Считается, что описываемый метод позволяет оценить сдвиги во всех звеньях системы гемостаза в течение 5–15 мин [Johansson P. et al., 2009], однако для учета всех необходимых показателей, как показывает наш опыт, может потребоваться 30–40 мин.

Особенностью ТЭГ является возможность учета вклада как плазменных, так и клеточных (тромбоциты, эритроциты, лейкоциты) участников гемостатических реакций в их фактической концентрации [Chakroun T. al., 2006]. С его помощью можно выявить ранние признаки внутрисосудистого свертывания крови и гипокоагуляцию, обусловленную дефицитом факторов свертывающей системы крови, диагностировать нарушения агрегации тромбоцитов, гиперфибринолиз, оценить эффективность антикоагулянтной и антиагрегантной терапии в сердечно-сосудистой хирургии, реаниматологии, травматологии, трансфузиологии и гематологии, акушерстве и др. [Исраелян Л.А. и др., 2009; Johansson P. et al., 2009].

Тромбоэластография впервые была описана в 1948 г. Н. Hartert (1948) как метод для оценки вязкоупругих свойств фибрина, формирующегося в крови [Salooja N., Perry D., 2001] (см. рис. 11). В прошлом этот метод достаточно широко использовался в клинике, однако проблемы заключались в низкой воспроизводимости результатов в силу технологических особенностей аппаратного обеспечения и применения многоразовых кювет.

На современном уровне, при использовании технологии ТЭГ можно успешно проследить все три основные фазы свертывания крови: иницирования, усиления и распространения [Hoffman M., Monroe D., 2005; Roberts H. et al., 2004].

Как известно, во время фаз «инициации» и «усиления» активированный фактор VII (Ф-VIIa) образует комплекс с тканевым фактором (TF) на поврежденном эндотелии, следствием

чего является формирование небольших, запальных количеств тромбина, необходимых главным образом для активации тромбоцитов. В фазе «распространения» факторы коагуляции собираются на мембранах «распластанных» лабильзированных тромбоцитов, где и образуется большое количество тромбина – возникает, так называемый «тромбиновый взрыв». Время и интенсивность генерации тромбина влияют на структуру и плотность фибринового сгустка во времени [Allen G. et al., 2004], в том числе опосредованно через активацию фибрин-стабилизирующего фактора XIII [Сидор Н.В., Момот А.П., 2003; Lorand L., 2001] и тромбоцитов. Кроме того, тромбин приводит к действию тромбин-активируемый ингибитор фибринолиза (ТАФИ), уменьшающий интенсивность последующих фибринолитических реакций [Bouta B., Meijers J., 2000].

Сегодня в России доступны два варианта приборов для проведения ТЭГ. Это компьютерный тромбоэластометр ROTEM delta® (4-канальный) фирмы «TEM INNOVATIONS» (Германия) (см. рис. 13) и тромбоэластограф TEG® 5000 («Haemoscope Corporation», США). Считываемые с их помощью показатели приведены в таблице 15.

Таблица 15

Характеристика показателей при тромбоэластографии
[Di Benedetto P. et al., 2003; Nielsen V. et al., 2006;
Sorensen B., Ingerslev J., 2005]

Учитываемый показатель		Интерпретация параметра
ROTEM delta® (4 канала измерений)	TEG® 5000 (2 канала измерений)	
CT	R	Активация плазменных факторов свертывания
CFT	K	Скорость образования сгустка, участие тромбоцитов
<i>a-angle</i>	<i>a-angle</i>	Плотность и стабильность фибринового сгустка
MCF	MA	Качество или эластичность сгустка, зависящие от участия тромбоцитов и Ф-ХIIIа
CL	<i>L_y</i>	Динамика растворения фибрина

После исследования структурных изменений сгустка фибрина методом электронной микроскопии было показано, что показатель R (TEG)/CT (ROTEM) соответствует фазе инициации, тогда как K (TEG)/CFT (ROTEM) отражает фазу усиления.

«Тромбиновый взрыв» проявляет себя углом α (TEG/ROTEM) и определяет плотность и стабильность фибринового сгустка [Johansson P. et al., 2008a,b; Rivard G. et al., 2005]. Воспроизводимость результатов современных вариантов ТЭГ составляет примерно 5–15% – для различных параметров и при ежедневном измерении [Johansson P. et al., 2008a,b; Lang T. et al., 2005].

Считается, что ТЭГ является оптимальным методом контроля гемостаза при кровотечениях [Reikvam H. et al., 2009], однако он имеет несомненное значение и для определения риска тромботических осложнений, по мнению A. Tripodi et al. (2009), большее, чем тест генерации тромбина. В рамках клинических наблюдений описаны результаты применения ТЭГ при гипотермии [Kheirabadi B. et al., 2007], ацидозе [Viuff D. et al., 2008], переливании кровезаменителей [Буланов А.Ю. и др., 2009; Jones S. et al., 2003], использовании шунтирующих гемостаз препаратов [Hendriks H. et al., 2002] и ингибиторов фибринолиза [Nielsen V. et al., 2007].

Особенностью современных приборов для проведения ТЭГ является нацеленность на выполнение конкретных задач, и на смену обычной рекальцификации стабилизированной цитратом крови пришли различные активаторы коагуляционных реакций (табл. 16).

Для определения склонности к внутрисосудистому тромбообразованию при выполнении ТЭГ целесообразно применять реагенты, предназначенные для оценки внутреннего механизма свертывания крови, в том числе с использованием каолина.

Таблица 16

Комплекты реагентов и их назначение при проведении ТЭГ

ROTEM delta®	TEG® 5000
EXTEM – оценка внешнего пути свертывания крови (участвуют факторы VII, X, V, II, фибриноген), слабая чувствительность к гепарину	С каолином – сокращение времени постановки пробы до 10-15 мин (классическая тромбоэластограмма 20-30 мин)
INTEM – оценка внутреннего пути свертывания крови (XII, XI, IX, VIII, X, V, II, фибриноген), высокая чувствительность к гепарину	С гепариназой – оценка гемостаза в присутствии гепарина, оценка нейтрализации гепарина, диагностика феномена «heparin-rebound»
APTEM = (EXTEM + аprotинин) – тест для выявления гиперфибринолиза	«RapidTEG» – тест с каолином и тканевым фактором – экспресс-оценка конечного этапа свертывания
HEPTEM = (INTEM + гепариназа) – тест для выявления гепаринемии	«Functional Fibrinogen» – тест определения функциональной активности фибриногена
FIBTEM = (EXTEM+ цитохалазин D) – тест для определения вклада фибрина в образование сгустка крови	«Platelet Mapping ADP» – тест с АДФ. Оценка эффективности применения «Плавикса»
	«Platelet Mapping AA» – тест с арахидоновой кислотой. Оценка эффективности применения «Аспирина»
	«Platelet Mapping ADP & AA» – тест с АДФ и арахидоновой кислотой. Оценка резистентности и эффективности применения «Плавикса» и «Аспирина»

2.7.2. Тест генерации тромбина

Для контроля за системой свертывания крови был предложен метод, основанный на оценке флуоресцентного сигнала – тест генерации тромбина (ТГТ, thrombin generation activity), позволяющий с высокой точностью измерять динамику образования и инактивации тромбина [Морозов Ю.А., 2003; Hemker H. et al., 2000, 2002; Regnault V. et al., 2003].

Тромбин известен как ключевой фермент не только системы свертывания крови, что определяется его многочисленны-

ми эффектами. Образуюсь из неактивного предшественника (фактора II – протромбина), эта сериновая протеиназа отвечает за следующие важнейшие функции:

- протеолиз фибриногена до фибрин-мономеров, которые спонтанно полимеризуясь, образуют сгусток фибрина;
- активация факторов свертывания крови V, VII, VIII и XI по принципу положительной обратной связи;
- участие в стабилизации фибрина через активацию фактора XIII и прокарбокситептидазу B;
- активация агрегационной функции тромбоцитов;
- в комплексе с тромбомодулином тромбин активирует протеин C, т.е. посредством данного механизма не только способствует гемокоагуляции, но и сдерживает распространение свертывания крови;
- способствует действию так называемого активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI), располагающегося на фибрине.

Тромбин взаимодействует и с эндотелием, при этом его протромбогенные воздействия в значительной мере уравниваются антикоагулянтными, антиагрегантными и профибринолитическими (табл. 17).

Для образования фибринового сгустка достаточно сравнительно небольшой активности тромбина. Но его избыточная активность играет уже тромбогенную роль [Атауллаханов Ф.И., 2000; Пантелеев М.А. и др., 2011]. Участие в процессах свертывания крови, активации сосудистого эндотелия, клеточного роста, репарации, онкогенезе, активации клеток крови, мобилизации фибринолитических реакций – все это наиболее изученные функции тромбина.

Приведенные выше соображения делают понятными надежды диагностов на появление универсального интегрального маркера, отражающего различные механизмы активации гемостаза, неизбежно приводящие к тромбинемии. В чем же особенности данного метода, использующегося сегодня преимущественно в области научных исследований и фармацевтическими компаниями при разработке и оценке эффективности новых лекарственных препаратов?

Таблица 17

Эффекты тромбина при взаимодействии с сосудистой стенкой
[Долгов В.В., Свирин П.В., 2005]

Прокоагулянтное действие	Антикоагулянтное действие
1. Синтез и высвобождение фактора агрегации тромбоцитов (FAT)	1. Синтез и высвобождение простаглицлина (ингибитора агрегации тромбоцитов)
2. Выброс в кровоток фактора Виллебранда	2. Синтез и высвобождение оксида азота (антиагреганта и вазодилатора)
3. Экспрессия Р-селектина и адгезия лейкоцитов к эндотелию сосудистой стенки	3. Экспрессия активатора плазминогена тканевого типа (tPA)
4. Повышение проницаемости эндотелиальной выстилки кровеносных сосудов	4. Связывание с тромбомодулином и последующая активация протеина С
5. Экспрессия тканевого фактора (TF) и активация тканевого пути активации свертывания крови	5. Взаимодействие с антитромбином III и гепарином, а также с гепариноподобными субстанциями сосудистой стенки
6. Высвобождение ингибитора активатора плазминогена тканевого типа (PAI-1)	6. Высвобождение ингибитора внешнего механизма свертывания (TFPI)
7. Высвобождение провоспалительных цитокинов из эндотелиальных клеток	
8. Пролиферация гладкомышечных клеток сосудов	

Принцип ТТТ заключается в измерении количества тромбина (в нМ), который образуется при рекальцификации цитратной плазмы в присутствии фиксированной концентрации тканевого фактора и флюорогенного субстрата. С помощью флюориметра и компьютерной обработки данных за определенный отрезок времени измеряют площадь кривой генерации тромбина, имеющей восходящую часть, участок достижения максимума и нисходящую часть, характеризующую инактивацию этого фермента. Данная методика имеет определенное сходство с известным двухступенчатым аутокоагуляционным тестом по Berkarda et al., предложенным еще в 1965 г. [Балуда В.П. и др., 1980], который по целому ряду причин используется сегодня разве что в неонатологии.

Как вариант выполнения метода, можно привести следующее описание технологии выполнения ТГТ, недавно опубликованное Ю.А. Наместниковым (2010). Учитывая рекомендации Н. Hemker [Hemker H. et al., 2003] используется планшетный флюориметр *Fluoroskan Ascent* «ThermoFisher SCIENTIFIC» (Финляндия), оснащенный диспенсером, с программным обеспечением «Thrombinoscope 3.0.0.26». В лунках 96-луночного планшета инкубируется смесь образца исследуемой плазмы с активатором, представленным тканевым фактором (TF) человека, и отрицательно заряженными фосфолипидами (фосфатидилсерин, фосфатидилэтаноламин и фосфатидилхолин). После инкубации смеси при температуре +37 °С в лунки вносится буфер, содержащий ионизированный кальций и флюорогенный субстрат (*Z-Gly-Gly-Arg-AMC*). Образующийся тромбин расщепляет субстрат, в результате чего высвобождается флюорофор. Его излучение регистрируется через равные промежутки времени, причем интенсивность свечения пропорциональна концентрации образовавшегося тромбина, кривая генерации которого отмечается на графике.

В кривой генерации тромбина учитываются следующие показатели: *lag time* (время запаздывания, мин) – время, измеренное от внесения смеси флюорогенного субстрата с ионизированным кальцием в лунку с образцом плазмы и активатором, до момента значимого отклонения сигнала; *Peak thrombin* (пиковая концентрация тромбина, нМ) – максимальная концентрация тромбина в единицу времени; *Time to peak/tt Peak* (время достижения пика тромбина, мин) – время, за которое достигается максимальная концентрация тромбина; *ETP* (*endogenous thrombin potential* – эндогенный тромбиновый потенциал, нМ×мин) – площадь под кривой генерации тромбина, учитывающей особенности инактивации этого фермента (рис. 14 и 15).

Тест генерации тромбина активно изучается в качестве метода оценки предтромбоза. Так, показано, что в группе больных с венозными тромбозами в анамнезе и при носительстве мутаций фактор V Лейден и протромбина (G 20210A) имеется статистически значимое увеличение ETP и Peak thrombin, что свидетельствует о его высокой чувствительности в случае опасности внутрисосудистого свертывания крови [Dargaud Y. et al., 2006].



Рис. 14. Планшетный флуориметр Fluoroskan Ascent для выполнения теста генерации тромбина

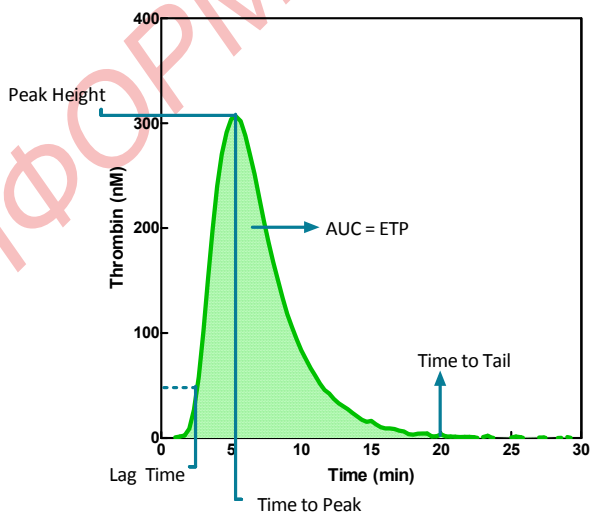


Рис. 15. Тромбограмма по результатам теста генерации тромбина

Величина пика активного тромбина (peak thrombin) оказалась независимым показателем риска рецидива тромбоза у группы пациентов (861 человек), отказавшихся от непрямой антикоагулянтной терапии [Eichinger S. et al., 2008; Hron G. et al., 2006]. Вероятность повторного тромбоза в данных работах параллельно оценивалась по уровню D-димеров. Определено, что значение активности генерируемого тромбина превосходило по прогностической значимости количественное определение D-димеров.

S. Tchaikovski et al. (2007) отметили развитие APC-резистентности у женщин, принимающих эстроген-содержащие контрацептивы. При этом авторы, сравнив влияние на гемостаз препаратов 2-го и 3-го поколений с помощью ТТТ, пришли к выводу о большей тромбогенной опасности более современных контрацептивов.

Интересно, что при септическом ДВС-синдроме, несмотря на гипокоагуляционный сдвиг коагулограммы, интенсивность генерации тромбина может быть нормальной или даже повышенной [Collins P. et al., 2006].

С 2011 г. в Алтайском гематологическом центре проводятся исследования по определению динамики генерации тромбина при выполнении технологии экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и оценки его прогностического значения для наступления беременности. Как известно, проблема бесплодия по социальной значимости занимает одно из ведущих мест в современном акушерстве. При этом неудачи ЭКО могут быть обусловлены многими факторами, но к важным причинам относят как тромбогенность самой технологии (гормональная нагрузка), так и частое наличие у женщин этой группы склонности к внутрисосудистому свертыванию крови.

С целью определения динамики генерации тромбина и оценки прогностической роли результатов ТТТ для возникновения беременности в цикле ЭКО нами были отобраны 100 женщин, обратившихся по поводу бесплодия для прохождения программы ЭКО. Из них у 50 беременность наступила (группа 1), в остальных же 50 случаях неудача ЭКО сопровождалась синдромом гиперстимуляции яичников (группа 2). Средний возраст пациенток составил $33,8 \pm 0,4$ года. У всех женщин был заре-

гистрирован регулярный менструальный цикл, противопоказаний к беременности и родам выявлено не было.

Для исследования гемостаза, наряду с постановкой ТГТ, применялись рутинные методы коагулограммы, включающие определение растворимого фибрина и D-димеров. Обследование проводилось в динамике в образцах плазмы крови, полученных у пациенток, перед началом гормональной стимуляции (исходный фон - 1-й этап), за 2-3 дня до пункции яйцеклеток (2-й этап) и на 12-14 день после переноса эмбрионов (3-й этап), когда исход ЭКО был уже известен. Анализы выполнялись на автоматическом коагулометре *Systex 1500* (Япония) и указанном выше планшетном флюориметре.

По результатам оценки параметров гемостаза и показателей ТГТ, при выявлении тромбогенных сдвигов пациенткам проводилась антитромботическая профилактика, включающая назначение ингибиторов функции тромбоцитов, трансдермальных форм гепарина, сулодексида, а в ряде случаев - низкомолекулярных гепаринов.

По результатам исследований, наиболее информативным индикатором тромбогенности в нашем случае оказался показатель *Peak thrombin* в ТГТ, характеризующий максимальную концентрацию тромбина в плазме крови пациента в единицу времени. Этот параметр существенно различался в обеих группах на 2-м и 3-м этапах наблюдения. Правда, до вхождения в цикл ЭКО (1-й этап) эти различия были незначительными - в группе 1 средние значения пиковой концентрации тромбина составили $306,87 \pm 6,57$ нмоль/л (с пределами $\pm 2\sigma$ 276,87-336,87 нмоль/л), а в группе 2 этот показатель был равен в среднем $322,68 \pm 5,51$ нмоль/л (298,08-322,68 нмоль/л); $P_{1-2} > 0,05$.

На 2-м этапе наблюдений, перед пункцией яйцеклеток, в группе 1, средние значения *Peak thrombin* оказались равными $334,32 \pm 4,65$ нмоль/л (313,52-355,12 нмоль/л), против $394,07 \pm 7,57$ нмоль/л (360,07-428,11 нмоль/л) у женщин группы 2; $P_{1-2} < 0,001$. Соответственно, в конце цикла ЭКО, на 3-м этапе наблюдений, в группе 1 изучаемый показатель составил $301,83 \pm 3,95$ нмоль/л (284,17-319,49 нмоль/л), а в группе 2 - $374,15 \pm 8,83$ нмоль/л (334,63- 413,67 нмоль/л); $P_{1-2} < 0,001$.

Эти данные, полученные с помощью современной, высокоточной технологии, демонстрируют связь избыточной генерации тромбина с неудачами ЭКО. Указанная взаимосвязь также подтверждается коэффициентом корреляции, равным $-0,879$ ($P < 0,001$), между величиной пиковой концентрации тромбина и исходом экстракорпорального оплодотворения, с точки зрения наступления беременности.

Поскольку факт наличия гипертромбинемии определяется в цикле ЭКО достаточно рано, еще до пункции яйцеклетки, в распоряжении аусеров-гинекологов появляется перспективная возможность улучшения прогноза применения данной репродуктивной технологии путем использования более массивной гепаринотерапии, чему будут посвящены наши дальнейшие исследования в этом направлении.

При выявлении состояния тромбоцитической готовности справедливо возникает вопрос о соотносительной ценности определения способности плазмы к гиперпродукции тромбина и количественной оценки D-димеров – продуктов состоявшегося фибринообразования и фибринолиза. В этой связи показано, что избыточная продукция тромбина в ТГТ сочетается с высокими уровнями D-димеров [Eichinger S. et al., 2008]. Тем не менее эти показатели совершенно различны, они прежде всего отражают различные стадии процесса свертывания крови. Оценка генерации тромбина с помощью ТГТ показывает состояние гемостаза в целом, подразумевая баланс про- и антикоагулянтных его участников/звеньев гемостаза [Hemker H. et al., 2003].

Итак, способность системы гемостаза генерировать тромбин обуславливается многими механизмами и факторами, что и позволяет рассматривать ТГТ как «глобальный», отражающий состояние тромбоцитической готовности взамен, по всей видимости, ряду методов оценки этого состояния. Однако низкая стандартизация метода на этапе подготовки плазмы к исследованию (преаналитическом этапе), а также высокая стоимость оборудования и расходных материалов пока являются препятствиями на пути широкого использования ТГТ в клинической практике [Van Veen J.J. et al., 2008]. В 2011 г. в русскоязычной литературе были опубликованы необходимые требования преаналитического этапа, важные для получения достоверных результатов этого теста [Наместников Ю.А. и др., 2011].

2.7.3. Исследование пространственной динамики роста сгустка

Новый метод исследования пространственной динамики роста сгустка фибрина (Тромбодинамика) был разработан в лаборатории физической биохимии Гематологического научного центра РАМН и описан в ряде фундаментальных и прикладных работ [Синауридзе Е.И. и др., 2009; Ovaneson M. et al., 2008; Sinauridze E. et al., 2007]. В соответствии с описанием разработчиков анализ проводится в тонком слое плазмы, свертывание в которой активируется тканевым фактором, фиксированным на одной из сторон измерительной кюветы. В ходе исследования ведется видеосъемка растущего сгустка фибрина, параметры которого позволяют судить о динамике фибринообразования во времени и пространстве, в двух системах координат [Пантелеев М.А. и др., 2011].

Оценка параметров Тромбодинамики включает в себя показатель начальной скорости роста фибринового сгустка (V_1 , мкм/мин) и выраженность образования спонтанных сгустков (ВОС, в баллах от 0 до 3). Последний ранжируется в следующем виде: 0 баллов – нет спонтанных сгустков; 1 балл – один или два спонтанных сгустка фибрина, занимающих незначительный объем измерительной кюветы; 2 балла – три или более спонтанных сгустков, занимающих объем до 1/3 пространства кюветы; 3 балла – спонтанные сгустки фибрина занимают от 1/2 до полного заполнения объема кюветы.

В настоящее время анализатор «ТромбоИмиджер-2» для оценки пространственной динамики роста сгустка фибрина и расходные материалы к нему (разработанные ООО «Гема-Кор») проходят клиническую апробацию в российских клинических центрах, в том числе и на базе Алтайского гематологического центра в рамках темы, связанной с изучением эффективности тромбопрофилактики после планового эндопротезирования суставов.

2.7.4. Оценка полимеризации фибрин-мономера

При лабораторном скрининге нарушений гемостаза в клинической практике широко используют так называемые «глобальные» тесты, призванные оценивать изменения гемоста-

тических реакций в целом и не способные распознавать отдельные причины этих нарушений. Чаще всего при интерпретации их результатов имеет место заключение о наличии гипо- или гиперкоагуляционного сдвига коагулограммы. В число этих тестов входят протромбиновое время (ПВ) свертывания и активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ/АЧТВ), с помощью которых оценивают свертывание крови соответственно по внешнему и внутреннему механизмам гемокоагуляции. Нередко к категории «глобальных» тестов относят и тромбиновое время (ТВ) свертывания, данные которого, как принято считать, отражают нарушения конечного этапа свертывания. Однако информативность последнего метода сомнительна, поскольку он мало чувствителен к дефектам гемостаза, за исключением случаев гепаринотерапии или глубокой гипофибриногенемии (менее 1,0 г/л).

В Алтайском гематологическом центре разработан новый метод оценки конечного этапа свертывания крови по стандартизированному определению времени самосборки фибринмономера в плазме крови пациента (Патент РФ 2366955, приоритет от 24.08.2007), показавший высокую точность результатов и неожиданную высокую информативность не только при определении причин повышенной кровоточивости, но и в качестве маркера состояния тромботической готовности [Момот А.П. и др., 2010,б]. На этой основе фирмой «Технология-Стандарт» (Россия) зарегистрирован и освоен выпуск принципиально нового набора реагентов «Тех-Полимер-Тест» (РУ № ФСР 2010/09302), предназначенного для мануальных или коагулометрических определений нарушений свертывания крови на его конечном этапе.

Ниже приводятся результаты клиничко-лабораторной апробации нового «глобального» метода оценки конечного этапа свертывания крови при венозных тромбозах.

Принцип метода. Определяется время свертывания плазмы крови под действием тромбина стандартной активности в присутствии фиксированной концентрации ингибиторов полимеризации фибрин-мономеров (ФМ). Данный показатель отражает динамику образования и время полимеризации ФМ в исследуемом образце плазмы крови.

Подготовка реагентов к работе и ход определения приведены в инструкции к набору реагентов «Тех-Полимер-Тест».

Оценка результатов. Отмечают время полимеризации (сек) у больного с указанием значений, полученных при исследовании контрольной плазмы.

Интерпретация результатов. Удлинение показателя может свидетельствовать о наличии дисфибриногенемии либо гипокоагуляционного сдвига, обусловленного нарушением фибринообразования. Укорочение указывает на гиперкоагуляционный сдвиг на конечном этапе свертывания крови.

В число методов сравнения были включены АПТВ, ПВ, ТВ, анцистроновое время (аналог рептилазного теста), определение уровня растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК), которые выполнялись с использованием наборов и реагентов фирмы «Технология-Стандарт». Кроме того, исследовалась активность фактора VIIa, а также содержание фибринопептида А (ФПА), фрагментов протромбина₁₊₂ (ФП₁₊₂) и D-димеров (с помощью наборов реагентов компаний Axis-Shield, American Diagnostica Inc. и Siemens).

Апробация теста была выполнена на образцах плазмы крови 80 больных с активацией свертывания крови (тяжелый гестоз, двухсторонняя пневмония, пиелонефрит, антифосфолипидный синдром, политравма, верифицированный венозный тромбоз, ТЭЛА), 77 больных с геморрагической мезенхимальной диспазией и 75 практически здоровых людей.

Контрольные показатели оценки времени полимеризации ФМ у практически здоровых людей (при использовании полуавтоматического коагулометра «Минилаб 704», Россия) оказались равными: $30,70 \pm 0,46$ сек, с пределами $\pm 1,5\sigma$ от 27,79 до 36,82 сек и коэффициентом вариации 8,5%.

У больных с мезенхимальной диспазией, которая часто сопровождается врожденной дисфибриногенемией, искомый показатель составил в среднем $40,24 \pm 0,39$ сек ($P_k < 0,001$), в то время как значения тромбинового и анцистронового времени свертывания, по средним данным, практически не удлинялись (составив соответственно $15,11 \pm 0,08$ сек, в контроле – 15,03 и $29,26 \pm 0,45$ сек, против 29,03,33 сек). Кроме того, коэффициент корреляции (Спирмена) значений времени полимеризации ФМ

с результатами измерения АПТВ составил 0,151, ПТ - 0,112, а ТВ - 0,100, т.е. был низким и недостоверным. Эти данные указывают на самостоятельное значение изучаемого «глобального» теста при распознавании причин кровоточивости, в том числе дисфибриногемии.

Напротив, в группе больных с усиленным тромбообразованием значение времени полимеризации ФМ оказалось более коротким по сравнению с таковым у практически здоровых людей - $26,5 \pm 0,63$ сек ($P < 0,005$). Наблюдалась и высокодостоверная корреляционная связь изучаемого показателя с активностью фактора VIIa (-0,61), уровнями D-димеров (-0,51), ФПА (-0,65), ФП₁₊₂ (-0,35) и РФМК (-0,49); $P < 0,001$.

Данные наших предварительных исследований показали, что метод оценки времени полимеризации ФМ может рассматриваться в качестве нового «глобального» теста, а его применение перспективно при клинических состояниях, сопровождающихся кровоточивостью (прежде всего для диагностики дисфибриногемии) либо тромбозами, в качестве одного из легко определяемых маркеров тромботической готовности.

3. Клиническое значение определения состояния тромботической готовности

Приведенный выше большой спектр маркеров тромботической готовности носит в большей мере информационный характер и позволяет его использовать, например, в перспективных научно-исследовательских разработках в рамках поднятой темы. С практической же точки зрения и учитывая современные возможности клиничко-диагностических лабораторий, можно считать необходимым определение следующих лабораторных маркеров, в достаточной мере характеризующих состояние повышенной тромбогенной опасности:

- повышение уровня свидетелей тромбинемии (по количеству тромбин-антитромбинового комплекса (ТАТ), фрагмента протромбина 1+2 (PF₁₊₂), растворимых фибрин-мономерных комплексов – РФМК (SFMC) или D-димеров);
- гиперагрегацию тромбоцитов или увеличение маркеров активации тромбоцитов в плазме крови (по уровню фактора 4 тромбоцитов, β-тромбоглобулина)*;
- повышение уровня гомоцистеина в сыворотке крови** (свыше 11,0 мкмоль/л)*;
- появление свидетелей эндотелиальной дисфункции в крови (повышенный уровень эндотелина-1, нарастание активности и/или антигена фактора Виллебранда)*;
- повышение вязкости крови и плазмы (при наличии полиглобулии – показателе СОЭ 1–2 мм/ч, уровне гемоглобина >160 г/л, числе эритроцитов более $5,0 \times 10^{12}/л$, гиперфибриногенемии >5,0 г/л);
- нарастание уровня С-реактивного белка как интегрального маркера воспалительной реакции, неразрывно связанной с реакциями гемостаза [Кузник Б.И., 2010; Шойхет Я.Н., Момот А.П., 2008; Schouten M. et al., 2008]*.

* – отмечены предикторы тромбоза с его локализацией преимущественно в артериальном русле;

** – средние значения нормы по данным определения гомоцистеина в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью диагностических наборов фирмы AXIS (Норвегия) – $9,6 \pm 0,32$ мкмоль/л [Баркаган З.С. и др., 2004,б].

Проведение таких исследований при наличии положительных результатов анализа не исключает последующего и обязательного этапа – выявления спектра вероятных врожденных и приобретенных факторов риска, предопределяющих тромбофилию и направленных на развитие артериального или венозного тромбоза (рис. 16 и 17).

Именно поэтому ведущим шагом к предотвращению сосудистой катастрофы может быть широкое внедрение технологий распознавания состояния тромботической готовности, наличие которой (а не наличие факторов риска!) дает основание для проведения первичной или вторичной тромбопрофилактики (рис. 18).

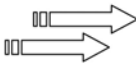
Необходимо учесть, что лабораторная диагностика нарушений, предрасполагающих к тромбообразованию, имеет определенные ограничения в острый период тромбоза, что связано с сопутствующими тромбозу изменениями гемостаза и влиянием антитромботической терапии (см. табл. 1).

Очевидно, что управляемость факторов тромбогенного риска различна, и она должна рассматриваться с точки зрения как этиологии, так и патогенеза тромбообразования. Если современные возможности медицины ограничены в радикальном исправлении врожденных дефектов – мутации фактор V Лейден, протромбина и прочего, то, например, замещение дефицита физиологических антикоагулянтов, назначение фолатно-витаминного комплекса при гипергомоцистеинемии и другие виды патогенетической терапии, имеющиеся в арсенале клиницистов, позволяют модифицировать врожденную предрасположенность к тромбозу, снижая вероятность его манифестации.

Факторы риска тромбозов (постоянные и временные)



Тромбофилия – патологическое состояние, обусловленное комбинацией факторов риска тромбоза, реализованное тромбозом

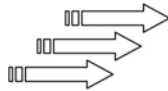


Состояние тромботической готовности

Синонимы:

- гиперкоагуляционный синдром

- повышенная свертываемость крови



Сосудистая катастрофа
(артериальный или венозный тромбоз, тромбозамблия)

Генетические, обусловленные операцией, соматической патологией, беременностью и др.

Состояние, характеризующееся склонностью к раннему формированию и рецидивированию тромбозов (с тромбозом в индивидуальном анамнезе)

Субклинические проявления: увеличение маркеров тромбинемии (РФМК и D-димера); гиперагрегация тромбоцитов; повышение вязкости крови; снижение тромборезистентности сосудистой стенки, эндотелиопатия

Рис. 16. Дефиниция фазов и состояний, приводящих к тромбозу



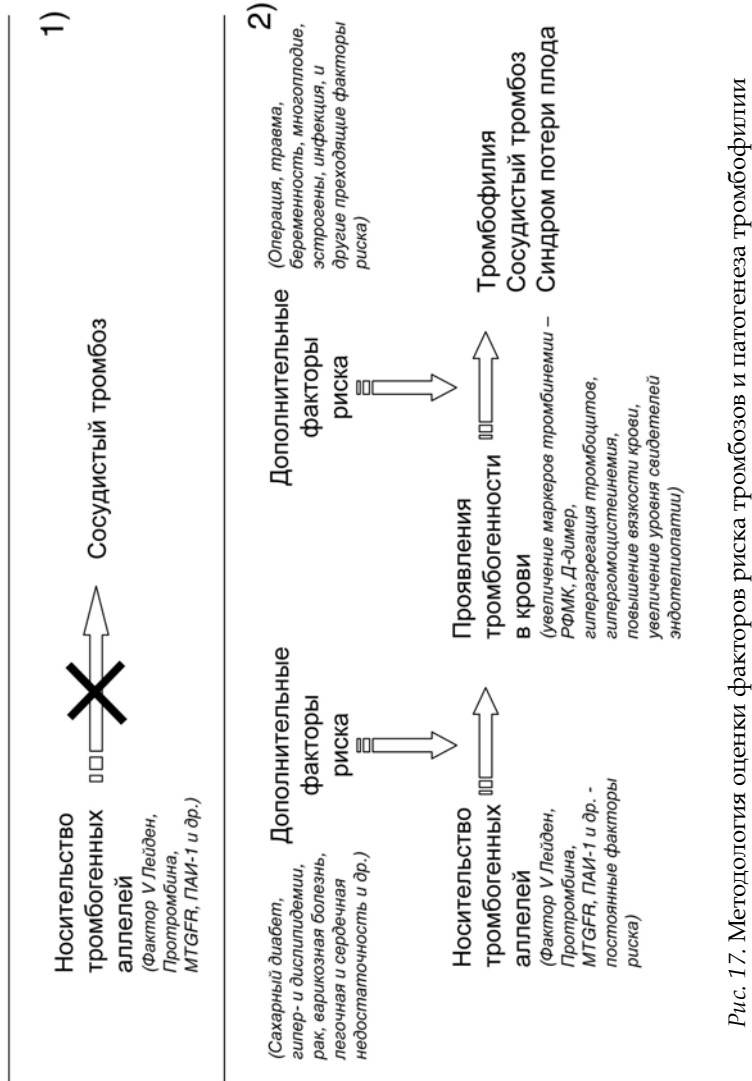


Рис. 17. Методология оценки факторов риска тромбозов и патогенеза тромбофилии



Рис. 18. Тактика определения показаний к проведению анти тромботической профилактики и терапии:

В ситуации 2 в особых случаях (протезирование сосудов и клапанов сердца, установка кава-фильтра, нарушение ритма сердца) тромбопрофилактика проводится вне зависимости от наличия или отсутствия состояния тромботической готовности; * - применение антикоагулянтов и антиагрегантов; ** - тромбопрофилактика или терапия, нацеленная в т.ч. на модификацию факторов тромбогенного риска; ¹ - все женщины при беременности; ² - см.: [Баркаган З.С. и др., 2004; Савельев В.С. и др., 2010; Geerts W. et al., 2004, 2008]

Клинические примеры

В качестве иллюстраций к изложенным выше материалам приводим несколько характерных клинических примеров, где в диагностике и консультации больных принимали участие специалисты Алтайского гематологического центра.

Пример 1. *Больной Щ.В.*, 43 лет, житель района Алтайского края. Обратился в нашу клинику в 2005 г. в связи с высоким уровнем гемоглобина (более 180 г/л), повышением артериального давления (до 180/100 мм рт.ст.) и жалобами на сжимающие боли в области сердца, одышку, сердцебиение, головные боли.

По семейному анамнезу определено, что у отца – высокий уровень гемоглобина (170–190 г/л), артериальная гипертензия, в возрасте 51 года он перенес инфаркт миокарда, страдает транзиторными ишемическими атаками. Дед пациента умер от ишемического инсульта.

При исследовании крови пациента определены следующие показатели: гемоглобин – 184 г/л, эритроциты – $5,5 \times 10^{12}$ /л, гематокрит – 48,1%. По данным липидограммы – высокий уровень холестерина, ЛПНП. В ходе обследования были исключены миелопролиферативные заболевания, а также симптоматический эритроцитоз, обусловленный патологией легких, почек и печени. Уровень гомоцистеина в крови оказался повышенным – 21,0 мкмоль/л.

По данным коагулограммы найдены высокие уровни маркеров тромбинемии (по количеству растворимого фибрина или РФМК, D-димеров), гиперагрегация тромбоцитов при оценке их функции с адреналином и коллагеном; замедление XIII-зависимого фибринолиза, повышение активности фактора VIII и ПАИ-1. После генетического обследования установлено сочетанное носительство протромбогенных полиморфизмов (в гетерозиготном варианте): протромбина (G20210 G>A) G/A, МТГФР (677С>Т) С/Т, ПАИ-1 (5G>4G) 4G/5G, фибриногена (-455G>A) G/A и тромбоцитарного рецептора фибриногена GP3a (L33P T>C) T/C.

Заключение. Наличие факторов тромбогенного риска: носительство полиморфизмов гена протромбина (G20210 G>A) G/A, МТГФР (677С>Т) С/Т, ПАИ-1 (5G>4G) 4G/5G, фибриногена (-455 G>A) G/A и тромбоцитарного рецептора фибриногена

ГРПш (L33P T>C) T/C; семейная полиглобулия, гиперлипидемия, артериальная гипертензия. Состояние тромботической готовности, обусловленное повышением уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина, D-димеров), гомоцистеина, гиперактивацией тромбоцитов.

Рекомендовано. Проведение курсов первичной тромбопрофилактики, направленной на нормализацию уровня гомоцистеина (фолатно-витаминный комплекс, длительно); коррекцию гиперагрегационного синдрома (антиагреганты после установления чувствительности к ним, длительно), тромбинемии (низкомолекулярные гепарины в профилактических дозах); устранение полиглобулии (цитаферез, гирудотерапия); коррекцию гиперлипидемии с применением статинов, подбор оптимальных средств гипотензивной терапии. Динамический контроль обозначенных выше маркеров тромботической готовности (2 раза в год) и, при необходимости, проведение повторного курса тромбопрофилактики.

Результат. За прошедшие 6 лет наблюдений у больного высокий риск сосудистой катастрофы реализован не был, и диагноз тромбофилии был исключен, поскольку документированных, клинически значимых эпизодов тромбоза не было найдено. Этот управляемый случай мы относим к ситуации №1 (см. рис. 18).

Пример 2. Больная Д.А., 28 лет, жительница Барнаула, обратилась в нашу клинику в 2010 г. по направлению акушера-гинеколога в раннем сроке беременности (5 недель). Акушерский анамнез: первая беременность протекала с тяжелым гестозом в поздних сроках, завершилась успешно оперативным родоразрешением. Вторая беременность – самопроизвольный выкидыш на сроке 7–8 недель. Пациентка в данном примере наблюдалась во время третьей беременности.

Проведено исследование на наличие состояния тромботической готовности, в результате были найдены повышенный уровень маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров), учитывая нормы этих показателей для данного срока беременности, гиперагрегация тромбоцитов с АДФ- и адриналином, гипергомоцистеинемия.

Назначены средства тромبوпрофилактики – антиагреганты и трансдермально – гель гепарина («Лиотон»), а также фолиевая кислота.

В последующем проведено расширенное лабораторное обследование, имеющее своей целью поиск дополнительных факторов тромбогенного риска. В результате выявлено носительство полиморфизмов (в гетерозиготном варианте) гена протромбина (G20210 G>A) G/A, МТГФР (677С>Т) С/Т, ПАИ-1 (5G>4G) 4G/5G и высокая активность фактора VIII (190%).

Заключение. Наличие факторов тромбогенного риска: беременность 9–10 недель, отягощенный акушерский анамнез, носительство полиморфизмов гена протромбина (G20210 G>A) G/A, МТГФР (677С>Т) С/Т, ПАИ-1 (5G>4G) 4G/5G, повышение активности фактора VIII. Состояние тромботической готовности, обусловленное повышением уровня гомоцистеина, маркеров тромбинемии, гиперактивацией тромбоцитов.

Рекомендовано. Антиагрегантная терапия (после установления чувствительности к препаратам аспирина), антикоагулянтная – гелем «Лиотон» на нижние конечности [Агаркова Т.А., 2011], курс дискретного плазмафереза (4 сеанса) с замещением ОЦК физиологическим раствором под прикрытием профилактическими дозами фраксипарина (0,3 мл п/к 1 раз в сутки), прием фолиевой кислоты с переходом при сроке беременности 12 недель на препарат «Ангиовит». Динамический контроль маркеров тромботической готовности в каждом триместре беременности.

Результат. Принятые меры привели к нормализации обозначенных показателей гемостазиограммы, успешному развитию беременности и благополучным родам при кесаревом сечении под прикрытием лечебных доз фраксипарина (подкожно по 0,6 мл в сутки) с продолжением тромبوпрофилактики фраксипарином в течение 14 дней после родоразрешения под контролем уровня маркеров тромбинемии.

Данный случай, на наш взгляд, должен быть отнесен к ситуации №2 (см. рис. 18).

Пример 3. Больной Ш.А., 47 лет, житель Братска. Обратился в нашу клинику в 2010 г. Ранее, с 2006 г., находился на учете гематолога в лечебном учреждении другого города с диагнозом тромбофилия, обусловленная полиморфизмом гена ПАИ-1

(5G>4G) 4G/4G, снижением активности антитромбина III, гипергомоцистеинемией. ПТФС нижних конечностей, ХВН II ст. Четыре эпизода рецидивирующей ТЭЛА (с 2005 по 2008 г.). Имплантация кава-фильтра (окт. 2007 г.). Операция тромбэндартерэктомии из легочной артерии (апр. 2008 г.). На протяжении пяти лет проводилась вторичная, но не регулярная тромбопрофилактика варфарином, низкомолекулярными гепаринами, антиагрегантами, флеботониками, фолатно-витаминным комплексом в сочетании с курсами дискретного плазмафереза.

В 2010 г. без видимых оснований перешел на прием таблетированного гепариноида «Сулодексид» без учета уровня и динамики маркеров тромботической готовности. В августе и сентябре 2010 г. возникли острые тромбозы сосудов брызжейки с некрозами части тонкого кишечника, по поводу чего по неотложным показаниям выполнены две операции резекции кишечника (с удалением соответственно 40 и 70 см зоны некроза). В послеоперационном периоде в течение 10-14 дней получал препараты гепарина.

При контрольном обследовании осенью 2010 г. в лаборатории нашего центра определены высокие уровни маркеров тромботической готовности (гипергомоцистеинемия, увеличение уровней растворимого фибрина и D-димеров).

Заключение. Тромбофилия, обусловленная полиморфизмом гена ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G, снижением активности антитромбина III (30-50%), имплантацией кава-фильтра. Рецидивирующая ТЭЛА, рецидивирующий тромбоз сосудов брызжейки. Состояние тромботической готовности (гипергомоцистеинемия до 28 мкмоль/л, тромбинемия).

Рекомендовано. В качестве базисного средства длительной вторичной тромбопрофилактики осуществлен подбор лечебной дозы антагониста витамина К – варфарина, достигнуто его должное значение – МНО 2,4 (целевой диапазон 2,0-3,0). Наряду с этим, оптимизирована диета пациента с учетом потребления витамина К в соответствии с нашими рекомендациями [Момот А.П. и др., 2006 а,б]. Повторное обследование на наличие состояния тромботической активности – раз в 3-6 месяцев.

Результат. В течение последующего года рецидивов тромбозов у пациента не наблюдалось, а уровень МНО поддерживался в пределах целевого диапазона.

Мы относим данный случай к ситуации №2 (см. рис. 18) и считаем причиной двух эпизодов тромбоза брюжеечных сосудов, во-первых, неадекватную тромбопрофилактику, и, во-вторых, отсутствие динамического контроля маркеров состояния тромботической готовности у больного высокой группы тромбогенного риска.

Пример 4. *Больная М.Т., 49 лет, жительница района Алтайского края, обследована и прошла консультацию в нашем центре в ноябре 2010 г. в подостром периоде ОНМК по ишемическому типу с поражением подкорковых структур с явлениями дизартрии, тетрапареза, нарушений функции тазовых органов, для уточнения причин тромбоза сосудов головного мозга.*

Выявлен семейный тромботический анамнез по материнской линии. При обследовании определены носительство полиморфизма гена МПГФР (677С>Т) Т/Т в сочетании с гипергомоцистеинемией (22,0 мкмоль/л), гиперагрегационный синдром с явлениями аспиринорезистентности, повышение активности фактора VIII, высокий уровень маркеров тромбинемии (по количеству растворимого фибрина, D-димеров).

Заключение. Тромбофилия, обусловленная полиморфизмом гена МПГФР (677С>Т) Т/Т (редкая гомозигота) и повышением активности фактора VIII. Состояние тромботической готовности (гипергомоцистеинемия, повышение активности тромбоцитов, тромбинемия). Подострый период ОНМК по ишемическому типу

Рекомендовано. В связи с установлением аспиринорезистентности препараты аспирина заменены на клопидогрель. Назначен курс лечения препаратом «Ангиовит» и курс гепаринопрофилактики низкомолекулярными гепаринами.

Повторное обследование на наличие состояния тромботической активности – раз в 2-3 месяца.

Результат. Достигнута положительная динамика – вернулась речь, способность ходить и обслуживать себя. Маркеры тромботической готовности определены в пределах нормы.

Данный клинический пример мы относим к ситуации №3 (см. рис. 18).

Пример 5. Больная Н.О., 69 лет, жительница Барнаула, с 30.08 по 16.09.2010 г. находилась в ортопедическом отделении Алтайской краевой клинической больницы с диагнозом: идиопатический двусторонний деформирующий коксартроз III степени. Сопутствующие заболевания: гипертоническая болезнь II степени, II стадии, риск 2, хроническая сердечная недостаточность I, функциональный класс II, варикозная болезнь нижних конечностей, ХВН I. 02.09.2010 г. проведена плановая операция – тотальное цементное эндопротезирование тазобедренного сустава. Учитывая, что данное оперативное вмешательство относится к тромбоопасным [Hirsh J., 2004], в качестве средства тромбопрофилактики был назначен дабигатрана этаксилат (per os по 110 мг через 4 часа после операции, далее по 220 мг 1 раз в сутки). На пятые сутки после операции у пациентки при плановом дуплексном исследовании вен нижних конечностей определен субклинический тромбоз суральных вен справа.

Данные генетического обследования – мутация фактор V Лейден (1691G>A) G/A, полиморфизм генов МТГФР (677C>T) T/T (редкая гомозигота).

При лабораторном исследовании гемостаза после факта установления тромбоза найден высокий уровень маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров). Наряду с этим, в эхитоксовом тесте, рекомендованном нами для мониторинга действия дабигатрана [Момот А.П. и др., 2011], характерного для приема этого прямого орального адабигатрана удлинения времени свертывания не наблюдалось. Выяснено, что последнее было связано с низкой комплаентностью пациентки, негласно отказавшейся от приема дабигатрана.

Заключение. Тромбофилия, обусловленная мутацией фактор V Лейден (1691G>A) G/A и полиморфизмом гена МТГФР (677C>T) T/T, варикозной болезнью нижних конечностей, операцией по поводу замены тазобедренного сустава. Тромбоз суральных вен справа в раннем послеоперационном периоде. Состояние тромботической готовности, обусловленное повышением уровня маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров).

Рекомендации. После установления факта тромбоза назначен эноксапарин в лечебной дозе (подкожно – 1 мг/кг массы тела в сутки).

Определение уровня гомоцистеина, агрегационной функции тромбоцитов. Контроль маркеров тромбозов и дуплексное сканирование вен нижних конечностей – через 1 и 3 месяца после операции. Решение вопроса о переводе на прием прямых антикоагулянтов – антагонистов витамина К (после консультации психолога и с учетом данных исследования системы гемостаза). Ситуация №3 (см. рис. 18).

Пример 6. *Большая Б.А.*, 28 лет, жительница района Алтайского края. Госпитализирована 24.09.2008 г. в отделение патологии беременности краевого перинатального центра при сроке беременности 12 недель в связи с угрозой прерывания беременности и жалобами на боли внизу живота, мажущие кровянистые выделения из половых путей.

Пациентка с детства отмечает обильные, длительные менструации, частые носовые кровотечения, зафиксировано длительное кровотечение после оперативного вмешательства в связи с ампутацией пальцев правой стопы. При исследовании гемостаза в подростковом возрасте выявлена дизагрегационная тромбоцитопатия. Установлена хроническая постгеморрагическая железодефицитная анемия.

У больной имелись клинические признаки дисплазии соединительной ткани – кососмещенный таз, дисплазия лимфатического коллектора с формированием хронической лимфопатии и венозной недостаточности I-II степени. Эквино-вагусная стопа справа. Артроз правого голеностопного сустава и мелких суставов правой стопы (см. рис. 19).

Сопутствующая патология: миокардиодистрофия сложного генеза, нейроциркуляторная дистония по гипотоническому типу. Хронический пиелонефрит в стадии ремиссии.

Акушерско-гинекологический анамнез: менархе с 9 лет, месячные установились через 1 год, обильные, переходящие в маточные кровотечения. Первая беременность в 2009 г. – неразвивающаяся в 7 недель. В течение трех лет – бесплодие, по поводу которого не обследовалась. Контрацептивный анамнез: 2 года внутриматочная контрацепция, сопровождающаяся обильными менструациями, 3 года – прием комбинированных оральных контрацептивов («Регулон»).



Рис. 19. Внешние проявления мезенхимальной дисплазии у больной Б.А., 28 лет

Последняя беременность протекала с угрозой прерывания. Проводилось стационарное лечение: в 12 недель беременности в связи с угрозой прерывания; в 20 недель беременности – угроза самопроизвольного выкидыша, первичная фетоплацентарная недостаточность с нарушением кровообращения IA типа, объемное образование правого яичника; в 31–32 недели беременности гестоз легкой степени. Геморрагический синдром во время беременности проявлялся периодически возникающими кровянистыми выделениями из полости носа, спонтанными синяками.

Исследование системы гемостаза проводилось при указанных выше сроках госпитализации. Отмечалось стабильное снижение агрегационной функции тромбоцитов при агрегометрии с использованием адреналина и АДФ.

В связи с наследственной дизагрегационной тромбоцитопатией беременная консультирована гематологом – при сроке беременности в 12–13 недель назначена транексамовая кислота курсом в течение 1–1,5 месяцев в дозе 500 мг/сут per os. В 37 недель беременности для профилактики послеродового кровотечения рекомендовано применение транексамовой кислоты в дозе 750 мг/сутки, с продолжением приема данного препарата в течение двух дней в послеродовом периоде.

При сроке беременности 36–37 недель осуществлена родовая госпитализация в краевой перинатальный центр. В связи с тазовым предлежанием, кососмещенным тазом родоразрешение в 37–38 недель проведено путем кесарева сечения в нижнем сегменте, резекция правого яичника. Кровопотеря составила 600 мл.

При исследовании гемостаза в до- и послеоперационном периоде агрегационная функция сохранялась сниженной относительно нормальных показателей.

Через 4 суток после кесарева сечения пациентка внезапно (кратковременно) теряет сознание, наблюдались тахикардия (120 уд./мин), одышка (24–26/мин). После проведенного обследования установлен диагноз: острый неокклюзионный тромбоз правой гонадной вены, флотирующий тромб правой почечной вены после абдоминального родоразрешения (5.05.2009). Острая ТЭЛА от 9.05.2009 г. Острая дыхательная недостаточность III степени.

Больная была переведена в реанимационное отделение, начата гепаринотерапия. Имплантирован кава-фильтр типа «Волян» в позицию L2–L3, проведен тромболизис препаратом Актилизе в дозе 10 мг болюсно, затем 40 мг в течение 1 часа при помощи инфузомата.

11.05.2009 г. общее состояние резко ухудшилось. Определены тахикардия (130 уд./мин), одышка (30 дых. движ./мин), гипотония (80/40 мм. рт. ст.), парез кишечника. В связи с рецидивом ТЭЛА повторно проведен тромболизис с последующим введением гепарина инфузоматом в дозе 1000 ед./час.

При исследовании системы гемостаза выявлен высокий уровень D-димеров, снижение активности антитромбина III и протеина С. Наблюдалось умеренное снижение числа тромбоцитов в крови. Проведены трансфузии СЗП (500 мл/сут), пре-

парата антитромбина III (500 МЕ/сут). После стабилизации состояния проведена восходящая илеокаваграфия, выявлены признаки гипертензии в нижней полой вене.

14.05.2009 г. больная экстубирована. Продолжена антитромботическая терапия гепарином в дозе 25 000 ед./сут. Больная переведена в отделение сосудистой хирургии. При дуплексном ультразвуковом исследовании обнаружена дислокация кава-фильтра и флотирующий тромб в нижней полой вене. Несмотря на увеличение дозы гепарина до 35 000 ед./сут отмечалось нарастание величины тромба. Выполнено повторное имплантирование кава-фильтра. Определена тромбоэмболия в кава-фильтр.

При стабилизации состояния больной проведена восходящая илеокаваграфия, на которой визуализировались четкие, ровные контуры подвздошной вены слева и нижней полой вены без дефектов наполнения, после чего кава-фильтр был удален. Пациентка переведена на прием лечебных доз НМГ с последующим переходом на варфарин. Пациентка выписана из стационара с рекомендациями постоянного прием варфарина.

По данным исследования системы гемостаза, в этот период времени выявлены высокие показатели D-димеров и растворимого фибрина, снижение активности антитромбина III и протеина С, умеренное снижение числа тромбоцитов в крови. При генетическом обследовании определено носительство полиморфизма гена протромбина (G20210 G>A) G/A.

Заключение. Мезанзимальная дисплазия, дизагрегационная тромбоцитопатия. Хроническая железодефицитная анемия. Тромбофилия, обусловленная полиморфизмом гена протромбина (G20210 G>A) G/A, снижением активности физиологических антикоагулянтов, установкой кавального фильтра, оперативным родоразрешением и профилактическим приемом транзексамовой кислоты с целью предотвращения повышенной кровопотери при оперативном родоразрешении. Состояние тромботической готовности, документируемое маркерами тромбоцитоза (по уровням растворимого фибрина и D-димеров).

Рекомендовано. При достижении клинического улучшения, перевод на длительную терапию варфарином (с целевым МНО 2,0–3,0). Коррекция железодефицитной анемии. Исключение из списка потенциально применяемых гемостатических препаратов «Транексама».

Этот достаточно сложный, но показательный клинический случай, мы относим к ситуациям №2 и №3 (см. рис. 18), в зависимости от времени описания, когда казалось бы понятное клиническое состояние повышенной кровоточивости врожденного генеза, свойственной мезенхимальной дисплазии, превратилось в трагедию рецидивирующей тромбоемболии на фоне профилактического приема транэксамовой кислоты на фоне позднего срока беременности и оперативного родоразрешения. Как известно, роль угнетения фибринолитических реакций находится в числе важнейших причин при возникновении ДВС-синдрома и тяжелых сосудистых катастроф [Levi M., Orpl S., 2006; Кузник Б.И., 2010; Момот А.П., Сидор Н.В., 2003; Шойхет Я.Н., Момот А.П., 2008 и др.], поскольку заметно смещает равновесие во взаимодействии различных звеньев системы гемостаза. Применение данного препарата должно быть клинически взвешанным.

Результат. Прием варфарина с целевым диапазоном МНО в пределах 2,0–3,0 в течение последующего года наблюдений эффективно предупреждал тромбоемболические осложнения и не сопровождался сколько-нибудь выраженным геморрагическим синдромом.

Пример 7. Пациентка П.К., 16 лет, жительница Барнаула, которая прошла медико-генетическое и консультативно-клиническое обследование у детей и подростков в рамках протокола ведения Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоемболических осложнений в онтогенезе» [Момот А.П. и др., 2010]. Исследование тромбогенных аллельных полиморфизмов в пробах ДНК из буккального соскоба осуществлялось в лаборатории фармакогенетики Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск, руководитель группы фармакогеномики, к.б.н. М.Л. Филипенко). В этих исследованиях, наряду с генетическим обследованием, были выполнены клинический осмотр и анкетирование подростков в случайной выборке (по установленной в проекте регистра форме), извлечения из амбулаторной карты (форма №112), консультация узких специалистов. Данный научно-исследова-

тельный проект был утвержден 29.10.2010 г. (протокол №12) и соответствовал этическим стандартам локального биоэтического комитета при Алтайском государственном медицинском университете, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. №266. Все лица, участвующие в исследовании, подписали информированное согласие по установленной форме.

У девушки выявлены мутация фактор V Лейден (1691G>A) G/A, полиморфизм генов МТГФР (677C>T) T/T (редкая гомозигота) и ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G (редкая гомозигота).

Из дополнительных факторов риска по результатам анкетирования выявлены: атопическая бронхиальная астма легкой степени тяжести, период ремиссии; синдром внутричерепной гипертензии, венозная центральная дисфункция; синдром вегетативной дистонии, ваготонический тип; признаки мезенхимальной дисплазии: гипермобильность суставов, нарушение осанки. Определена группа здоровья III. По данным личного анамнеза установлены носовые кровотечения в ночное время в течение последних пяти лет, кровоточивость десен.

Учитывая полученные данные, пациентка включена в группу высокого тромбогенного риска.

По результатам лабораторного обследования – дизагрегационная тромбоцитопатия, обусловленная приемом противовоспалительных средств, умеренная тромбоцитопения, гипергомоцистеинемия – 18,1 мкмоль/л.

Заключение. Наличие факторов тромбогенного риска: мутация фактор V Лейден (1691G>A) G/A, полиморфизм генов МТГФР (677C>T) T/T и ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G. Повышение уровня гомоцистеина.

Рекомендовано. Ограничить занятия игровыми видами спорта, группа по физкультуре – специальная. Первичная тромбопрофилактика: прием препарата «Ангиовит» длительно, под контролем уровня гомоцистеина. Контроль уровня других маркеров тромботической готовности (растворимого фибрина, D-димеров, агрегационной функции тромбоцитов) – раз в 6 ме-

сяцев. Консультация узких специалистов (с учетом выявленной патологии: педиатра, невролога, пульмонолога) – два раза в год. Данный случай мы относим к ситуации №1 (см. рис. 18).

Пример 8. Больная Б.Е., 17 лет, жительница Барнаула, поступила в отделение гематологии Алтайской краевой клинической больницы 05.2011 г.

Диагноз. Острый В-лимфобластный лейкоз. Нейролейкемия. Анемия, тромбоцитопения тяжелой степени. Геморрагический синдром. Миелотоксический агранулоцитоз I степени. Вторичный иммунодефицит. Сепсис. Стероидный сахарный диабет.

При проведении полихимиотерапии по протоколу ОЛЛ-МВ 2002, в состав которой входила L-аспарагиназа (15 ЕД №2), с соответствующей катетеризацией, по данным дуплексного ультразвукового исследования сформировался массивный тромбоз внутренней яремной вены и подключичной вены слева.

Исследование системы гемостаза выявило высокий уровень маркеров тромбинемии (растворимого фибрина и D-димеров), гиперфибриногенемия, снижение активности антитромбина III (до 45%). При генетическом обследовании определены мутация фактор V Лейден (1691G>A) G/A, ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G (редкая гомозигота).

Заключение. Тромбофилия, обусловленная мутацией фактор V Лейден (1691G>A) G/A, полиморфизмом гена ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G, наличием острого лейкоза, приемом L-аспарагиназы и сопутствующим снижением антитромбина III, наложением венозного катетера, инфекционными осложнениями, наличием сахарного диабета. Состояние тромботической готовности, проявляющееся в высоком уровне растворимого фибрина и D-димеров.

Рекомендовано. Возмещение дефицита антитромбина III свежезамороженной плазмой или препаратом антитромбина III, гепаринотерапия.

Случай рассматривается нами как ситуация №3 (см. рис. 18).

Пример 9. Пациентка К.О., 29 лет, обратилась 3.05.2011 г. в Центр сохранения и восстановления репродуктивной функции Алтайской краевой клинической больницы (зав. – к.м.н.

О.Г. Борисова) по поводу бесплодия (у мужа) для прохождения программы экстракорпорального оплодотворения – ЭКО. У нее имелся регулярный менструальный цикл, противопоказаний к беременности и родам не выявлено.

По данным генетического исследования определены полиморфизмы генов МТГФР (677С>Т) С/Т и ПАИ-1 (5G>4G) 4G/4G (редкая гомозигота). Уровень гомоцистеина в плазме крови оказался умеренно повышенным – 15,2 мкмоль/л.

Для исследования гемостаза применялись рутинные методы коагулограммы, а также тест генерации тромбина (ТГТ). Обследование проводилось в динамике, в образцах плазмы крови, полученных перед началом гормональной стимуляции (исходный фон – 1-й этап), за 2 дня до пункции яйцеклеток (2-й этап) и на 14-й день после переноса эмбрионов (3-й этап). Анализы выполнялись на автоматическом коагулометре Sysmex 1500 и планшетном флюориметре *Fluoroskan Ascent* «ThermoFisher SCIENTIFIC».

По ранее полученным нами данным в этом направлении (не опубликовано) наиболее информативным индикатором тромбогенности в ТГТ оказался показатель *Peak thrombin*, характеризующий максимальную концентрацию тромбина в плазме крови пациента в единицу времени.

До вхождения в цикл ЭКО (1-й этап) пиковая концентрация тромбина у женщины составила 393,14 нмоль/л (при норме 306,87±6,57 нмоль/л, с диапазоном ±2σ 276,87±336,87 нмоль/л), при этом количество D-димеров оказалось равным 681 нг/мл, растворимого фибрина – 19,0 г/л × 10⁻².

На 2-м этапе наблюдений, перед пункцией яйцеклеток, значение *Peak thrombin* оказалось равным 352,71 нмоль/л (при норме 346,32±4,65 нмоль/л, с диапазоном 313,52±355,12 нмоль/л), D-димеров – 396 нг/мл, растворимого фибрина – 11,0 г/л × 10⁻². Далее, в конце цикла ЭКО, на 3-м этапе наблюдений, изучаемый показатель составил 317,30 нмоль/л (при норме 301,83±3,95 нмоль/л, с диапазоном 284,17±319,49 нмоль/л, D-димеров – 238 нг/мл, растворимого фибрина – 8,0 г/л × 10⁻²).

Заключение. Нарушение репродуктивной функции I, связанное с мужским фактором. Олигоастенотератозооспермия. Эстрогеновая нагрузка во время прохождения цикла ЭКО. Со-

стояние тромботической готовности, документируемое усилением генерации тромбина, высоким уровнем растворимого фибрина и D-димеров, активацией тромбоцитов при их взаимодействии с коллагеном, гипергомоцистеинемией. Состояние тромботической готовности. Носительство тромбогенных полиморфизмов генов МТГФР, ПАИ-1 (гетерозиготные варианты). Гипергомоцистеинемия.

Рекомендовано. Прохождение курса гепаринопрофилактики НМГ, начиная со 2-го этапа до установления факта наступления беременности. Коррекция гипергомоцистеинемии приемом фолатно-витаминного комплекса «Ангиовит». Определение дальнейшей тактики после повторного исследования системы гемостаза.

Результат: Отсутствие синдрома гиперстимуляции яичников и успешное наступление беременности. Нормализация показателей гемостаза.

Здесь, как и в предыдущем примере, определяется ситуация №3 (см. рис. 18).

Можно заметить, что приведенные выше, разноплановые клинические примеры объединяет носительство широкого спектра постоянных или временных факторов тромбогенного риска. Однако именно наличие или отсутствие у пациентов состояния тромботической готовности, определяемой по объективным лабораторным данным, может дать основание для применения средств антитромботической направленности. При этом целесообразны действия, направленные на коррекцию модифицируемых или управляемых факторов тромбогенного риска (борьба с полиглобулией, артериальной гипертензией, гиподинамией, гипергликемией, нормализация липидного обмена, венозного кровотока, отказ от приема эстроген-содержащих препаратов, снижение травматичности плановых оперативных вмешательств посредством выбора малоинвазивных вариантов и др.).

Библиографический список

Агаркова Т.А. Перинатальные исходы у беременных с тромбофилией при проведении гепаринопрофилактики : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Омск, 2011. – 21 с.

Атауллаханов Ф.И. Каскады ферментативных реакций и их роль в биологии // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, №7. – С. 2-10.

Балуда В.П., Баркаган З.С., Гольдберг Е.Д. и др. Лабораторные методы исследования системы гемостаза / под ред. проф. Е.Д. Гольдберга. – Томск, 1980. – 314 с.

Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – М. : Медицина, 1980. – 336 с.

Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы. – 2-е изд-е. – М. : Медицина, 1988. – 528 с.

Баркаган З.С. Клинико-патогенетические варианты, номенклатура и основы диагностики гематогенных тромбофилий // Пробл. гематол. и переливания крови. – 1996. – №3. – С. 5-15.

Баркаган З.С. Руководство по гематологии : в 3 т. Т. 3 / под ред. А.И. Воробьева. – 3-е изд. – М. : Ньюдиамед, 2005. – 416 с.

Баркаган З.С., Воробьев П.А., Кириенко А.И. Протокол ведения больных. Профилактика тромбоэмболии легочной артерии при хирургических и иных инвазивных вмешательствах. Отраслевой стандарт (ОСТ 91500.11.007-2003). Приказ МЗ РФ №233 от 09.06.2003 г. – М. : Ньюдиамед, 2004,а. – 64 с.

Баркаган З.С., Костюченко Г.И., Котовщикова Е.Ф. Эндотелиоз и воспалительная концепция атеротромбоза – критерии диагностики и проблемы терапии // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2004,б. – №4 (20). – С. 3-11.

Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. – М. : Ньюдиамед, 2001. – 296 с.

Баркаган Л.З. Нарушение гемостаза у детей. – М. : Медицина, 1993. – 176 с.

Белицер В.А. Домены – крупные функционально важные блоки молекул фибриногена и фибрина // Биохимия животных и человека. – 1982. – №6. – С. 8-57.

Буланов А.Ю., Шулутко Е.М., Щербакова О.В. и др. Тромбоэластографическая характеристика различных схем инфузионной терапии у здоровых доноров костного мозга // Анестезиология и реаниматология. – 2009. – №5. – С. 4–8.

Вельков В.В. С-реактивный белок и липопротеин-ассоциированная фосфолипаза А2: новые факты и новые возможности диагностики и стратификации сердечно-сосудистых рисков // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. – №6 (31). – С. 28–33.

Воробьев А.И., Городецкий В.М., Шулутко Е.М. и др. Острая массивная кровопотеря. – М. : Гэотар-Медиа, 2001. – 176 с.

Воробьева Н.А. Острый ДВС-синдром: оптимизация диагностики и интенсивной терапии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Архангельск, 2005. – 42 с.

Гематология/онкология детского возраста / под ред. А.Г. Румянцева, Е.В. Самочатовой. – М. : Медпрактика, 2004. – 792 с.

Гемостаз. Физиологические механизмы, принципы диагностики основных форм геморрагических заболеваний / под ред. Н.Н. Петрищева, Л.П. Папаян. – СПб., 1999. – 121 с.

Гильманов А.Ж. D-димер: Что? Как? У кого? С какой целью? // Клинико-лабораторный консилиум. – 2009. – №6 (31). – С. 38–46.

Гуржий А.А. Диагностика скрытой гипергомоцистеинемии у больных атеросклерозом артерий нижних конечностей : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2008. – 22 с.

Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М. : Медицина, 2001. – 327 с.

Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция / под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб. : Изд-во СПбГМУ, 2003. – 184 с.

Долгов В.В., Свиринов П.В. Лабораторная диагностика нарушений гемостаза. – М. ; Тверь : ООО «Издательство «Триада», 2005. – 227 с.

Дранник Г.Н., Ена Я.М., Варецкая Т.В. Продукты расщепления фибрина/фибриногена при патологических процессах

(биохимические и клинические аспекты). – Киев : Здоровья, 1987. – 184 с.

Зими́на Н.Н. Эффективность и безопасность лечения аспирином и сочетания его с оральными антикоагулянтами у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2006. – 28 с.

Зиновьева И.Е. Профилактика венозных тромбозов у больных, перенесших большие ортопедические операции на нижних конечностях : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Барнаул, 2006. – 26 с.

Зубаиров Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования. – Казань : Фэн, 2000. – 364 с.

Зубаиров Д.М., Еналеева Д.Ш., Надырова Г.Г. Тромбогеморрагический синдром при менингококковой инфекции. – Казань, 1985. – 112 с.

Инсульт: Клиническое руководство / Михаэль Г. Хеннерици, Жульен Богуславски, Ральф Л. Сакко ; пер. с англ. ; под общ. ред. чл.-корр. РАМН В.И.Скворцовой. – 2-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2008. – 224 с.

Израилян Л.А., Лубнин А.Ю., Громова В.В. и др. Тромбоэластография как метод предоперационного скрининга состояния системы гемостаза у нейрохирургических больных // Анестезиология и реаниматология. – 2009. – №3. – С. 24–30.

Киняйкин М.Ф., Суханова Г.И., Наумова И.В. и др. Роль гипоксемии в формировании нарушений иммунитета и гемостаза у больных хронической обструктивной болезнью легких // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2009. – №3. – С. 120–122.

Кириенко А.И., Андрияшкин В.В. Стратегия профилактики острых венозных тромбозов у хирургических больных // Трудный пациент. – 2004. – Т. 2, №5. – С. 3–7.

Киселёв В.И., Шахматов И.И., Вдовин В.М. Состояние системы гемостаза при различных видах гипоксического и гиперкапнического воздействия. – Барнаул : Концепт, 2008. – 243 с.

Клиническая онкогематология : руководство для врачей / под ред. М.А. Волковой. – 2-е изд. – М. : ОАО «Издательство «Медицина», 2007. – 1120 с.

Колесников В.В. К протоколу диагностики, профилактики и лечения нарушений системы гемостаза, обусловленных тяжелой травмой // Вестник интенсивной терапии. – 2005. – №5. – С. 33–39.

Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия при коронарной болезни сердца в условиях Западной Сибири (диагностика, частота, связь с маркерами воспаления и повреждения эндотелия, фармакологическая коррекция) : дис. ... д-ра мед. наук. – Барнаул, 2004. – 135 с.

Кузник Б.И. Физиология и патология системы крови. – Чита, 2004. – 336 с.

Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии. – Чита : Экспресс-издательство, 2010. – 832 с.

Луговская С.А., Долгов В.В. Лабораторная гематология. – М. ; Тверь : ООО «Издательство "Триада"», 2006. – 145 с.

Луговской Э.В. Молекулярные механизмы образования фибрина и фибринолиза. – Киев : Наукова думка, 2003. – 224 с.

Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике. – М. : Триада-Х, 2003. – 904 с.

Мамаев А.Н., Федоров Д.В., Вострикова Н.В. и др. Частота выявления гиперпродукции коагуляционного фактора VIII у больных с артериальной гипертензией // Проблемы патологии системы гемостаза : сборник научных трудов. – Барнаул, 2007. – С. 148–149.

Мамаев А.Н., Гильманов А.Ж., Вавилова Т.В., Момот А.П. Особенности преаналитического этапа исследования системы гемостаза // Гемостазиология. – 2011. – №1. – С. 54–59.

Медведь Л.В. Структурная организация молекулы фибриногена // Украинский биохим. журнал. – 1985. – Т. 57, №5. – С. 36–49.

Момот А.П. Разработка и клиническая апробация методов исследования производных фибриногена в плазме и сыворотке крови при ДВС-синдромах : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 1990. – 17 с.

Момот А.П. Мембранная активация свертывания крови, маркеры тромбинемии при ДВС-синдроме (разработка и апробация новых диагностических тестов) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Барнаул, 1997. – 38 с.

Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб. : Форма Т, 2006. – 208 с.

Момот А.П., Сидор Н.В. Высокая активность фактора XIII и тромбозы // Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии : материалы I Всероссийской научной конференции (5–6 февраля 2003 г.). – М., 2003. – С. 124-125.

Момот А.П., Елыкомов В.А., Баркаган З.С. Методика и клиническое значение паракоагуляционного фенантролинового теста // Клиническая лабораторная диагностика. – 1996. – №4. – С. 17-20.

Момот А.П., Беспалова О.В., Воробьева Е.Н. Эффективность терапии непрямymi антикоагулянтами: роль содержания витамина К в пищевых продуктах // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2006а. – №3. – С. 51-55.

Момот А.П., Беспалова О.В., Воробьева Е.Н. Значение витамина К пищи при терапии непрямymi антикоагулянтами // Сибирский консилиум. – 2006б. – №6(53). – С. 165-168.

Момот А.П., Сердюк Г.В., Григорьева Е.Е., Селиванов Е.В., Николаева М.Г., Гурьева В.А. Невынашивание беременности и генетически обусловленные тромбофилии // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Медицина. Акушерство и гинекология». – 2009а. – №6. – С. 379-384.

Момот А.П., Цывкина Л.П., Елыкомов В.А. и др. Ранние ишемические инсульты и гематогенные тромбофилии (диагностика, лечение, профилактика) : методическое пособие для врачей: неврологов, сосудистых хирургов, акушеров-гинекологов, травматологов, терапевтов, врачей КЛД, слушателей ФУВ, студентов медицинских вузов. Барнаул : Изд-во ГУ «Краевой справочно-информационный фармацевтический центр», 2009б. – 58 с.

Момот А.П., Цывкина Л.П., Мамаев А.Н., Сердюк Г.В. Совершенствование технологий диагностики и лечения патологии

гемостаза (по итогам работы Алтайского филиала Гематологического научного центра РАМН). – Барнаул : ОАО «Алтайский Дом печати», 2009в. – 138 с.

Момот А.П., Ройтман Е.В., Елыкомов В.А., Свирин П.В., Ольховский И.А., Жарков П.А., Кузнецов Н.Н., Цывкина Л.П., Сердюк Г.В., Федоров А.В., Филиппенко М.Л., Боярских У.А., Плюшкин В.А., Шкрябунова В.В., Лобанов Ю.Ф. Протокол ведения Всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2010а. – №3. – С. 30–78.

Момот А.П., Цывкина Л.П., Сердюк Г.В. и др. Эволюция учения З.С. Баркагана о гематогенных тромбофилиях // Труды III Сибирской научно-практической конференции гематологов «Баркагановские чтения» / под ред. В.М. Брюханова, А.П. Момота, В.В. Яковлева и др. – Барнаул : ОАО «Алтайский Дом печати», 2010б. – С. 16–40.

Момот А.П., Меркулов И.В., Григорьева Е.В., Панов М.Ю. Тромбопрофилактика эноксапарином и дабигатраном после эндопротезирования тазобедренного сустава // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.И. Приорова. – 2011. – №2. – С. 67–70.

Морозов Ю.А. Тест генерации тромбина в клиническом мониторинге системы гемостаза // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – №4(16). – С. 30–35.

Муравьев Д.В., Чепоров С.В. Гемореология (экспериментальные и клинические аспекты реологии крови). – Ярославль : Изд-во ЯГПУ, 2009. – 178 с.

Наместников Ю.А. Тест генерации тромбина – интегральный показатель состояния системы свертывания крови // Гематология и трансфузиология. – 2010. – Т. 55, №2. – С. 32–39.

Наместников Ю.А., Головина О.Г., Матвиенко О.Ю., Николаева А.Е., Хаит Е.А., Папаян Л.П. Условия постановки теста генерации тромбина для выявления состояний гиперкоагуляции // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №7. – С. 35–38.

Николаева М.Г. Генетические детерминанты тромбофилий в выборе метода гормональной контрацепции : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2009. – 22 с.

Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Свертывание крови: биохимические основы // Клиническая онкогематология. – 2008. – Т. 1, №1. – С. 50–62.

Пантелеев М.А., Васильев С.А., Синауридзе Е.И., Воробьев А.И., Атауллаханов Ф.И. Практическая коагулология / под ред. А.И. Воробьева. – М. : Практическая медицина, 2011. – 192 с.

Папаян Л.П., Князева Е.С. Д-димер в клинической практике : пособие для врачей / под ред. Н.Н. Петрищева. – М. : ООО «Инсайт полиграфик», 2002. – 20 с.

Папаян Л.П., Кобилянская В.А., Шитикова А.С. Общие принципы диагностики антифосфолипидного синдрома // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2004 – Т. XI, №3. – С. 59–62.

Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Типовые формы дисфункции эндотелия // Дисфункции эндотелия: Патогенетическое значение и методы коррекции / под ред. Н.Н. Петрищева. – СПб., 2007. – С. 4–48.

Реологические исследования в медицине. – Вып. 1. – М. : РНЦХ РАМН, 1997.

Реологические исследования в медицине. – Вып. 2. – М. : РНЦХ РАМН, 2000.

Ройтман Е.В. Гемореология при операциях на сердце и магистральных сосудах с применением искусственного кровообращения : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2002. – 53 с.

Ройтман Е.В., Фирсов Н.Н., Дементьева И.И., Самсонова Н.Н., Плющ М.Г., Воробьева Н.А. Термины, понятия и подходы к исследованиям реологии крови в клинике // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000. – №3. – С. 5–12.

Савельев В.С., Гологорский В.А., Кириенко А.И. и др. Флебология : руководство для врачей / под ред. В.С. Савельева. – М. : Медицина, 2001. – 664 с.

Савельев В.С., Чазов Е.И., Гусев Е.И., Кириенко А.И. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лече-

нию и профилактике венозных тромбозэмболических осложнений // Флебология. – 2010. – Т. 4, вып. 2. – С. 3–37.

Сидор Н.В., Момот А.П. Фактор XIII. Структура, функция, методы определения, роль в патологии человека // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – №1. – С. 10–21.

Синауридзе Е.И., Буланов А.Ю., Щербакова О.В. и др. Усиление коагуляции, вызываемое переливанием искусственных плазмозамещающих растворов // Терапевтический архив. – 2009. – Т. 81, №1. – С. 52–55.

Соболева И.В., Субханкулова Ф.Б., Миннебаев М.М., Зубаиров Д.М. Циркуляция растворимого фибрин-мономера в организме // Вопросы медицинской химии. – 1978. – №3(24). – С. 358–361.

Суслина З.А., Фонякин А.В., Гераскина Л.А. Ишемический инсульт и сердце: от патогенеза к профилактике // Клиническая фармакология и терапия. – 2003. – Т. 12, №5. – С. 47–51.

Усынин В.В. Изменения реологических свойств крови при ее диссеминированном внутрисосудистом свертывании : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Барнаул, 2000. – 26 с.

Фирсов Н.Н. Реологические свойства крови и патология сердечно-сосудистой системы // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – №2. – С. 26–32.

Фирсов Н.Н., Коротаева Т.В., Вышлова М.А. Классификация тяжести гемореологических расстройств // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000а. – №1. – С. 22–23.

Фирсов Н.Н., Сирко И.В., Приезжаев А.В. Современные проблемы агрегатометрии цельной крови // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2000б. – №2. – С. 9–11.

Ханин М.А., Тюрин К.В. Физиологические механизмы свертывания крови // Онкогематология. – 2007. – №3. – С. 70–76.

Хубутия М.Ш., Шевченко О.П. Гомоцистеин при коронарной болезни сердца и сердечного трансплантата. – М. : Реафарм, 2004. – 272 с.

Чупрова А.В. Система неонатального гемостаза в норме и при патологии (научный обзор) // Бюллетень СО РАМН. – 2005. – №4(118). – С. 13–19.

Шахматов И.И. Влияние различной продолжительности однократной физической нагрузки и иммобилизации на реакции системы гемостаза // *Фундаментальные исследования*. – 2010. – №3. – С. 144–150.

Шахматов И.И. Влияние однократной иммобилизации различной интенсивности на реакции системы гемостаза // *Бюллетень СО РАМН*. – 2011. – Т. 31, №4. – С. 33–36.

Шахматов И.И., Вдовин В.М. Изменения в системе гемостаза в ответ на однократную физическую нагрузку различной интенсивности // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2011. – Т. XVIII, №3. – С. 207–209.

Шевченко О.П. Высокочувствительный анализ С-реактивного белка и его применение в кардиологии // *Лабораторная медицина*. – 2003. – №6. – С. 35–41.

Шевченко О.П. Гомоцистеин и его роль в клинической практике (лекция) // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2008. – №11. – С. 25–32.

Шилова А.Н. Оптимизация антитромботической профилактики и клинико-экономический анализ применения низкомолекулярного и нефракционированного гепаринов у онкологических больных : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Барнаул, 2008. – 42 с.

Шитикова А.С. Тромбоцитарный гемостаз. – СПб. : Издательство СПб ГМУ, 2000. – 227 с.

Шиффман Ф.Дж. Патофизиология крови / пер. с англ. под ред. Е.Б. Жибурта, Ю.Н. Токарева. – М. ; СПб. : БИНОМ : Невский диалект, 2000. – 448 с.

Шмелева В.М., Капустин С.И., Блинов М.Н., Папаян Л.П. Гипергомоцистеинемия – значимый фактор риска развития артериальных и венозных тромбозов // *Медицинский академический журнал*. – 2003. – №3. – С. 28–34.

Шмелева В.М., Семенова О.Н., Папаян Д.П., Ягашкина С.И. Активация системы гемостаза у пациентов с хронической сердечной недостаточностью // *Вестник Санкт-Петербургского университета*, 2009. – Сер. 11. – Вып. 1. – С. 37–43.

Шойхет Я.Н., Момот А.П. О роли и взаимосвязи гемостатических и воспалительных реакций в формировании очагов

гношной деструкции органов и тканей // Проблемы клинической медицины. – 2008. – №4(16). – С. 102–117.

Ярославское соглашение // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – №3. – С. 4–12.

Allen G., Wolberg A., Oliver J. et al. Impact of procoagulant concentration on rate, peak and total thrombin generation in a model system // *Thromb. Haemost.* – 2004. – V. 2. – P. 402–413.

Alt E., Banyai S., Banyai M. et al. Blood rheology in deep venous thrombosis – relation to persistent and transient risk factors // *Thromb. Res.* – 2002. – V. 107. – P. 101–107.

Amiral J., Walenga J., Fareed J. Development and performance characteristics of a competitive enzyme immunoassay for fibrinopeptide A // *Semin. Thromb. Hemost.* – 1984. – V. 10. – P. 228–242.

Anderson F., Spencer F. Risk factors for venous thromboembolism // *Circulation.* – 2003. – V. 107 (Suppl. I). – P. 9–16.

Auger M., Galloway M., Leinster S. et al. Elevated fibrinopeptide A levels in patients with clinically localized breast carcinoma // *Haemostasis.* – 1987. – V. 17. – P. 336–339.

Austin M. Plasma triglyceride and coronary heart disease // *Arterioscler. Thromb.* – 1991. – V. 11. – P. 2–14.

Azurua H., Ishikawa M., Sekizaki S. Endothelium-dependent inhibition of platelet aggregation // *Brit. J. Pharmacol.* – 1986. – V. 88. – P. 411–415.

Barnes D., Wakefield T., Rechtenwald J. Novel Biomarkers Associated with Deep Venous Thrombosis: A Comprehensive Review // *Biomarker Insights.* – 2008. – V. 3. – P. 93–100.

Bates S.M., Greer I., Pabinger I. et al. Venous Thromboembolism, Thrombophilia, Antithrombotic Therapy, and Pregnancy American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition) // *Chest.* – 2008. – V. 133. – P. 844–886.

Benzuly K., Padgett R., Koul S. et al. Functional improvement precedes structural regression of atherosclerosis // *Circulation.* – 1994. – V. 89. – P. 1810–1818.

Bick R.L., Haas S. Thromboprophylaxis and thrombosis in medical, surgical, trauma, obstetric/gynecologic patients // *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.* – 2003. – V. 17. – P. 217–258.

Blann A., Tarberner D. A reliable marker of endothelial cell dysfunction: does it exist? // *Brit. J. Haematol.* – 1995. – V. 90. – P. 244–248.

Blomback B., Blomback M. The molecular structure of fibrinogen // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 1972. – V. 202. – P. 77–97.

Boneu B., Abbal B., Plante J. et al. Factor VIII complex and endothelial damage // *Lancet.* – 1975. – V. 17. – P. 1430–1436.

Bonnar J. Hypercoagulable States and Pregnancy // *Hypercoagulable states: fundamental aspects, acquired disorders, and congenital thrombophilia.* – New York, London, Tokyo: C.R.S Press. Inc., Boca Raton, 1996. – P. 253–257.

Bouma B., Meijers J. Role of blood coagulation factor XI in downregulation of fibrinolysis // *Curr. Opin Hematol.* – 2000. – V. 7. – P. 266–272.

Bovill E., Hasstedt S., Leppert M. et al. Hereditary thrombophilia as a model for multigenic disease // *Thromb. Haemost.* – 1999. – V. 82. – P. 662–666.

Braekkan S., Mathiesen E., Njolstad I. et al. Hematocrit and risk of venous thromboembolism in a general population. The Tromso study // *Haematologica.* – 2010. – V. 95. – P. 270–275.

Brenner B. Thrombophilia and fetal loss // *Seminars in Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 29 (2). – P. 165–170.

Celemajer D., Sorensen K., Georgakopoulos D. et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults // *Circulation.* – 1993. – P. 88. – P. 2140–2155.

Chakroun T., Gerotziapas G., Seghatchian J. et al. The influence of fibrin polymerization and platelet-mediated contractile forces on citrated whole blood thromboelastography profile // *Thromb. Haemost.* – 2006. – V. 95. – P. 822–828.

Chesterman K. (Честерман К.) Фибринолиз и диссеминированное внутрисосудистое свертывание // *Фибринолиз: со-*

временные фундаментальные и клинические концепции : пер. с англ. – М. : Медицина, 1982. – С. 163–180.

Chien S. Blood viscosity: influence of erythrocyte aggregation // *Science*. – 1967. – V. 157. – P. 829–831.

Christiansen S., Cannegieter S., Koster T. et al. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events // *JAMA*. – 2005. – V. 293. – P. 2352–2361.

Clark P., Brennand J., Conkie J. et al. Activated protein C sensitivity, protein C, protein S and coagulation in normal pregnancy // *Thromb. Haemost.* – 1998. – V. 79. – P. 1166–1170.

Coccheri S., Mannucci P., Palareti G. et al. Significance of plasma fibrinopeptide A and high molecular weight fibrinogen in patients with liver cirrhosis // *Br. J. Haematol.* – 1982. – V. 52. – P. 503–509.

Collins P., Macchiavella L., Levis L. et al. Global test of haemostasis in critically ill patients with severe sepsis syndrome compared to controls // *Br. J. Haematol.* – 2006. – V. 135. – P. 220–227.

Comwell T., Arnold E., Boerth N. et al. Inhibition of smooth muscle cell growth by nitric oxide and activation of cAMP-dependent protein kinase by cGMP // *Amer. J. Physiol.* – 1994. – V. 267. – P. 1405–1413.

Dargaud Y., Treciak M., Bordet J. Use of calibrated automated thrombinography +/- thrombomodulin to recognize the prothrombotic phenotype // *Thromb. Haemost.* – 2006. – V. 96(5). – P. 562–567.

Davie E., Fujikawa K., Kisiel W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation // *Biochemistry*. – 1991. – V. 30. – P. 10363–10370.

Davis S., Yeung A., Meridith I. et al. Early endothelial dysfunction predicts the development of transplant coronary artery disease at 1 year posttransplant // *Circulation*. – 1996. – V. 93. – P. 457–462.

De Graaf J., Banga J., Moncada S. et al. Nitric oxide functions as an inhibitor of platelet adhesion under flow conditions // *Circulation*. – 1992. – V. 85. – P. 2284–2290.

Dealy J. Official nomenclature for material function describing the response of a viscoelastic fluid to various shearing and extensional deformations // *Rheol.* - 1995. - V. 39(1). - P. 253-265.

Devaraj S., Singh U., Jialal I. The evolving role of reactive protein in atherothrombosis // *Chem.* - 2009. - V. 55(2). - P. 229-238.

Di Benedetto P., Baciarello M., Cabetti L. et al. Thrombelastography. Present and future perspectives in clinical practice // *Minerva Anesthesiol.* - 2003. - V. 69. - P. 501-515.

Diquelou A., Lemozy S., Dupouy D. et al. Effect of blood flow on thrombin generation is dependent on the nature of the thrombogenic surface // *Blood.* - 1994. - V. 84(7). - P. 2206-2213.

Dockrell M., Walker B.R, Noon J.P et al. Platelet aggregation in young men with contrasting predisposition to high blood pressure // *Hypertens.* - 1999. - V. 12. - P. 115-119.

Dormandy J., Edelman J. High blood viscosity: an aetiological factor in venous thrombosis // *Br. J. Surg.* - 1973. - V. 60. - P. 187-190.

Egeberg O. Inherited antithrombin deficiency causing thrombophilia // *Thromb. Diath. Haemorrh.* - 1965. - V. 13. - P. 516-530.

Ehrenforth S., Nemes L., Mannhalter C. et al. Impact of environmental and hereditary risk factors on the clinical manifestation of thrombophilia in homozygous carriers of factor V:G1691A // *Thromb. Haemost.* - 2004. - V. 2. - P. 430-436.

Eichinger S., Hron G., Kollars M., Kyrle P. Prediction of recurrent venous thromboembolism by endogenous thrombin potential and d-dimer // *Clin. Chem.* - 2008. - V. 54(12). - P. 2042-2048.

Eichinger S., Minar E., Bialonczyk C. et al. D-dimer levels and risk of recurrent venous thromboembolism // *JAMA.* - 2003. - V. 290. - P. 1071-1076.

Elias A., Bonfils S., Daoud- Elias M et al. Influence of long term oral anticoagulants upon prothrombin fragment 1+2, thrombin-antithrombin III complex and D-dimer levels in patients affected by proximal deep vein thrombosis // *Thromb. Haemost.* - 1993. - V. 69. - P. 302-305.

Eng C.W., Wansaicheong G., Goh S.K. et al. Exclusion of acute pulmonary embolism: computed tomography pulmonary angiogram or D-dimer? // Singapore Med. J. – 2009. – V. 50(4). – P. 403.

Esmon N., Owen W., Esmon C. Isolation of membrane-bound cofactor for thrombin-catalyzed activation of protein C // Biol. Chem. – 1982. – V. 257. – P. 859–864.

Esther C., Marino E., Howard T. et al. The critical role of tissue angiotensin-converting enzyme as revealed by gene targeting in mice // Clin. Invest. – 1997. – V. 99. – P. 2375–2385.

Forconi S. The hemorheological laboratory in clinical medicine: the value and limitations of its methods // Ric-Clin-Lab. – 1985. – V. 15(1). – P. 3–10.

Frischi J. Platelet aggregation, b-thromboglobulin and platelet factor 4 in diabetes mellitus and in patients with vasculopathy // Thromb. Haemost. – 1984. – V. 10. – P. 264–269.

Gaffney P. (Гаффни П.) Взаимодействие плазмينا с фибрином: Молекулярные основы и клинические наблюдения // Фибринолиз: современные фундаментальные и клинические концепции : пер. с англ. – М. : Медицина, 1982. – С. 115–136.

Gaffney P. Fibrinolysis and the Hypercoagulable State // Hypercoagulable states: fundamental aspects, acquired disorders, and congenital thrombophilia. – New York, London, Tokyo: CRS Press. Inc., Boca Raton, 1996. –P. 117–127.

Hypercoagulable states: fundamental aspects, acquired disorders, and congenital thrombophilia / M.J. Seghatchian, M.M. Samama, S.P. Hecker // New York, London, Tokyo : CRS Press. Inc., Boca Raton, 1996. – P. 365–373.

Gardiner C., Pennaneach H., Mackie I. et al. Evaluation of Ten D-dimer Kits. // Medical Devices 4 Agency, 2002. - London (HMSO, ISBN 1 84182 600 6).

Geerts W., Pineo G., Heit J. et al. Prevention of Venous Thromboembolism: The Seventh ACCP Conference on Antithrombotic Therapy // Chest. – 2004. – V. 126. – P. 338–400.

Geerts W., Pineo G., Heit H. et al. Prevention of venous thromboembolism // *Chest*. – 2008. – № 133. – P. 381–453.

Girolami A., Vianello F. The significance or nonsignificance of the G to A 2010 prothrombin polymorphism // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* – 2000. – V. 6. – P. 239–240.

Godal H.C., Abildgaard U., Kierulf P. Ethanol Gelation and Fibrin monomer in Plasma // *Scand. J. Haematol.* – 1971. – Suppl. 13. – P. 189–191.

Goodacre S., Sampson F., Stevenson M., Wailoo A., Sutton Thomas Locker T., Ryan A. Measurement of the clinical and cost-effectiveness of non-invasive diagnostic testing strategies for deep vein thrombosis // *Health Technology Assessment*. – 2006. – V. 10(15). – P. 1–168.

Greenberg C.S., Miraglia C.C., Rickles F.R. Cleavage of blood coagulation factor XIII and fibrinogen by thrombin during in vitro clotting // *Clin. Invest.* – 1985. – V. 75(5). – P. 1463–1470.

Guidelines on diagnosis and management of acute pulmonary embolism. Task Force Report. European Society of Cardiology // *Europ. Heart J.* – 2000. – V. 21. – P. 1301–1336.

Guidelines on platelet function testing. The British Society for Haematology BCSH Haemostasis and Thrombosis Task Force // *Clin. Pathol.* – 1988. – V. 41. – P. 1322–1330.

Hamano A., Tanaka S., Takeda Y. et al. A novel monoclonal antibody to fibrin monomer and soluble fibrin for the detection of soluble fibrin in plasma // *Clin. Chim. Acta.* – 2002. – V. 318. – P. 25–32.

Harris E., Pierangeli S. Primary, secondary and catastrophic antiphospholipid syndrome: what's in a name // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2008. – V. 34. – P. 219–226.

Hartert H. Blutgerinnungstudien mit der Thombelastografie, einemneuen Untersuchungsverfahren // *Klin. Wochenschrift.* – 1948. – V. 26. – P. 557–583.

Heit J.A. Thrombophilia: clinical and laboratory assessment and management. // *Consultative Hemostasis and Thrombosis*. – 2nd ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 2007. – P. 213–244.

Heit J., Silverstein M., Mohr D. et al. Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism: A population-based case-control study // *Arch Intern Med.* – 2000. – V. 160. – P. 809–815.

Heit J., Sobell J., Li H. et al. The incidence of venous thromboembolism among Factor V Leiden carriers: A community-based cohort study // *Thromb. Haemost.* – 2005. – V. 3. – P. 305–311.

Heller M., Marta R., Sturk A. et al. Early markers of blood coagulation and fibrinolysis activation in Argentine hemorrhagic fever // *Thromb. Haemost.* – 1995. – V. 73(3). – P. 368–373.

Hemker H., Giesen P., Ramjee M. et al. The thrombogram: monitoring thrombin generation in platelet-rich plasma // *Thromb. Haemost.* – 2000. – V. 83(4). – P. 589–591.

Hemker H., Giesen P., Al Dieri R. et al. The calibrated automated thrombogram (CAT): a universal routine test for hyper- and hypocoagulability // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* – 2002. – V. 32(5–6). – P. 249–253.

Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* – 2003. – V. 33. – P. 4–15.

Hemodson M., Schmer G., Kurachi K. Isolation, crystallization, and primary amino acid sequence of human platelet factor 4 // *Biol. Chem.* – 1977. – V. 252(18). – P. 6276–6279.

Hendriks H., Meijer K., de Wolf J. et al. Effects of recombinant activated factor VII on coagulation measured by thromboelastography in liver transplantation // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2002. – V. 13. – P. 309–313.

Henkey G., Warlow C. Treatment and secondary prevention of stroke: evidence, costs, and effects on individuals and populations // *Lancet.* – 1999. – V. 354. – P. 1457–1463.

Hirsh J. Prevention venose thromboembolism in major orthopedic surgery. BC Decker Inc., Hamilton-London, 2004. – 30 p.

Hoffman M., Monroe D. Rethinking the coagulation cascade // *Curr. Hematol. Rep.* - 2005. - V. 4. - P. 391-396.

Homing B., Maier V., Drexler H. Physical training improves endothelial function in patients with chronic heart failure // *Circulation.* - 1996. - V. 93. - P. 210-214.

Homocysteine Research: Where do we Stand and Where are we Going? / H. Wolfgang // *Clin. Chem. Lab. Med.* - 2005. - V. 43(10). - P. 977-979.

Hron G., Kollars M., Binder B.R. et al. Identification of Patients at Low Risk for Recurrent Venous Thromboembolism by Measuring Thrombin Generation // *JAMA.* - 2006. - V. 296. - P. 397-402.

International Council for Standardization in Haematology (Expert Panel on Blood Rheology). ICSH recommendations for measurement of erythrocyte sedimentation // *J. Clin. Pathol.* - 1993. - V. 46. - P. 198-203.

Iyano K., Kawada T., Aiba M. et al. Correlation of hemostatic molecular markers and morphology of the residual false lumen in chronic aortic dissection // *Ann. Thorac. Cardiovasc. Surg.* - 2004. - V. 10. - P. 106-112.

Jacobsen D. Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease // *Clin. Chem.* - 1998. - V. 44(8). - P. 1833-1843.

Jensen-Urstad K., Reichard P., Rosfors J. et al. Early atherosclerosis is retarded by improved long-term blood-glucose control in patients with IDDM // *Diabetes.* - 1996. - V. 45. - P. 1253 - 1258.

Johansson P., Bochsén L., Andersen S. et al. Investigation of the effect of kaolin and tissue factor-activated citrated whole blood, on clot forming variables, as evaluated by thromboelastography // *Transfusion.* - 2008. - V. 48. - P. 2377-2383.

Johansson P., Stissing T., Bochsén L. et al. Thromboelastography and thromboelastometry in assessing coagulopathy in trauma // *Scand. J. Trauma Resusc. Emerg. Med.* - 2009. - V. 17. - P. 45.

Johansson P., Svendsen M., Salado J. et al. Investigation of the thrombin-generating capacity, evaluated by thrombogram, and clot formation evaluated by thrombelastography of platelets stored in the blood bank for up to 7 days // *Vox Sang.* - 2008. - V. 94. - P. 113-118.

Jones S., Whitten C., Despotis G. et al. The influence of crystalloid and colloid replacement solutions in acute normovolemic hemodilution: a preliminary survey of hemostatic markers // *Anesth. Analg.* - 2003. - V. 96. - P. 363-368.

Juul K., Tybjaerg-Hansen A., Schnohr P. et al. Factor V Leiden and the risk for venous thromboembolism in the adult Danish population // *Ann. Intern. Med.* - 2004. - V. 140. - P. 330-337.

Kaniyu K., Yoneyama R., Egami T. et al. Analysis of fibrin monomer complex in orthopedic patients with deep vein thrombosis // *Rinsho Byori.* - 2003. - V. 3. - P. 163.

Kaplan L., Owen J. Plasma levels of β -thromboglobulin and platelet factor 4 as indices of platelet activation in vivo // *Blood.* - 1981. - V. 87. - P. 607-618.

Kario K., Matsuo T., Yamada T. et al. Factor VII hyperactivity in chronic dialysis patients // *Thromb. Res.* - 1992. - V. 67(1). - P. 105-113.

Kavsak P., MacRae A., Newman A. et al. Elevated C-reactive protein in acute coronary syndrome presentation is an independent predictor of long-term mortality and heart failure // *Clin. Biochem.* - 2007. - V. 40(5-6). - P. 326-332.

Kerry P., Curtis A. Standardization of β -thromboglobulin (β -TG) and platelet factor 4 (PF4): a collaborative study to establish international standards for β -TG and PF4 // *Thromb. Haemost.* - 1985. - V. 53. - P. 51-55.

Kheirabadi B., Crissey J., Deguzman R. et al. In vivo bleeding time and in vitro thrombelastography measurements are better indicators of dilutional hypothermic coagulopathy than prothrombin time // *Trauma.* - 2007. - V. 62. - P. 1352-1359.

Killewich L., Bedford G., Beach K. et al. Diagnosis of deep venous thrombosis. A prospective study comparing duplex scanning to contrast venography // *Circulation*. - 1989. - V. 79. - P. 810-814.

King V., Vaze A., Moskowitz C. et al. D-Dimer Assay to Exclude Pulmonary Embolism in High-Risk Oncologic Population: Correlation with CT Angiography in an Urgent Care Setting // *Radiology*. - 2008. - V. 247. - P. 854-861.

Kinugawa T. et al. Plasma endothelin-1 levels and clinical correlates in patients with chronic heart failure // *Card. Fail.* - 2003. - V. 9(4). - P. 318-324.

Kline J., Williams G., Hernandez-Nino J. D-Dimer Concentrations in Normal Pregnancy: New Diagnostic Thresholds Are Needed // *Clinical Chemistry*. - 2005. - V. 51 (5). - P. 825-829.

Koga S. A novel molecular marker for thrombus formation and life prognosis - clinical usefulness of measurement of soluble fibrin monomer-fibrinogen complex (SF) // *Rinsho Byori*. - 2004. - V. 52(4). - P. 355-361.

Kolpakov V., Gordon D., Kulik T. Nitric oxide-generating compounds inhibit total protein and collagen synthesis in cultured vascular smooth cells // *Circul. Res.* - 1995. - V. 76. - P. 305-309.

Korotaeva T., Firsov N., Bjelle A. et al. Erythrocytes aggregation in healthy donors at native standard hematocrit: The influence of sex, age, immunoglobulins and fibrinogen concentrations. Standardization of parameters // *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. - 2007. - V. 36. - P. 335-343.

Kovac M., Mikovic M., Rakicevic L. et al. The use of D-dimer with new cutoff can be useful in diagnosis of venous thromboembolism in pregnancy // *Europ. J. of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. - 2010. - V. 148. - P. 27-30.

Kubes P., Suzuki M., Granger D. Nitric oxide: An endogenous modulator of leukocyte adhesion // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. - 1991. - V. 88. - P. 4651-4655.

Kubes P., Granger D. Nitric oxide modulates microvascular permeability // *Amer. J. Physiol.* - 1992. - V. 262. - P. H611-H615.

Kubo T., Kitajima I., Makinodan A. et al. Fibrin monomer could be a useful predictor of pulmonary embolism after total hip arthroplasty: Preliminary report // *Orthop. Sci.* - 2001. - V. 6. - P. 119-122.

Kyrle P., Eichinger S. Deep vein thrombosis // *Lancet.* - 2005. - V. 365. - P. 1163-1174.

Lane D., Denton J., Flynn A. et al. Anticoagulant activities of heparin oligosaccharides and their neutralization by platelet factor 4 // *Biochem.* - 1984. - V. 218, № 3. - P. 725-732.

Lang T., Bauters A., Braun S. et al. Multicentre investigation on reference ranges for ROTEM thromboelastometry // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* - 2005. - V. 16. - P. 301-310.

Lasher T. Angiotensin, ACE-inhibitors and endothelial control of vasomotor tone // *Basic Research. Cardiol.* - 1993. - V. 88(SI). - P. 15-24.

Lefer A. Nitric oxide: Nature's naturally occurring leukocyte inhibitor // *Circulation.* - 1997. - V. 95. - P. 553-554.

Legnani C., Palareti G., Cosmi B. et al. Different cut-off values of quantitative D-dimer methods to predict the risk of venous thromboembolism recurrence: a post-hoc analysis of the PROLONG study // *Haematologica.* - 2008. - V. 93(6). - P. 900-907.

Levi M., Opal S. Coagulation abnormalities in patients // *Crit. Care.* - 2006. - V. 10. - P. 222-228.

Lindqvist P., Svensson P., Marsaal K. et al. Activated protein C resistance (FV:Q506) and pregnancy // *Thromb. Haemost.* - 1999. - V. 81. - P. 532-537.

Lingard P. Capillary pore rheology of erythrocytes // *Microvasc. Res.* - 1977. - V. 13(1). - P. 59-77.

Lipinski B., Worowski K. Detection of soluble fibrin monomer complexes in blood by means of protamine sulfate test // *Thromb. Diath. Haemorrh.* - 1968. - V. 20. - P. 44-49.

Lorand L. Factor XIII: structure, activation, and interactions with fibrinogen and fibrin // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2001. – V. 936. – P. 291–311.

Lowe G. Etiopathogenesis of cardiovascular disease: hemostasis, thrombosis, and vascular medicine // *Ann. Periodontol.* – 1998. – V. 3. – P. 121–126.

Makris M. Thrombophilia: grading the risk // *Blood.* – 2009. – V. 113, № 21. – P. 5038–5039.

Maly J., Pecka M., Vodickova L. et al. Changes in the activity of thrombocytes by smoking // *Sb. Ved. Pr. Lek. Fak. Karlovy Univerzity Hradci Kralove.* – 1990. – V. 33. – P. 325–333.

Martinelli I., Manucci P.M., De Stefano V. et al. Different risks of thrombosis in four coagulation defects associated with inherited thrombophilia: a study of 150 families // *Blood.* – 1998. – V. 92. – P. 2353–2358.

Mega J., Morrow D., de Lemos J. et al. Thrombus precursor protein and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes // *Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – V. 51. – P. 2422–2429.

Migdalis I. et al. Plasma levels of endothelin, lipid peroxides and prostacyclin in diabetic patients with macroangiopathy // *Diabetes. Res. Clin. Pract.* – 2001. – V. 54(2). – P. 129–136.

Moir E., Robbie L., Bennett B. et al. Polymorphonuclear leucocytes Have two Opposing roles in Fibrinolysis // *Thromb. Haemost.* – 2002. – V. 6. – P. 1006–1010.

Momot A.P., Elykomov V.A., Barkagan Z.S. Phenantroline test (Pht) – a new method of quantitative determination of soluble fibrin monomer complexes (SFMC) in blood plasma // 14th International Congress on Thrombosis. Montpellier, France, 14–19 October 1996. – V. 26. – Suppl. 3. – Abstr. 346.

Morrissey J., Macik B., Neuenschwander P. et al. Quantitation of activated factor VII levels in plasma using a tissue factor mutant selectively deficient in promoting factor VII activation // *Blood.* – 1993. – V. 81. – P. 734–744.

Muller-Berghaus G., Manh J., Obst R. Die Bedeutung Loslicher Fibrin-Komplexe fur die Verbrauchs koagulopathie // Med. Welt. (Stuttg.). - 1975. - V. 48. - P. 2162-2166.

Muller-Berghaus G., Madlener K., Blomback M. et al. Pathogenesis, Diagnosis and Therapy of disseminated intravascular fibrin formation / Muller-Berghaus et al. Edit, Elsevier Science Publishers B.V., 1993. - P. 28-56.

Murano G. (Мурано Г.) Биохимия человеческого фибриногена // Фибринолиз : пер. с англ. - М., 1983. - С. 89-103.

Nielsen V., Cohen B., Cohen E. Elastic modulus-based thrombelastographic quantification of plasma clot fibrinolysis with progressive plasminogen activation // Blood Coagul. Fibrinolysis. - 2006. - V. 17. - P. 75-81.

Nielsen V., Cankovic L., Steenwyk B. Epsilon-aminocaproic acid inhibition of fibrinolysis in vitro: should the 'therapeutic' concentration be reconsidered? // Blood Coagul. Fibrinolysis. - 2007 - V. 18. - P. 35-39.

Nieuwenhuizen W., Bos R. Soluble fibrin and degradation products of fibrinogen (FgDP), fibrin (FbDP; D-dimer) and total of FgDP and FbDP (TDP) // Laboratory Techniques in Thrombosis - A Manual (ed. by J. Jespersen, R.M. Bertina & F. Haverkate), The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1999. - P. 275-283.

Onishi H., Kaniyu K., Iwashita M. et al. Fibrin monomer complex in normal pregnant women: a potential thrombotic marker in pregnancy // Ann. Clin. Biochem. - 2007. - V. 44. - P. 449-454.

Ovaneson M., Panteleev M., Sinauridze E. et al. Mechanism of action of recombinant activated factor VII in the context of tissue factor concentration and distribution // Blood Coagul. Fibrinolysis. - 2008. - V. 19(8). - P. 743-755.

Pabinger I., Schneider B. Thrombotic risk in hereditary anti-thrombin III, protein C, or rotein S deficiency: a cooperative retrospective study // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. - 1996. - V. 16. - P. 742-748.

Palareti G., Legnani C., Cosmi B. et al. Predictive value of D-dimer test for recurrent venous thromboembolism after anticoagulation with drawal in subjects with a previous idiopathic event and in carriers of congenital thrombophilia // *Circulation*. - 2003. - V. 108. - P. 313-318.

Pearson T., Mensah G., Alexander R. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice. A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association // *Circulation*. - 2003. - V. 107. - P. 499-511.

Practical hemostasis and thrombosis / ed. by D. O'Shaughnessy, M. Makris, D. Lillicrap // Blackwell Publishing Ltd, 2005. - 224 p.

Prandoni P. Acquired Risk Factors for Venous Thromboembolism in Medical Patients // *Hematology*. - 2005. - V. 1. - P. 458-461.

Regnault V., Beguin S., Lecompte T. Calibrated automated thrombin generation in frozen-thawed platelet-rich plasma to detect hypercoagulability // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* - 2003. - V. 33. - P. 23-29.

Reikvam H., Steien E., Hauge B. et al. Thrombelastography // *Transfusion and Apheresis Science*. - 2009. - V. 40(2). - P. 119-123.

Peisajovich A., Marnell L., Mold C. et al. C-reactive Protein at the Interface Between Innate Immunity and Inflammation // *Expert Rev. Clin. Immunol.* - 2008. - V. 4(3). - P. 379-390.

Righini M., Perrier A., De Moerloose P. et al. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later // *Thromb. Haemost.* - 2008. - V. 6. - P. 1059-1071.

Rivard G., Brummel-Ziedins K., Mann K. et al. E. Evaluation of the profile of thrombin generation during the process of whole blood clotting as assessed by thrombelastography // *Thromb. Haemost.* - 2005. - V. 3. - P. 2039-2043.

Roberts H., Monroe D., Escobar M. Current concepts of hemostasis: implications for therapy // *Anesthesiology*. - 2004. - V. 100. - P. 722-730.

Rosendaal F. Risk factors for venous thrombosis: prevalence, risk, and interaction // *Semin. Hematol.* – 1997. – V. 34. – P. 171–187.

Rosendaal F. Risk factors for venous thrombotic disease // *Thromb. Haemost.* – 1999. – V. 82. – P. 610–619.

Salem H., Maruyama I., Ishii H. et al. Isolation and characterization of thrombomodulin from human placenta // *Biol. Chem.* – 1984. – V. 259, № 19. – P. 12246–12251.

Salooja N., Perry D. Thrombelastography // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2001. – V. 12. – P. 327–337.

Sarkar R., Meinberg E., Stanley J. et al. Nitric oxide reversibility inhibits the migration of cultured vascular smooth muscle cells. // *Circ. Res.* – 1996. – V. 78. – P. 225–230.

Scandinavian Simvastatin Sunnval Study Investigators. Randomised trial cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) // *Lancet.* – 1994. – V. 344. – P. 1383–1389.

Schouten M., Wiersinga W., Levi M. et al. Inflammation, endothelium, and coagulation in sepsis // *Leukoc. Biol.* – 2008. – Vol. 83. – Suppl. 3. – P. 536–545.

Scirica B., Sabatine M., Jarolim P. et al. Clinical Application of Reactive Protein Across the Spectrum of Acute Coronary Syndromes // *Chemistry.* – 2007. – V. 53, № 10. – P. 1800–1807.

Seghatchian M.J., Samama M.M., Hecker S.P. (eds). Hypercoagulable status: Fundamental aspects, acquired disorders and congenital thrombophilia. – New York, London, Tokyo : CRS Press. Inc., Boca Raton, 1996. – 407 p.

Sinauridze E., Kireev D., Popenko N. et al. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets // *Thromb. Haemost.* – 2007. – V. 97(3). – P. 425–434.

Sorensen B., Ingerslev J. Tailoring haemostatic treatment to patient requirements – an update on monitoring haemostatic response using thrombelastography // *Haemophilia.* – 2005. – V. 11(1). – P. 1–6.

Soria J., Soria C., Ryckewaert J. A solid phase immuno enzymological assay for the measurement of human fibrinopeptide A // *Thromb. Res.* – 1980. – V. 20. – P. 425–435.

Stamler J. Redox signaling: nitrosylation and related target interactions of nitric oxide // *Cell.* – 1994. – V. 74. – P. 931–938.

Stroes E., Koomans H., de Bmin T. et al. Vascular function in the forearm of hypercholesterolaemic patients off and on lipid-lowering medication // *Lancet.* – 1995. – V. 346. – P. 467–471.

Tanaka A., Shimada K., Sano T. et al. Multiple plaque rupture and C-reactive protein in acute myocardial infarction // *Am. Coll. Cardiol.* – 2005. – V. 45. – P. 1594–1599.

Taylor F., Jr., Toh C., Hoots W. et al. Towards definition, clinical and laboratory criteria, and scoring system for disseminated intravascular coagulation // *Thromb. Haemost.* – 2001. – V. 86(5). – P. 1327–1330.

Tchaikovski S., Hulb A., van Vliet et al. Effekt of oral contraceptives on thrombin generation measured via calibrated automated thrombography // *Thromb. Haemost.* – 2007. – V. 98(6). – P. 1350–1356.

Terao T., Maki M., Ikenoue T. et al. The relationship between clinical signs and hypercoagulable state in toxemia of pregnancy // *Gynecol. Obstet. Invest.* – 1991. – V. 31(2). – P. 74–85.

Tripodi A., Cappellin M., Chantarangkul V. et al. Hypercoagulability in splenectomized thalassaemic patients detected by whole-blood thromboelastometry, but not by thrombin generation in platelet-poor plasma // *Haematologica.* – 2009. – V. 94(11). – P. 1520–1527.

Tsao P., Wang B., Buitrago R. et al. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1 // *Circulation.* – 1997. – V. 97. – P. 934–940.

Tsimikas S., Willerson J., Ridker P. Reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients // *Am. Coll. Cardiol.* – 2006. – V. 47, Suppl. 8. – P. C19–C31.

Verma S., Li S., Badiwala M. et al. C-reactive protein comes of age // *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*. – 2005. – V. 2. – P. 29–36.

Van der Graaf F., van den Borne H., van der Kolk M. et al. Exclusion of deep venous thrombosis with D-dimer testing – comparison of 13 D-dimer methods in 99 outpatients suspected of deep venous thrombosis using venography as reference standard // *Thromb. Haemost.* – 2000. – V. 83. – P. 191–198.

Van Hylckama V., Rosendaal F. High levels of fibrinogen are associated with the risk of deep venous thrombosis mainly in the elderly. // *Thromb. Haemost.* – 2003. – V. 1. – P. 2677–2678.

Van Veen J.J., Gatt A., Markis M. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? // *Br. J. Haematol.* – 2008. – V. 142(6). – P. 889–903.

Vandenbroucke J., Koster T., Briet E. et al. Increased risk of venous thrombosis in oral-contraceptive users who are carriers of factor V Leiden mutation // *Lancet*. – 1994. – V. 344. – P. 1453–1457.

Verhaeghe R., Agnelli G., Becattini C. et al. Therapeutic aspects of pulmonary embolism. *Pulmonary Vascular Pathology: A Clinical Update* / ed. M. Demedts, M. Delcroix, R. Verhaeghe, G.M. Verleden // *Europ. Respiratory Soc.* – 2004. – Vol. 9. – Monogr. 27. – Chapter 3. – P. 25–32.

Verhovsek Douketis J., Yi Q., Shrivastava S. et al. Systematic Review: D-Dimer to Predict Recurrent Disease after Stopping Anticoagulant Therapy for Unprovoked Venous Thromboembolism // *Ann. Intern. Med.* – 2008. – V. 149 (7). – P. 481–490.

Virchow R. *Gesammelte Abhandlungen zur Wissensdiafflichem Medicine*. – Frankfurt, Germany: Meidinger Sohn, 1856.

Viuff D., Lauritzen B., Pusateri A. et al. Effect of haemodilution, acidosis, and hypothermia on the activity of recombinant factor VIIa (NovoSeven(R)) // *Br. J. Anaesth.* – 2008. – V. 101. – P. 324–331.

Vogel R., Coretti M., Ploinic G. Effect of single high-fat meal on endothelial hinction in healthy subject // Amer. J. Cardiol. - 1997. - V. 79. - P. 350-354.

Vossen C., Preston F., Conard J. et al. Hereditary thrombophilia and fetal loss: A prospective follow-up study // Thromb. Haemost. - 2004. - V. 2. - P. 529-596.

Wagner A. et al. Plasma endothelin in patients with acute aortic disease // Resuscitation. - 2002. - V. 53(1). - P. 71-76.

Walker M. Garner P., Keely E. Thrombosis in pregnancy: a review // Soc. Obstet. Gynaecol. Can. - 1998. - V. 20. - P. 943-952.

White H., Murin S. Is the current classification of venous thromboembolism acceptable? No // Thromb. Haemost. - 2004. - V. 2, №12. - P. 2262-2263.

White R. The epidemiology of venous thromboembolism // Circulation. - 2003. - V. 107(1). - P. 4-8.

World Health Organization: Inherited Thrombophilia: Report of a Joint WHO. International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH) Meeting. - Geneva : World Health Organization, 1995.

Wu O., Robertson L., Langhorne P. et al. Oral contraceptives, hormone replacement therapy, thrombophilias and risk of venous thromboembolism: A systematic review. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening // Thromb. Haemost. - 2005. - V. 94. - P. 17-25.

Yu F., Armstrong J., Tripette J. et al. A local increase in red blood cell aggregation can trigger deep vein thrombosis: evidence based on quantitative cellular ultrasound imaging // Thromb. Haemost. - 2011. - V. 9. - P. 481-488.

Zeiker A., Fisslthaler B., Schray U. et al. Nitric oxide modulates the expression of monocyte chemoat-tractant protein I in cultured human endothelial cells // Circ. Res. - 1995. - V. 76. - P. 980-986.

Zhang L., Gong Y., Grella D. et al. Endogenous plasmin converts Glu-plasminogen to Lys- plasminogen on the monocytoïd cell surface // Thromb. Haemost. – 2003. – V. 5. – P. 1264–1270.

Zuccarelli F., Taccoen A., Razavian M. et al. Increasing erythrocyte aggregability with the progressive grades of chronic venous insufficiency: importance and mechanisms // Cardiovasc. Surg. – 1995. – V. 36. – P. 387–391.

Zucker M., Katz I. Plateled Factor 4: production, structure and physiologic and immunologic action // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1991. – V. 98. – P. 693–702.

ИНФОРМАЦИОННО

Научное издание

**Современные методы распознавания
состояния тромботической готовности**

Монография

Редактирование и подготовка
оригинал-макета: *Е.М. Федяева*

Дизайн обложки:

ЛР 020261 от 14.01.1997 г.

Подписано в печать 26.09.2011. Формат 60x84/16.

Бумага офсетная. Усл. печ. л. 8,0.

Тираж 2500 экз. Заказ ???

Издательство Алтайского государственного университета

Типография ООО «Азбука»:

656049, Барнаул, ул. Мерзликина, 10, тел. (385-2) 62-91-03, 62-77-25

Новинки 2011



*От новых технологий -
к высокому стандарту!*

ТЕХНОЛОГИЯ **ТС** СТАНДАРТ

Производство и реализация широкого спектра
диагностических наборов для оценки гемостаза



В 2009 году система менеджмента качества ООО фирмы «Технология-Стандарт» сертифицирована на соответствие требованиям ISO 9001:2008 и ГОСТ ИСО 9001:2008.

Почтовый адрес: 656055, Россия, Барнаул, а/я 3603. Адрес производства: 656037, Россия, Барнаул, пр-кт Калинина, 116/95. Тел./факс: (3852) 229-937, 229-938, 229-939, 271-300, 271-101. E-mail: mail@tehnologia-standart.ru, www.haemostasis.ru.

Представительство в Москве: М. «Текстильщики», ул. Шосейная, д. 1, корп. 2.
Тел./факс: (495) 730-41-69, 974-64-14, 730-18-19, 974-64-00, (499) 179-88-14.
E-mail: tech-standart@yandex.ru