

методом лечения тромбозов и ТЭЛА у онкологических больных. Значительное повышение уровня Д-димера и фактора Виллебранда, а также резкое снижение протромбиновой активности, содержания антитромбина III и уровня плазминогена являются гемостазиологическими факторами развития тяжелой печёночной недостаточности, своевременная диагностика и коррекция которых позволяет улучшить результаты хирургического лечения больных со злокачественными опухолями печени.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА (пп. 3, 5, 7—8 см. REFERENCES)

1. Патютко Ю.И., Котельников А.Г., Мамонтов К.Г., Пономаренко А.А., Лазарев А.Ф. Непосредственные результаты резекций печени по поводу метастазов колоректального рака. *Онкологическая колопроктология*. 2014; (1): 14—20. (in Russian)
2. Патютко Ю.И., Сагайдак И.Г., Котельников А.Г., Поляков А.Н. Резекция печени: современные технологии при опухолевом поражении. *Анналы хирургической гепатологии*. 2010; 15(2): 9—17. (in Russian)
4. Патютко Ю.И., Пылев А.Л., Сагайдак И.В. Десятилетняя выживаемость больных злокачественными опухолями печени после хирургического лечения. *Анналы хирургической гепатологии*. 2010; 15(3): 39—47.
6. Герок В., Блюм Х. *Заболевания печени и желчевыводящей системы* (пер. с нем.). М.: МЕДпресс-информ; 2009.

#### REFERENCES

1. Patyutko Yu.I., Kotelnikov A.G., Mamontov K.G., Ponomarenko A.A., Lazarev A.F. Immediate results of liver resections for metastases of colorectal cancer. *Oncologicheskaya coloproctologiya*. 2014; (1): 14—20. (in Russian)
2. Patyutko Yu.I., Sagaidak I.G., Kotelnikov A.G., Polyakov A.N. Liver resection: modern technologies in case of tumor lesion. *Annaly khirurgicheskoy hepatologii*. 2010; 15(2): 9—17. (in Russian)
3. Kanas P.K., Taylor A., Primrose J.N. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: review and meta-analysis of prognostic factors. *Clin. Epid.* 2012; (4): 283—301.
4. Patyutko Yu.I., Pylev A.L., Sagaidak I.V. Ten-year survival of patients with malignant liver tumors after surgical treatment. *Annaly khirurgicheskoy hepatologii*. 2010; 15(3): 39—47. (in Russian)
5. Huang Z., Xu L., Yang T. Hepatic resection: an analysis of the impact of operative and perioperative factors on morbidity and mortality rates in 2008 consecutive hepatectomy cases. *Chin. Med. J.* 2009; 22(19): 2268—77.
6. Gerok V., Blum H. *Diseases of the liver and bile excretory system*. Moscow: MEDpress-inform; 2009. (in Russian)
7. Broek M.A., Olde Damink S.W., Dejong C.H. Liver failure after partial hepatic resection: definition, pathophysiology, risk factors and treatment. *Liver Int.* 2008; 28(6): 767—80.
8. Umemura Y., Yamakawa K., Kiguchi T., Yoshikawa Y., Ogura H. et al. Design and Evaluation of New Unified Criteria for Disseminated Intravascular Coagulation Based on the Japanese Association for Acute Medicine Criteria. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2016; 22(2): 153—60.

Поступила 15.04.17

Принята к печати 25.04.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.132.2-089.86-07:616.151.5

Груздева О.В.<sup>1</sup>, Фанаскова Е.В.<sup>1</sup>, Акбашева О.Е.<sup>2</sup>, Учасова Е.Г.<sup>1</sup>, Пенская Т.Ю.<sup>1</sup>, Дылева Ю.А.<sup>1</sup>, Кузьмина А.А.<sup>1</sup>, Барбараш О.Л.<sup>1,3</sup>

## ПРЕИМУЩЕСТВО ТЕСТА ГЕНЕРАЦИИ ТРОМБИНА ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕМОСТАЗИОЛОГИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПРИ ПРОВЕДЕНИИ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», 650002, Кемерово;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 634050, Томск;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, 650029, Кемерово, Россия

*Цель исследования — оценка периоперационных параметров теста генерации тромбина и его взаимосвязь с показателями коагуляционного гемостаза, фибринолитической системой и антикоагулянтами у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) при коронарном шунтировании в условиях искусственного кровообращения. Обследовано 200 человек с ИБС, которым была выполнена плановая первичная операция коронарного шунтирования (КШ) в условиях искусственного кровообращения (ИК). Тест генерации тромбина проводили с помощью универсального автоматического анализатора SEVERON-ALPHA (Technoclone, Vienna, Австрия). Показатели теста генерации тромбина сравнивали с общепринятыми методами оценки гемостаза (МНО, АЧТВ, фибриноген, протромбин по Квику, тромбиновое время, АТ-III, протейн С, фактор VIII,) фактора Виллебранда, ингибитора активации плазминогена 1-го типа (PAI-1), тканевого (t-PA) и урокиназного (u-PA) активаторов плазминогена. Продемонстрировано, что использование теста генерации тромбина дублирует перечисленные показатели и позволяет одномоментно определить как прокоагуляционные, так и антитромботические сдвиги. Преимущество теста генерации тромбина состоит в оценке тромбинового потенциала, что наиболее актуально в кардиологической практике.*

**Ключевые слова:** тест генерации тромбина; коронарное шунтирование; гемостаз.

**Для корреспонденции:** Груздева Ольга Викторовна, д-р мед. наук, зав. лаб. исследований гомеостаза отд. диагностики сердечно-сосудистых заболеваний НИИ КПССЗ, г. Кемерово, e-mail: o\_gruzdeva@mail.ru

**Для цитирования:** Груздева О.В., Фанаскова Е.В., Акбашева О.Е., Учасова Е.Г., Пенская Т.Ю., Дылева Ю.А., Кузьмина А.А., Барбараш О.Л. Преимущество теста генерации тромбина для оценки гемостазиологического потенциала при проведении коронарного шунтирования у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62(9): 545-552. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-545-552>

Gruzdeva O.V.<sup>1</sup>, Fanaskova E.V.<sup>1</sup>, Akbasheva O.E.<sup>2</sup>, Uchasova E.G.<sup>1</sup>, Penskaya T.Yu.<sup>1</sup>, Dyleva Yu.A.<sup>1</sup>, Kuzmina A.A.<sup>1</sup>, Barbarash O.L.<sup>1,3</sup>

THE ADVANTAGE OF TEST ON THROMBIN GENERATION FOR EVALUATION OF HEMOSTASIS POTENTIAL UNDER IMPLEMENTATION OF CORONARY BYPASS SURGERY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE

<sup>1</sup>The research institute of complex problems of cardiovascular diseases, 650002 Kemerovo, Russia

<sup>2</sup>The Sibirskii state medical university of Minzdrav of Russia, 634050 Tomsk, Russia

<sup>3</sup>The Kemerovskaya state medical academy of Minzdrav of Russia, 650029 Kemerovo, Russia

*The purpose of study is to evaluate peri-operational parameters of testing of generation of thrombin and its relationship with indices of coagulation hemostasis, fibrinolytic system and anti-coagulants in patients with ischemic heart disease under coronary bypass surgery in conditions of artificial blood circulation. The examined sampling included 200 patients with ischemic heart disease. The planned primary operation of coronary bypass surgery in conditions of artificial blood circulation was applied to all of them. The testing of generation of thrombin was implemented using automated analyzer CEVERON-ALPHA (Technoclone, Vienna, Austria). The indices of testing of generation of thrombin were compared with common techniques of evaluation of hemostasis (INR, PTT, fibrinogen, Qick's prothrombin testing, thrombin time, AT-III, protein C, factor VIII), von Willebrand factor, inhibitor of activation of plasminogen type I (PAI-I), tissue and urokinase plasminogen activator.*

*It is demonstrated that application of testing of thrombin generation duplicates enumerated indices and permits at the same time instant to detect both pro-coagulation and anti-thrombotic shifts. The advantage of testing of thrombin generation is in evaluation of thrombin potential that is most actual in cardiologic practice.*

**Key words:** testing of thrombin generation; coronary bypass surgery; hemostasis

**For citation:** Gruzdeva O.V., Fanaskova E.V., Akbasheva O.E., Uchasova E.G., Penskaya T.Yu., Dyleva Yu.A., Kuzmina A.A., Barbarash O.L. The advantage of test on thrombin generation for evaluation of hemostasis potential under implementation of coronary bypass surgery in patients with ischemic heart disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (9): 545-552. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-9-545-552>

**For correspondence:** Gruzdeva O.V., doctor of medical sciences, head of the laboratory of studies of hemostasis of the department of diagnostic of cardiovascular diseases. e-mail: [o\\_gruzdeva@mail.ru](mailto:o_gruzdeva@mail.ru)

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 14.04.2017  
Accepted 20.04.2017

Коронарное шунтирование (КШ) в условиях искусственного кровообращения (ИК) довольно часто сопровождается комплексными нарушениями системы гемостаза, которые могут проявляться в виде серьезных тромбогеморрагических осложнений [1]. Мультифакторный характер этих нарушений при кардиоваскулярных заболеваниях существенно затрудняет возможность прогнозирования состояния системы гемостаза в периоперационном периоде КШ и требует динамического лабораторного контроля [1, 2].

В клиничко-лабораторной практике используются как «локальные», так и интегральные тесты оценки гемостаза. Результаты «локальных» тестов позволяют охарактеризовать состояние отдельных факторов или звеньев каскадной реакции. В их число входят рутинные, ежедневно используемые тесты, такие как: активированное парциальное тромбопластиновое время (АЧТВ) и протромбин по Квику, международное нормализованное отношение (МНО), тромбиновое время (ТВ), фибриноген, Д-димер, антитромбин III, протеин С, фактор VIII и др. Но в условиях ИК и тотальной гепаринизации полученные результаты могут выявить лишь отклонения от референтного интервала, а сделать в целом заключение о коагуляционных сдвигах в организме невозможно, так как эти изменения могут быть нивелированы включением компенсаторных механизмов [3]. Это обуславливает актуальность оптимизации алгоритмов лабораторного контроля гемостаза в периоперационном периоде у кардиохирургических пациентов с помощью интегральных методов оценки гемостатического потенциала.

К таким методам относится тест генерации тромбина, который количественно оценивает суммарный эффект взаимодействия всех факторов системы свертывания по динамике образования и инактивации *in vitro* ключевого фермента гемостаза тромбина, витамин-К-зависимого белка, вызывающего специфический протеолиз фибриногена [3, 4]. В то же время в современной литературе мало исследований, посвященных данной проблеме.

В связи с этим целью исследования стала оценка периоперационных параметров теста генерации тромбина и его взаимосвязь с показателями коагуляционного гемостаза, фибринолитической системы и антикоагулянтами у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) при КШ в условиях ИК.

**Материал и методы.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Все пациенты подписывали информированное согласие на участие в нём.

Из регистра коронарного шунтирования, включающего более 1317 человек, методом «случай—контроль» были последовательно отобраны 200 человек с ИБС, которым была выполнена плановая первичная операция КШ в условиях ИК. Верификацию диагноза проводили на основании клинических, электрокардиографических, эхокардиографических характеристик заболевания.

Основные клиничко-анамнестические данные пациентов, включённых в исследование, представлены в табл. 1.

Среди пациентов преобладали мужчины ( $n = 157$ ;

Таблица 1

Клинико-anamnestическая характеристика пациентов

Признак	абс.	%
Пол, женский/мужской	43/157	21,5/78,5
Возраст, $M \pm m$ , годы	59,1 $\pm$ 4,68	
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	29,5 $\pm$ 4,1	
Особенности коронарного русла		
Поражение ствола левой коронарной артерии 50% и более, %	56	28
Количество поражённых коронарных артерий (КА), $n$ , %:		
1 КА	3	1,5
2 КА	52	26
3 и более КА	145	72,5
Факторы риска ИБС		
Отягощённая наследственность по сердечно-сосудистой патологии	152	76
Артериальная гипертензия в анамнезе	183	91,5
Курение	106	53
Ожирение	54	27
Гиперхолестеролемиа	72	36
Сахарный диабет 2-го типа в анамнезе	58	29
Особенности анамнеза		
Фракция выброса левого желудочка, %	56,6 $\pm$ 9,1	
Клиника стенокардии	200	100
Инфаркт миокарда (1 и более) в анамнезе	70	35
Постинфарктный кардиосклероз	38	19
Острое нарушение мозгового кровообращения в анамнезе	12	6
Хроническая ишемия головного мозга в анамнезе	18	18
Сопутствующая патология		
Заболевания желудочно-кишечного тракта	42	21
Заболевания почек в анамнезе	8	4
Заболевания органов дыхания	12	6
Стратегия лечения		
$\beta$ -адреноблокаторы	190	95
иАПФ	158	79
Блокаторы Ca <sup>2+</sup> -каналов	198	99
Инотропные препараты	29	14,5
Диуретики	183	91,5
Нитраты	200	100
Аспирин (прием не менее 1 года)	200	100
Статины	118	59

78,5%), в анамнезе чаще фиксировали АГ, стенокардию, отягощённую наследственность по сердечно-сосудистой патологии, курение и ожирение, 70 пациентов ранее уже перенесли инфаркт миокарда, а 12 человек — острое нарушение мозгового кровообращения. Пациентам в предоперационном периоде была назначена коронароактивная терапия, в 100% случаев они получали аспирин, статины.

Все пациенты подверглись плановому первичному КШ без отмены антиромбоцитарной терапии (аспирин 75—100 мг/сут). Операции КШ с использованием ИК проводились согласно стандартным протоколам, принятым в учреждении. Средняя длительность ИК составила 86,5 мин, длительность пережатия аорты — 53 мин, температура во время искусственного кровообращения — 35,3°C, среднее количество шунтов — 3 шт. Забор внутренних грудных артерий и венозных шунтов осуществлялся по стандартным методикам.

ИК проводили аппаратами фирмы Maguet с использованием оксигенаторов Medos HLM Set Adult с перфузионным индексом 2,5—2,7 л/мин·м<sup>2</sup> стандартным (сбалансированные кристаллоиды, коллоиды) первичным объёмом заполнения, равным 1300 мл. Для защиты миокарда использовали кровяную холодовую кардиоплегию (соотношение крови и кристаллоидного компонента 4:1). Введение гепарина и его нейтрализацию протамина сульфатом проводили по методике, принятой в клинике. Пациентам вводили расчётные дозы гепарина (гепарин—натрий Браун (НФГ) 350 ЕД/кг. Нейтрализацию гепарина проводили раствором протамина сульфата из расчёта гепарин:протамин = 1:1. Состояние коагуляционного гемостаза в периоперационном периоде оценивали с помощью определения активированного времени свертывания (АВС) в цельной крови на автоматическом таймере коагуляции АСТ Plus фирмы Medtronic (США) на тест-системах HR-АСТ. АВС до операции составило 122 с, после введения протамина — 139 с, в раннем послеоперационном периоде — 144 с, что соответствовало протоколу проведения КШ с ИК, принятому в учреждении. В контрольную группу вошли 50 (12 женщин и 38 мужчин) практически здоровых людей, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами, участвующими в исследовании. Средний возраст людей из контрольной группы составил 53,23  $\pm$  3,44 года. Материалом исследования стала бедная тромбоцитами плазма (БТП), полученная из цельной венозной крови, забранной самотеком из катетера центральной вены. Исследование проводили в дооперационный (за 1 ч до вводного наркоза), интраоперационный (через 15 мин после проведения протаминизации) и ранний послеоперационный (в среднем через 1 ч после поступления пациента в отделение реанимации) периоды. Исследования показателей коагулограммы (протромбин по Квику, МНО, АЧТВ, фибриноген, тромбиновое время, АТ-III, протеин С, фактор VIII) и теста генерации тромбина (ТГТ) проводили на универсальном автоматическом анализаторе CEVERON-ALPHA (Technoclonе, Vienna, Австрия) с использованием стандартизированных тест-систем этой же фирмы.

Для оценки результатов, отражающих количественные и динамические характеристики генерации тромбина, измеряли следующие показатели.

*Lag time* (время запаздывания, мин) — время, измеренное от момента внесения смеси флуорогенного субстрата и ионизированного кальция в лунку с образцом и активатором до момента отклонения флуоресцентного сигнала от основной горизонтальной линии более чем на 2 стандартных отклонения.

*Peak thrombin* (пиковая концентрация тромбина, нмоль/л) — максимальная концентрация тромбина, достигаемая в процессе его генерации в образце.

*Time to peak* (время достижения пика, мин) — время, за которое в образце достигается максимальная концентрация тромбина.

Параметры базовой коагулограммы у пациентов с КШ

Параметр	Референсные значения	Контрольная группа	До операции	После протамина	Ранний послеоперационный период
		1	2	3	4
АЧТВ	31,5 (25—38)	30,4 (26,4—34,9)	34 (29;37,6)	31 (30,5;38,2)	35,2 (27,7;40)
ТВ (тромбиновое время), с	15 (14—16)	14,6 (14,1—15,2)	14,8 (14,3;25)	15,9 (14,3;19,4)	15,6 (14,6;16,6)
МНО	1,05 (0,85—1,25)	1,02 (0,89—1,19)	1,06 (0,97;1,14)	1,31 (1,24;1,54)	1,23 (1,18;1,33)
Протромбин по Квику, %	100 (70—130)	95 (88—128)	91 (77;107)	$p_{1,3} = 0,023$	$p_{1,4} = 0,029$
				$p_{2,3} = 0,005$	$p_{2,4} = 0,019$
Фибриноген, г/л	3,15 (1,8—4,5)	3,4 (2,2—3,9)	5,3 (3,8;5,6)	$p_{1,3} = 0,013$	$p_{1,4} = 0,001$
				$p_{2,3} = 0,005$	$p_{2,4} = 0,012$
Антитромбин III, %	100 (70—130)	81 (74—128)	72 (63;88)	$p_{1,2} = 0,004$	$p_{2,4} = 0,031$
				$p_{1,2} = 0,001$	$p_{1,3} = 0,023$
Протеин С, %	100 (70—130)	118 (77; 122)	101,5 (71; 118)	$p_{1,3} = 0,005$	$p_{1,4} = 0,0016$
				$p_{2,3} = 0,005$	$p_{2,4} = 0,003$
Д-димер, нг/мл	250 (0—500)	114 (87—141)	189 (92; 276)	$p_{1,3} = 0,002$	$p_{1,4} = 0,015$
				$p_{2,3} = 0,016$	$p_{2,4} = 0,003$
Фактор VIII, %	100 (60—150)	98 (81—126)	88 (52; 105)	$p_{1,3} = 0,002$	$p_{1,4} = 0,005$
				$p_{2,3} = 0,016$	$p_{2,4} = 0,007$
Фактор Виллебранда, %	105 (50—160)	127 (102—152)	151 (132—208)	$p_{1,3} = 0,004$	$p_{1,4} = 0,005$
				$p_{2,3} = 0,0005$	$p_{2,4} = 0,0019$
t-PA, нг/мл	5 (2—8)	7,29 (5,37—9,2)	14,09 (12,57; 20,83)	$p_{1,2} = 0,018$	$p_{1,4} = 0,012$
				$p_{1,3} = 0,001$	$p_{2,4} = 0,001$
t-PA/PAI, нг/мл	13,5 (7—20)	16,03 (10,98—18,01)	15,68 (11,92; 41,6)	$p_{1,3} = 0,002$	$p_{1,4} = 0,012$
				$p_{1,3} = 0,001$	$p_{2,4} = 0,001$
Фибронектин, нг/мл	109 (70—148)	73,2 (70,9—76,1)	70,7 (68,4; 72,4)	$p_{2,3} = 0,042$	$p_{3,4} = 0,003$
				$p_{2,3} = 0,03$	$p_{2,3} = 0,03$
					$p_{3,4} = 0,027$

ETP — площадь под кривой генерации тромбина (нмоль).

V — скорость образования тромбина (нмоль/мин).

Количественное определение концентрации фактора Виллебранда, ингибитора активации плазминогена 1-го типа (PAI-1), тканевого (t-PA) и урокиназного (u-PA) активаторов плазминогена, комплекса t-PA/PAI-1, фи-

бронектина проводилось методом иммуноферментного анализа с использованием набора Technoclone (Австрия).

Результаты статистически обрабатывали с помощью непараметрических критериев. Результаты представлены в виде медианы (Me) и значений 25 и 75% квартилей (Me: Q1; Q3). Для исследования зависимостей между переменными использовался коэффициент ранговой

Параметры теста генерации тромбина у пациентов с КШ

Параметр	Контроль	До операции	После протамина	Ранний послеоперационный период
	1	2	3	4
Lag Time, мин	2,8 (3,0;3,4)	5,65 (4,2; 9,05) $p_{1,2} = 0,011$	6,7 (5,4;8,9) $p_{1,3} = 0,002$ $p_{2,3} = 0,0196$	7,6 (6,5;10,4) $p_{1,4} = 0,0001$ $p_{2,4} = 0,001$ $p_{3,4} = 0,23$
Time to peak, мин	9,5 (8,9; 10,2)	11,6 (9,4; 16,1) $p_{1,2} = 0,0014$	14,15 (10,2; 17,65) $p_{1,3} = 0,012$	14,8 (11,7; 17,6) $p_{1,4} = 0,025$
Peak thrombin, нМ/л	122,8 (115; 130,1)	168,9 (68,0; 277,9) $p_{1,2} = 0,03$	149,7 (92,050; 235,650) $p_{1,3} = 0,025$	105,4 (56,8; 144,8) $p_{1,4} = 0,049$ $p_{2,4} = 0,007$ $p_{3,4} = 0,0002$
V1, нМ/мин	20,4 (17,2; 22,1)	32,3 (7,5; 61,8) $p_{1,2} = 0,028$	28,15 (12,35; 39,5) $p_{1,3} = 0,014$	14,85 (6,6; 25,35) $p_{1,4} = 0,027$ $p_{2,4} = 0,006$ $p_{3,4} = 0,002$
ETP, нМ	1604,2 (1517; 1690)	2556,5 (1524,4; 2738,8) $p_{1,2} = 0,0021$	2062,9 (1381,8; 2690,1) $p_{1,3} = 0,045$ $p_{2,3} = 0,056$	1593,95 (955; 1893,9) $p_{2,4} = 0,002$ $p_{3,4} = 0,0001$

Таблица 4

Коэффициенты корреляции между параметрами ТГТ и базовой коагулограммы у пациентов с КШ

Параметр ТГТ	Параметры коагулограммы											
	ПТ	МНО	АЧТВ	Фибриноген	ТВ	АТ-III	Протеин С	Ф VIII	Ф ВБ	t-PA	t-PA/PAI-1	Фибриногектин
Lag Time, мин	0,38 $p = 0,11$	0,11 $p = 0,12$	0,13 $p = 0,12$	0,21 $p = 0,12$	0,01 $p = 0,12$	-0,44 $p = 0,042$	-0,37 $p = 0,013$	-0,36 $p = 0,037$	-0,49 $p = 0,001$	0,38 $p = 0,11$	-0,38 $p = 0,04$	0,12 $p = 0,14$
Time to peak, мин	0,38 $p = 0,11$	0,38 $p = 0,11$	0,39 $p = 0,04$	0,4 $p = 0,04$	0,51 $p = 0,023$	0,38 $p = 0,11$	0,38 $p = 0,11$	0,38 $p = 0,11$	0,06 $p = 0,12$	0,23 $p = 0,12$	0,31 $p = 0,12$	0,01 $p = 0,12$
Peak thrombin, нМоль	0,38 $p = 0,027$	-0,4 $p = 0,04$		-0,51 $p = 0,01$	-0,45 $p = 0,037$	0,38 $p = 0,043$	0,38 $p = 0,011$	0,7 $p = 0,0002$	0,68 $p = 0,0001$	0,52 $p = 0,01$	0,39 $p = 0,004$	0,39 $p = 0,002$
V1, нМоль/мин	$p = 0,047$	$p = 0,04$	-0,4 $p = 0,03$	-0,58 $p = 0,00$	-0,47 $p = 0,047$	0,38 $p = 0,028$	0,46 $p = 0,001$	0,63 $p = 0,001$	0,59 $p = 0,005$	0,61 $p = 0,00$	0,44 $p = 0,03$	0,56 $p = 0,012$
ETP, нМоль	0,11 $p = 0,12$	0,01 $p = 0,12$	-0,46 $p = 0,03$	-0,49 $p = 0,02$	-0,42 $p = 0,046$	0,47 $p = 0,023$	0,33 $p = 0,003$	0,72 $p = 0,00009$	0,49 $p = 0,01$	0,54 $p = 0,00$	0,41 $p = 0,04$	0,11 $p = 0,12$

корреляции Спирмена. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался менее 0,05.

**Результаты.** При анализе показателей коагулограммы выявлено, что на дооперационном этапе увеличивается содержание фибриногена на 55,9% и фактора Виллебранда на 19%, по сравнению с контролем (табл. 2). Изменения таких показателей, как АЧТВ, протромбин по Квику, МНО, ТВ, VIII фактор, оказались статистически незначимыми. Со стороны системы физиологических антикоагулянтов наблюдалось снижение по сравнению с группой контроля активности АТ-III и протеина С, что

указывает на прокоагуляционный сдвиг. При этом отмечалась существенная активация системы фибринолиза: тканевой активатор плазминогена и Д-димер увеличены относительно контроля на 93 и 65,8% соответственно.

После протаминизации ряд показателей коагулограммы свидетельствовал о развитии гипокоагуляции. Содержание протромбина снижалось и оставалось сниженным на 27,5% в раннем послеоперационном периоде. Показатель МНО повышался на 23,6% по отношению к дооперационному уровню и сохранялся повышенным на 16% в ранний послеоперационный период. Уменьшалось содержание фибриногена: на 41,5% после введения

протамина и на 32% в ранний послеоперационный период по сравнению с показателем до операции. Снижалась активность фактора VIII на 27,3 и 35,2% фактора Виллебранда относительно дооперационных значений, оставаясь ниже на 35,2 и 4,6% соответственно в раннем послеоперационном периоде. На фоне гипокоагуляционного сдвига отмечалось уменьшение АТ-III после протаминизации и в ранний послеоперационный период. Традиционно снижение содержания АТ-III рассматривается как показатель гиперкоагуляции, что не согласуется с полученными данными протромбина по Квику и МНО. Активность протеина С также была снижена относительно контроля до операции после введения протамина на 51,7% и в раннем послеоперационном периоде на 30,5%. Вероятно, снижение естественных антикоагулянтов можно рассматривать как фактор, способствующий повышенной генерации тромбина. Фибринолитическая активность при этом возрастала: тканевой активатор пламиногена увеличивался после протаминизации на 42,7% относительно дооперационных значений, оставаясь увеличенным и в раннем послеоперационном периоде. Содержание комплекса t-PA/PAI после протаминизации существенно выросло относительно исходных данных, однако после операции снижалось практически в 2 раза. Об активации фибринолиза говорит и увеличение концентрации Д-димера после введения протамина и в раннем послеоперационном периоде на 90 и на 85% соответственно. Содержание фибронектина в интра- и раннем послеоперационном периодах увеличивалось относительно исходных данных в 2 и 6 раз соответственно.

В отличие от параметров коагулограммы, ТГТ показал увеличение генерации тромбина на до- и интраоперационном периодах (табл. 3). Пиковая концентрация тромбина и скорость его образования до операции увеличены на 37,5 и 58,3% соответственно; после проведения протаминизации — на 21,9 и 38% по сравнению с контролем. Эндогенный тромбиновый потенциал ЕТР был повышен на 59% до КШ и на 28,5% во время операции, что свидетельствовало о состоянии гиперкоагуляции, а в ранний послеоперационный период снижался, достигая уровня контроля. В то же время некоторые показатели ТГТ имели отношение к гипокоагуляции: на дооперационном периоде увеличивалось время запаздывания и достижения пика концентрации тромбина соответственно на 101 и 22%, а на интраоперационном этапе — на 139 и 49% по сравнению с контролем.

При проведении корреляционного анализа была выявлена тесная взаимосвязь показателей ТГТ с данными коагулограммы. При этом показатели коагулограммы, отражающие гипокоагуляцию, были взаимосвязаны с данными ТГТ, имеющими отношение к снижению активности коагуляционного гемостаза. Так, увеличение АЧТВ сопровождалось увеличением времени достижения пиковой концентрации тромбина, уменьшением скорости его образования и площади под кривой (табл. 4). Установлены статистически значимые отрицательные зависимости концентрации фибриногена от пиковой концентрации тромбина, скорости его образования и площади под кривой генерации тромбина. Аналогичная корреляционная зависимость выявлена для тромбинового времени (см. табл. 4).

В то же время, пиковая концентрация тромбина находилась в положительной статистически значимой зависимости от протромбина, факторов VIII и Виллебранда

и отрицательной с МН. Аналогичная зависимость выявлена для скорости образования тромбина (см. табл. 4). Площадь под кривой генерации тромбина находилась в прямой статистически значимой зависимости от фактора VIII и фактора Виллебранда.

Также выявлена статистически значимая прямая зависимость показателей генерации тромбина от активности физиологических антикоагулянтов и состояния системы фибринолиза. Дефицит АТ-III и протеина С, увеличение концентрации t-PA и комплекса t-PA/PAI сопровождалось снижением скорости образования тромбина, концентрации тромбина и площади под кривой генерации тромбина. Кроме того, установлена положительная корреляционная зависимость скорости образования и пиковой концентрации тромбина от концентрации фибриноектина (см. табл. 4).

*Обсуждение.* Как известно, баланс коагуляции обеспечивается про- и антикоагулянтами, работающими в плазме, что в нормальных условиях предотвращает как чрезмерное образование тромбина, так и, напротив, ингибирование его синтеза. До сих пор ведутся активные дискуссии по выбору лабораторного метода, который бы отражал естественный плазменный баланс про- и антикоагулянтов [3, 5]. В современной лабораторной практике широко распространена оценка отдельных про- или антикоагулянтов с помощью выполнения таких методик, как протромбиновое и активированное частичное тромбопластиновое время (ПТ, АЧТВ), а также с помощью анализа одиночных антикоагулянтов. [3, 6]. Однако ни один из подходов действительно не имитирует того, что происходит в естественных условиях. Например, ПТ и АЧТВ удлинены у больных с врожденными нарушениями системы прокоагулянтов с усиленным синтезом тромбина [7]. С другой стороны, ПВ и АЧТВ укладываются в пределы референсных значений у пациентов с врожденными или приобретенными недостатками антикоагулянтов антитромбина III и протеина С. Открытое оперативное вмешательство на коронарных артериях в условиях ИК можно также рассматривать как временную коагулопатию с дисфункцией всех звеньев системы гемостаза — тромбоцитарно-сосудистого, коагуляционного, системы фибринолиза. Причины, их вызывающие, хорошо известны — дилуция, длительный контакт крови с поверхностью контура аппарата ИК, использование кристаллоидов, трансфузионных компонентов и т. д. [1, 3, 4, 8].

В данном исследовании нами изучена динамика параметров коагулограммы и ТГТ у пациентов с КШ в условиях ИК в периоперационном периоде. На дооперационном этапе, согласно результатам ТГТ, наблюдалось увеличение генерации тромбина: количественные показатели (ЕТР и Peak) и скорость (V) генерации тромбина были статистически значимо выше в сравнении с группой контроля. В то же время результаты дооперационной оценки скрининговых тестов внутреннего (протромбин по Квику, МНО) и внешнего путей (АЧТВ) активации протромбиназы, а также тромбиновое время находились в пределах референсных значений. При этом выявлено достоверное повышение содержания фибриногена и снижение АТ-III, протеина С относительно аналогичных показателей контрольной группы. Полученные данные подтверждают точку зрения о том, что базовые тесты ни в наборе, ни тем более в изолированном виде не позволяют полноценно оценить процесс тромбинообразования. Они отражают только начальный

этап образования тромбина, что составляет не более 5% общего потенциала генерированного тромбина и только его лаг-фазу, и измерение заканчивается в тот момент, когда в реакционной кювете появляются первые нити фибрина [9, 10].

Выявленное до операции повышение уровня тканевого активатора плазминогена указывало на активацию системы фибринолиза. В литературе имеются данные о связи повышенной концентрации t-PA в плазме с увеличением риска сердечно-сосудистых осложнений [11]. Возможным объяснением парадоксальной связи t-PA, активирующего фибринолиз, с тромботическими осложнениями может быть повышение концентрации t-PA вследствие увеличения доли неактивного комплекса t-PA/PAI-1, имеющего большую продолжительность циркуляции в кровотоке, чем свободный t-PA [11]. Кроме того, в экспериментах показано, что тромбин стимулирует секрецию t-PA и PAI-1 клетками эндотелия [11], и поэтому повышение этих компонентов в плазме больных может быть следствием увеличения образования тромбина. Активация t-PA может способствовать дестабилизации атеросклеротических бляшек, попадание последних в кровоток — вызывать окклюзию коронарных артерий. Повышенная генерация тромбина могла быть обусловлена также высокой экспрессией фактора Виллебранда в исследуемой группе [9, 12].

После проведения протаминизации количественные показатели теста генерации тромбина и скорость его образования оставались выше уровня контрольной группы, что свидетельствовало о состоянии гиперкоагуляции. При этом хронометрические показатели теста достоверно увеличивались, что говорит об удлинении периода, необходимого для инициации процесса генерации тромбина. Из параметров традиционной коагулограммы наиболее значимо снижалось содержание протромбина и антикоагулянтов (AT-III и протеина C), уменьшалась активность фактора VIII и фактора Виллебранда. Одним из основных факторов, влияющих на длительность времени запаздывания синтеза тромбина, согласно данным A. Dielis (2008), является ингибитор пути тканевого фактора (TFPI), который в избытке экспрессирует атеросклеротически изменённый эндотелий сосудов (C.T. Mitchell, 2009) [13, 14]. Снижение естественных антикоагулянтов, видимо, связано, с одной стороны, с их интенсивным потреблением в результате массивного поступления в сосудистое русло тромбопластических веществ, образующихся при травматизации тканей во время ИК, с другой стороны, с дисфункцией сосудистого эндотелия, на поверхности которого происходит активация протеина C посредством тромбомодулина. Кроме того, нельзя исключить и факт дилуции во время операции.

Полученные результаты также свидетельствуют об активации фибринолиза на интраоперационном этапе: после протаминизации увеличивались уровни тканевого активатора плазминогена, комплекса t-PA/PAI и Д-димера. В настоящее время имеются разные мнения относительно воздействия ИК на систему фибринолиза. Ряд авторов в своих исследованиях не выявили активации системы фибринолиза после ИК, другие же, наоборот, находят выраженную её активацию [8, 15]. Учитывая физиологическую роль естественных антикоагулянтов и системы фибринолиза, их изменение можно рассматривать как фактор, сопровождающий повышенную генерацию тромбина.

В работе проводилось определение концентрации фибронектина, одного из ключевых белков межклеточного матрикса, играющего важную роль в регуляции тромбоцитарно-сосудистого гемостаза. Содержание фибронектина после протаминизации было достоверно повышено в 2 раза по сравнению с контролем. Предполагается, что повышенный уровень фибронектина связан не только с эндотелиальной дисфункцией, но и с оперативным вмешательством. Уникальная структура фибронектина позволяет функционировать ему, как молекулярный клей, соединяющий различные молекулы вместе, благодаря его доменам для фибрина, гепарина, коллагена и клеточной поверхности [16].

В раннем послеоперационном периоде параметры ТГТ продолжали статистически значимо изменяться (отображая ведущую роль тромбина в регуляции гемостатического процесса) [8, 17]: площадь под кривой снижалась, достигая уровня контроля, другие показатели теста, такие как концентрация тромбина и скорость его образования, стали статистически значимо ниже по сравнению с контролем. При этом, согласно результатам базовой коагулограммы, был снижен только протромбин, содержание антикоагулянтов хоть и подрастало относительно интраоперационных значений, но оставалось ниже контрольного уровня. Со стороны показателей, характеризующих систему фибринолиза, наблюдалось повышение тканевого активатора плазминогена, комплекс t-PA/PAI уменьшался.

Таким образом, результаты исследования демонстрируют разнонаправленные изменения в системе гемостаза при проведении открытых кардиохирургических операций в условиях искусственного кровообращения. Очевидно, что лабораторные исследования отдельных факторов свертывания и факторов их регуляции (естественных антикоагулянтов, компонентов системы фибринолиза) не отражают повышенного риска послеоперационной гиперкоагуляции, не распознавание и не управление которой может существенно ухудшить послеоперационный прогноз пациентов. Оценка генерации тромбина, ключевого регулятора активации про- и антикоагулянтов, а также компонентов системы фибринолиза позволит правильно судить о глобальном балансе свертывания и составит верное представление о тех патологиях, которые приводят к геморрагическим или тромботическим состояниям. В отличие от коагулограммы, ТГТ позволяет оценить тромбиновый потенциал как одну из важнейших составляющих гемостатического потенциала в целом, дать его интегральную оценку и оптимизировать лечебно-профилактическую тактику тромбгеморрагических осложнений, что позволит разработать экономически выгодную стратегию диагностики.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Дементьева И.И., Чарная М.А., Морозов Ю.А. *Диагностика, профилактика и коррекция нарушений системы гемостаза в кардиохирургии*. В книге: Руководство по кардиоанестезиологии и интенсивной терапии. Москва; 2015.
2. Лазанюк В.Н., Тарабрин О.А., Босенко В.И. *Диагностика и комплексная коррекция геморрагических расстройств у детей, оперированных по поводу цианотических врождённых пороков*

- сердца *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний*. 2016; (1): 60—70.
3. Чарная М.А., Дементьева И.И., Морозов Ю.А., Гладышева В.Г., Исаева А.М. Искусственная» гипокоагуляция у пациентов с гепарининдуцированной тромбоцитопенией (Обзор литературы). Часть I. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2013; 6(2): 87—91.
  4. Чарная М.А., Дементьева И.И., Морозов Ю.А., Гладышева В.Г., Исаева А.М. «Искусственная» гипокоагуляция у пациентов с гепарининдуцированной тромбоцитопенией (Обзор литературы). ЧАСТЬ II. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2013; 6: 390—3.
  5. Наместников Ю.А., Головина О.Г., Папаян Л.П. Значение теста генерации тромбина в клинической практике. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2011; 4(48): 47—9.
  6. Bosch Y., Al Dieri R., ten Cate H., Nelemans P., Bloemen S., Hemker C. et al. Preoperative thrombin generation is predictive for the risk of blood loss after cardiac surgery: a research article. *J. Cardiothorac Surg*. 2013; 8: 154.
  7. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., de Smedt E., Wagenvoort R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol. Haemost. Thromb*. 2003; 33(1): 4—15.
  8. Paparella D., Brister S.J., Bushaman M.R. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Med*. 2004; 30(10): 1873—81.
  9. Chantarangkul V., Clerici M., Bressi C. Giesen P.L., Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. *Haematologica*. 2003; 88: 547—54.
  10. Tripodi A. Thrombin Generation Assay and Its Application in the Clinical Laboratory *Clin. Chem*. 2016; 62: 699—707.
  11. Said R., Regnault V., Hacquard M., Carteaux J.P., Lecompte T. Platelet-dependent thrombography gives a distinct pattern of in vitro thrombin generation after surgery with cardiopulmonary bypass: potential implications. *Thromb. J*. 2012; 10(1): 15—9.
  12. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. *Thromb. Res*. 2012; 129(3): 250—6.
  13. Dielis A.W., Balliël W.M., van Oerle R., Hermens W.T., Spronk H.M., Ten Cate H. et al. Thrombomodulin-modified thrombin generation after in vivo recombinant factor VIII treatment in severe hemophilia A. *Haematologica*. 2008; 93(9): 1351—7.
  14. Mitchell C.T., Kamineni A., Palmas W., Cushman M. Tissue factor pathway inhibitor, vascular risk factors and subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009; 207(1): 277—83.
  15. Ray M.J., O'Brein M.F. Comparison of epsilon aminocaproic acid and low-dose aprotinin in cardiopulmonary bypass: efficiency, safety and cost. *Ann. Thorac. Surg*. 2001; 3: 838—43.
  16. Khudhairi D.M., Nadeem F., Zuleika A.M., Hussain A., Ahmed A., el Sharkawy M. Effect of aprotinin on plasma fibronectin levels during cardiopulmonary bypass. *Ann. Thorac. Surg*. 1997; 63(1): 64—7.
  17. Tappenden K.A., Gallimore M.J., Evans G., Mackie I.J., Jones D.W. Thrombin generation: a comparison of assays using platelet-poor and -rich plasma and whole blood samples from healthy controls and patients with a history of venous thromboembolism. *Br. J. Haematol*. 2007; 139: 106—12.
  - v kardiohirurgii*. In the book: Manual on cardioanesthesiology and intensive care. Moscow; 2015. (in Russian)
  2. Lazanyuk V.N., Tarabrin O.A., Bosenko V.I. Diagnosis and comprehensive correction of hemorrhagic disorders in children operated on for cyanotic congenital heart defects. *Complex problems of cardiovascular diseases*. 2016; (1): 60—70. (in Russian)
  3. Charnaya M.A., Dementieva I.I., Morozov Yu.A., Gladysheva V.G., Isaeva A.M. «Artificial» hypocoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia (Review of the literature). Part I. *Cardiology and Cardiovascular Surgery*, 2013; T. 6(2): 87—91. (in Russian)
  4. Charnaya M.A., Dementieva I.I., Morozov Yu.A., Gladysheva V.G., Isaeva A.M. «Artificial» hypocoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia (Review of the literature). Part II. *Cardiology and cardiovascular surgery*. 2013; T. 6(3): 390—93. (in Russian)
  5. Namestnikov Yu.A., Golovina O.G., Papayan L.P. The value of the thrombin generation test in clinical practice. *Thrombosis, hemostasis and rheology*. 2011; 4(48): 47—9.
  6. Bosch Y., Al Dieri R., ten Cate H., Nelemans P., Bloemen S., Hemker C. et al. Preoperative thrombin generation is predictive for the risk of blood loss after cardiac surgery: a research article. *J. Cardiothorac. Surg*. 2013; 8: 154.
  7. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R., Regnault V., de Smedt E., Wagenvoort R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol. Haemost. Thromb*. 2003; 33(1): 4—15.
  8. Paparella D., Brister S.J., Bushaman M.R. Coagulation disorders of cardiopulmonary bypass: a review. *Intensive Care Med*. 2004; 30(10): 1873—81.
  9. Chantarangkul V., Clerici M., Bressi C. Giesen P.L., Tripodi A. Thrombin generation assessed as endogenous thrombin potential in patients with hyper- or hypo-coagulability. *Haematologica*. 2003; 88: 547—54.
  10. Tripodi A. Thrombin generation assay and its application in the clinical laboratory. *Clin. Chem*. 2016; 62: 699—707.
  11. Said R., Regnault V., Hacquard M., Carteaux J.P., Lecompte T. Platelet-dependent thrombography gives a distinct pattern of in vitro thrombin generation after surgery with cardiopulmonary bypass: potential implications. *Thromb. J*. 2012; 10(1): 15—9.
  12. De Candia E. Mechanisms of platelet activation by thrombin: a short history. *Thromb. Res*. 2012; 129(3): 250—6.
  13. Dielis A.W., Balliël W.M., van Oerle R., Hermens W.T., Spronk H.M., Ten Cate H. et al. Thrombomodulin-modified thrombin generation after in vivo recombinant factor VIII treatment in severe hemophilia A. *Haematologica*. 2008; 93(9): 1351—7.
  14. Mitchell C.T., Kamineni A., Palmas W., Cushman M. Tissue factor pathway inhibitor, vascular risk factors and subclinical atherosclerosis: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 2009; 207(1): 277—83.
  15. Ray M.J., O'Brein M.F. Comparison of epsilon aminocaproic acid and low-dose aprotinin in cardiopulmonary bypass: efficiency, safety and cost. *Ann. Thorac. Surg*. 2001; 3: 838—43.
  16. Khudhairi D.M., Nadeem F., Zuleika A.M., Hussain A., Ahmed A., el Sharkawy M. Effect of aprotinin on plasma fibronectin levels during cardiopulmonary bypass. *Ann. Thorac. Surg*. 1997; 63(1): 64—7.
  17. Tappenden K.A., Gallimore M.J., Evans G., Mackie I.J., Jones D.W. Thrombin generation: a comparison of assays using platelet-poor and -rich plasma and whole blood samples from healthy controls and patients with a history of venous thromboembolism. *Br. J. Haematol*. 2007; 139: 106—12.

## REFERENCES

1. Dementieva I.I., Charnaya M.A., Morozov Yu.A. *Diagnosis, prevention and correction of hemostasis system disorders in cardiosurgery [Diagnostika, profilaktika i korrakciya narushenij sistemy gemostaza*

Поступила 14.04.17  
Принята к печати 20.04.17