

На правах рукописи

БЕРЕЗОВСКАЯ
ГЕЛЕНА АНАТОЛЬЕВНА

**НАРУШЕНИЯ ГЕМОСТАЗА И ТЕЧЕНИЕ
ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА ПОСЛЕ
ЭНДОВАСКУЛЯРНОЙ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ**

14.01.05 – кардиология

14.03.03 – патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

доктора медицинских наук

Санкт-Петербург – 2019

Работа выполнена в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, профессор Карпенко Михаил Алексеевич
доктор медицинских наук, профессор Петрищев Николай Николаевич

Официальные оппоненты:

Тыренко Вадим Витальевич – д.м.н., профессор ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны России, кафедра факультетской терапии, начальник

Дупляков Дмитрий Викторович – д.м.н., профессор, ГБУЗ «Самарский областной клинический кардиологический диспансер им. В.П. Полякова», заместитель главного врача по медицинской части

Тюкавин Александр Иванович – д.м.н., профессор, ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России, кафедра физиологии и патологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация – ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Минздрава России

Защита состоится _____ 2019 г. в __:__ на заседании диссертационного совета Д208.054.04, на базе ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (197341, Санкт–Петербург, ул. Аккуратова, д.2)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России (Санкт–Петербург, ул. Аккуратова, д.2, www.almazovcentre.ru)

Автореферат разослан «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 208.054.04
доктор медицинских наук, профессор

Недошивин Александр Олегович

Общая характеристика работы

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Ишемическая болезнь сердца (ИБС), несмотря на успехи в профилактике и лечении, продолжает занимать одну из лидирующих позиций среди всех причин смерти населения большинства высокоразвитых стран мира. Лечение этого заболевания трудно представить без чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ), которых только в Российской Федерации в 2017 году было выполнено более 680 тысяч, а число лечебных процедур возросло по сравнению с предыдущим годом на 12,9% и достигло 265 137 (Алесян Б.Г. и др., 2018). Неуклонный рост в популяции количества больных с имплантированными стентами придаёт особую актуальность проблеме возобновления заболевания, приводящей как к снижению качества и продолжительности жизни больных ИБС, так и к дополнительным экономическим затратам.

Возобновление клинических проявлений ИБС после ЧКВ наблюдается у 30% больных в течение первого года после вмешательства (Lemos, P.A. et al., 2004). При этом от 20% до 26% приходится только на рецидивы стенокардии, частота которых в течение пяти лет после реваскуляризации увеличивается до 40% и более (Inoue, K. et al., 2004). Причины рецидивов стенокардии традиционно подразделяют на структурные («stretch-боль», рестеноз внутри стента (РВС) и тромбоз внутри стента (ТВС), неполная реваскуляризация и прогрессирование атеросклероза коронарных артерий) и функциональные (микроваскулярная дисфункция и эпикардальный коронарный спазм). Однако чаще всего к возобновлению клиники заболевания приводит сочетание различных изменений как в оперированных, так и в неоперированных коронарных артериях.

Установлено, что одним из ключевых участников процессов, индуцированных реваскуляризацией, является тромбин (Kamphuisen, P.W., 2008), вызывающий при воздействии на сосудистую стенку эндотелий-зависимую дилатацию артерий и эндотелий-независимую веноконстрикцию (Gudmundsdóttir, I.J. et al., 2008), а при непосредственном влиянии на гладкомышечные клетки и кардиомиоциты – соответственно, только вазоконстрикцию (Godin, D. et al., 1995) и ухудшение сократительной способности миокарда (Hird, R.B. et al., 1995).

Возобновление симптомов ИБС после реваскуляризации также принято связывать с недостаточной эффективностью антиагрегантных препаратов, среди причин которой традиционно рассматривают отсутствие информативных методов оценки их действия (Голухова Е.З. и др., 2013; Ben-Dor, I. et al., 2009; Can, M.M. et al., 2010). В последние годы активно изучаются возможности использования с этой целью теста генерации тромбина (ТГТ), позволяющего оценить динамику образования и инактивации *in vitro* тромбина – ключевого фермента гемостаза, образование которого происходит как в плазме крови, так и

на поверхности активированных тромбоцитов (Шмелева В.М. и др., 2014). Данный тест позволяет довольно точно моделировать *in vitro* процесс образования тромбина в естественных условиях, оценить как не связанный, так и связанный с тромбоцитами тромбиногенез, характеризующий соответственно состояние плазменно-коагуляционного и тромбоцитарно-сосудистого звеньев гемостаза, а также оценить активность системы протеина С, антитромботические свойства которой обусловлены не только возможностью регулировать интенсивность тромбиногенеза (Bouwens, E.A.M. et al., 2013). Результаты немногочисленных исследований по изучению роли системы протеина С в патогенезе тромбозов стентов, освещённые в доступной литературе, на данный момент не позволили сформировать единое мнение по этому поводу (Goel, P.K. et al., 2010) и представляют большой интерес для исследователей.

Среди причин развития осложнений после эндоваскулярной реваскуляризации рассматривают также и генетически обусловленные изменения системы гемостаза (Pons, D. et al., 2007). Хорошо известно о роли полиморфных вариантов гена, кодирующего образование фактора V (*F5*), в развитии осложнений после ЧКВ (Pons, D. et al., 2007). Сохраняется интерес и к полиморфным вариантам генов протромбина (*F2*) и метилентетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), ассоциативная связь которых с риском развития осложнений после ЧКВ установлена (Zavalloni, D. et al., 2012). Напротив, о роли полиморфных маркеров гена ингибитора активатора плазминогена-1 (*PAI-1*) в развитии РВС (Aslanabadi, N. et al., 2016; Zavalloni, D. et al., 2012), а также о влиянии носительства генотипа Val34Leu фактора XIII на развитие тромбозов, как венозных, так и артериальных (Капустин С.И., 2006), однозначного мнения пока нет.

Таким образом, несмотря на большое количество данных и сформированные подходы к анализу причин рецидивов стенокардии после ЧКВ, поиск интегральных маркеров, отражающих суммарное воздействие различных патогенетических факторов возобновления заболевания, необходимых для персонализации лечения и улучшения отдалённых результатов реваскуляризации, остаётся актуальным. На данный момент есть все основания полагать, что подобную роль могут выполнять показатели, характеризующие состояние системы гемостаза.

Цель исследования: Оценить нарушения в системе гемостаза у больных ишемической болезнью сердца и их влияние на возобновление стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Задачи исследования

1. Провести анализ клинических событий в течение четырёх лет наблюдения после эндоваскулярной реваскуляризации.
2. Определить частоту рецидивов стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации миокарда в различные сроки после вмешательства и проанализировать факторы риска возобновления клиники заболевания.
3. Изучить характер не связанного с тромбоцитами тромбогенеза, отражающего состояние плазменно-коагуляционного звена гемостаза, у практически здоровых людей и больных ишемической болезнью сердца, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации.
4. Оценить влияние двойной антиагрегантной терапии на интенсивность связанного с тромбоцитами тромбогенеза, характеризующего преимущественно состояние тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза, у больных ишемической болезнью сердца после эндоваскулярной реваскуляризации.
5. Выявить наличие ассоциативных связей генетических факторов системы гемостаза и фолатного обмена (полиморфных маркеров генов *FGB*, *F2*, *F5*, *F13A1*, *SERPINE1*, *ITGB3*, *MTHFR*) с возобновлением стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.
6. Проанализировать возможности применения искусственной нейронной сети заданной архитектуры для математического моделирования влияний нарушений гемостаза на возобновление стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Научная новизна работы

Установлено, что под влиянием ингибиторов ЦОГ-1 (препаратов ацетилсалициловой кислоты) и блокаторов рецепторов тромбоцитов P_2Y_{12} (клопидогреля) происходит не только уменьшение интенсивности, но и скорости образования связанного с тромбоцитами тромбина.

Также установлено, что через сутки, спустя 6 и 12 месяцев после эндоваскулярной реваскуляризации происходит снижение активности системы протеина С, обладающей антитромботическими эффектами.

Определено, что носительство варианта 34V гена *F13A1*, кодирующего A1-субъединицу фибринстабилизирующего фактора (FXIII), ассоциируется с возобновлением стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Создана математическая модель с применением искусственной нейронной сети заданной архитектуры, базирующаяся на анализе параметров интенсивности и скорости образования тромбина и позволяющая оценить степень влияний изменений в системе гемостаза на вероятность возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Теоретическая и практическая значимость работы

Расширены представления о состоянии гемостаза у больных ишемической болезнью сердца и его роли в возобновлении клиники заболевания после ангиопластики со стентированием коронарных артерий.

Показаны возможности использования показателей интенсивность и скорость тромбиногенеза у больных ишемической болезнью сердца с целью выявления нарушений в системе гемостаза, повышающих риск развития как тромботических, так и геморрагических осложнений.

Определена прогностическая значимость показателей теста генерации тромбина в оценке риска возобновления клиники стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации. Предполагается, что после дополнительных исследований результаты данного теста могут быть использованы в качестве показаний для назначения новых оральных антикоагулянтов после эндоваскулярной реваскуляризации.

Дана оценка вариабельности показателей тромбиногенеза, оцененного в бедной тромбоцитами плазме, позволяющей выявить клинически не значимые, скрытые изменения в системе гемостаза, информация о которых может быть использована для прогнозирования развития геморрагических и тромботических осложнений у больных перед плановыми хирургическими вмешательствами.

Продемонстрирована прогностическая значимость носительства полиморфных вариантов гена, кодирующего образование фибринстабилизирующего фактора свёртывания крови (XIII), с целью выявления пациентов с высоким риском возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Построена нейросетевая математическая модель, позволяющая на основе анализа параметров интенсивности и скорости образования тромбина (ETP, Peak, VI + gh-TM, %LT) получить индивидуальный коэффициент вероятности возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации с целью разработки персональных рекомендаций по ведению пациентов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Возобновление стенокардии чаще всего наблюдается в течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации, не зависит от исходной формы заболевания и обусловлено преимущественно сочетанием рестеноза и тромбоза внутри стента с прогрессированием атеросклероза в неоперированных коронарных артериях.
2. Снижение активности системы протеина С в различные сроки после вмешательства является особенностью не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза, отражающего состояние плазменно-коагуляционного звена

гемостаза, у больных ишемической болезнью сердца, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации.

3. Вероятность возобновления стенокардии в течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации может быть рассчитана с помощью нейросетевой модели, основанной на анализе показателей интенсивности и скорости не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза, характеризующего преимущественно плазменно-коагуляционное звено гемостаза.
4. Действие антиагрегантных препаратов у больных ишемической болезнью сердца способствует снижению ассоциированного с тромбоцитами тромбиногенеза, отражающего состояние тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза.
5. Носительство варианта 34V гена *F13A1*, кодирующего A1-субъединицу фибринстабилизирующего фактора (XIII) свёртывания крови, ассоциируется с большим риском возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационной работы были представлены на Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых "Вопросы трансфузиологии и клинической медицины" (Киров, 2012); 58th Annual meeting of Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Liverpool, 2012); 22nd International Congress on Thrombosis (Nice, France, 2012); Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Кардиология: от стандартов диагностики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний до высоких технологий» (Узбекистан, Ташкент, 2012); Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2012); 6-й Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии (Москва, 13); 1-м Международном образовательном форуме «Российские дни сердца» (Москва, 2013); Российском национальном конгрессе кардиологов (Санкт-Петербург, 2013); Российском национальном конгрессе кардиологов (Казань, 2014); VII Всероссийской конференции «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» с международным участием (Москва, 2015); Conference of ASMDA international society, (University of Piraeus, Greece, 2015); 14th International Symposium «Advances in Neural Networks - ISNN 2017» (Sapporo, Hakodate, and Muroran, Hokkaido, Japan, 2017); 25th Biennial International Congress on Thrombosis (Venice, Italy, 2018). По результатам исследования опубликовано 48 печатных работ, в том числе 22 статьи, 19 из которых опубликовано в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и 2 статьи - в зарубежных изданиях («*Platelets*», «*Springer International Publishing*»). Зарегистрирована база данных «Выбор стратегии

ведения пациентов с ишемической болезнью сердца после коронароангиографии», свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2017620978 от 25.08.17г. Получен патент на изобретение «Способ прогнозирования возобновления клиники ишемической болезни сердца с помощью нейронных сетей у пациентов после эндоваскулярной реваскуляризации» № 2675067 от 14.12.2018г.

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры терапии факультетской с курсом эндокринологии и функциональной диагностики с клиникой и кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, а также в лечебно-диагностический процесс ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России.

Диссертация изложена на 211 страницах машинописного текста, содержит 49 таблиц и 22 рисунка. Список литературы включает 231 источник.

Основное содержание работы Методология и методы исследования

Исследование выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинской Декларации. Протокол проведения исследования, а также информированное согласие на участие в нём, подписанное всеми участниками перед включением в исследование, были одобрены Этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Было обследовано 317 человек, из которых 235 больных ИБС в возрасте от 38 до 75 лет (184 (78,3%) мужчин и 51 (21,7%) женщин), направленных для проведения инвазивной коронароангиографии (КАГ) в условиях стационара ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, и 82 практически здоровых человека, вошедших в группу сравнения, не имеющих клинических проявлений ИБС, а также соответствующих по полу и возрасту основной группе пациентов. Отбор пациентов для исследования проводился в течение 2010-2014 гг. на базе стационара кардиологического отделения №1 и реанимационных отделений №1 и №2 Главного клинического корпуса. Проспективное наблюдение больных осуществлялось в условиях НИЛ остро коронарного синдрома и НИЛ ультразвуковых методов исследования ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, а также Лаборатории свёртывания крови Российского НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России (Санкт-Петербург). В качестве критериев включения в исследование рассматривалось наличие ИБС, подтверждённой при КАГ и требующей эндоваскулярной реваскуляризации, а также возраст больного не старше 75 лет. К критериям

исключения относились патологические состояния, сопровождающиеся значительными нарушениями в системе гемостаза, указание на наличие в анамнезе эндоваскулярной реваскуляризации и АКШ/МКШ, а также применение непрямых антикоагулянтов.

По результатам проведённой КАГ 188 больным в возрасте от 38 до 75 лет (149 мужчинам и 39 женщинам) была выполнена первичная эндоваскулярная реваскуляризация миокарда. В экстренном порядке ЧКВ было выполнено у 35 (18,6%) больных по причине острого коронарного синдрома (ОКС). Поводом для вмешательства в плановом порядке у 153 (81,4%) больных чаще всего являлось наличие стенокардии напряжения III функционального класса, толерантной к консервативному лечению и, как правило, сочетающейся с другими вариантами ИБС, а также положительный результат пробы с физической нагрузкой (стрессЭхоКГ).

Безболевая ишемия была выявлена у 11,7% больных. Инфаркт миокарда в прошлом перенесло более половины больных (53,7%), а проявления хронической сердечной недостаточности, преимущественно II ФК, на момент госпитализации имели более чем 62% больных. В числе факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) чаще всего фигурировали эссенциальная артериальная гипертензия (85,6%), курение (55,3%), дислипидемия (66,8%), ожирение (36,2%), а также отягощённая наследственность по ССЗ (44,7%). Стеноз аортального клапана гемодинамически незначимый был выявлен у 9 (4,8%) больных. Указание в анамнезе на нарушение мозгового кровообращения, обусловленного атеросклерозом брахиоцефальных артерий, имелось у 3,7%. Клинические проявления облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей были выявлены у 7,4%.

По результатам первичной инвазивной КАГ все пациенты были разделены на три группы: 188 больным было выполнено стентирование коронарных артерий; 30 больным – АКШ/МКШ; 17 больным реваскуляризация не проводилась по причине отсутствия гемодинамически значимых стенозов коронарных артерий по результатам КАГ (у 11 больных) или по причине отсутствия влияния гемодинамически значимых стенозов на сократительную способность миокарда по результатам стрессЭхоКГ (у 6 больных). В течение 2 – 4 лет наблюдения ежегодно все пациенты опрашивались по телефону и могли самостоятельно позвонить в случае возникновения жалоб. Пациенты, указывающие на возобновление клиники ИБС (боли в грудной клетке), приглашались на осмотр и обследование (стрессЭхоКГ) с целью решения вопроса о проведении повторной КАГ.

Лабораторные исследования крови проводились у всех вошедших в исследование больных до ЧКВ, через сутки, 2 недели, 3, 6 и 12 месяцев после него. Определялись показатели общего и биохимического анализов крови, коагулограммы и показатели ТГТ, а также генетическое исследование крови. В последующие 3 года наблюдения лабораторные исследования в плановом

порядке не проводились. Стресс-ЭхоКГ выполнялась перед ЧКВ только у плановых больных, через 6 и 12 месяцев после вмешательства всем пациентам основной группы, подвергшимся эндоваскулярной реваскуляризации, далее – в случае возобновления клиники стабильной стенокардии напряжения, либо в случаях, требующих дифференциальной диагностики боли в грудной клетке.

В качестве конечных клинических точек рассматривались:

1. Геморрагические осложнения согласно классификации BARC (Bleeding Academic Research Consortium)(Mehran, R. et al., 2011).
2. Тромботические экстракардиальные осложнения: ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака, тромбоз периферических сосудов, тромбоэмболия лёгочной артерии.
3. Проведение повторного эндоваскулярного вмешательства с целью достижения полной реваскуляризации.
4. Возобновление стенокардии, обусловленное ТВС и/или РВС, а также прогрессированием атеросклероза в бассейне неоперированных коронарных артерий, подтверждёнными при КАГ и требующими повторной реваскуляризации.
5. Внезапная коронарная смерть.
6. Внесердечная смерть.

В соответствии с действующими на момент проведения исследования рекомендациями ЕОК по реваскуляризации миокарда (Wijns W. et al., 2010), всем пациентам проводилась стандартная двойная антиагрегантная терапия, состоящая из препарата ацетилсалициловой кислоты (АСК) 300 мг и клопидогреля в дозе 600 мг за сутки или, по крайней мере, за 2 часа до ЧКВ. После реваскуляризации доза АСК 300 мг в сутки была неизменной до выписки из стационара, а доза клопидогреля (75 мг в сутки) увеличивалась в редких случаях до 150 мг в сутки в течение первых 7 дней после вмешательства. В периоперационном и раннем послеоперационном периодах все пациенты получали нефракционированный гепарин в виде внутривенной инфузии под контролем активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), или эноксапарин из расчёта 1 мг/кг 2 раза в сутки. Больным, оперированным в экстренном порядке, проведение антикоагулянтной терапии начиналось на догоспитальном этапе.

В течение года после вмешательства все больные независимо от вида стентов получали двойную антиагрегантную терапию, состоящую из препарата ацетилсалициловой кислоты в дозе 75–100 мг в сутки и клопидогрель в суточной дозе 75 мг. Далее все пациенты оставались на антиагрегантной монотерапии препаратом ацетилсалициловой кислоты в дозе от 75 мг до 100 мг в сутки. Кроме этого все пациенты получали гиполипидемические препараты: статины в среднетерапевтических дозировках 183 (97,3%) и фибраты 5(2,7%) больных, но на момент включения в исследование у 83 (44,1%) больных целевые значения

общего холестерина (ОХ) и липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) (ОХ < 4,0 ммоль/л, ЛПНП < 1,8 ммоль/л) достигнуты не были. Впоследствии проводилась коррекция гиполипидемической терапии, что позволило уменьшить количество больных с нецелевыми значениями ОХ и ЛПНП до 27,4%. В базисную терапию также входили бета-адреноблокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (60,1%), блокаторы рецепторов I типа к ангиотензину II (27,2%), блокаторы медленных кальциевых каналов (27,1%), диуретики (55,9%), нитраты (18,1%), а также таблетированные антигипергликемические препараты (бигуаниды и тиазолидиндионы) при наличии показаний. Ингибиторы протонной помпы (омепразол, пантопразол) в течение первого года после вмешательства регулярно получал 71 (37,8%) больной.

Всем больным проводилось измерение роста при первичном осмотре. Измерение веса, окружности талии, расчёт индекса массы тела (ИМТ, кг/м²), а также измерение артериального давления на плечевой артерии методом аускультативного (непрямого) измерения АД по Н.С. Короткову с помощью сфигмоманометра и фонендоскопа с соблюдением правил измерения АД, подсчёт частоты сердечных сокращений производились при каждом осмотре.

ЭхоКГ проводилось с помощью аппарата Vivid 7 Dim (GE). Первое исследование у больных, госпитализированных в экстренном порядке с ОКС, проводилось по короткому протоколу, позволяющему оценить основные ЭхоКГ параметры миокарда в покое, а у больных, госпитализированных в плановом порядке, стрессЭхоКГ осуществлялась в полном объёме накануне с целью определения показаний для проведения КАГ. Через 6 и 12 месяцев после ЧКВ стрессЭхоКГ в соответствии с полным протоколом проводилась пациентам обеих категорий. Для проведения Стресс-ЭхоКГ на тредмиле (T1200, GE) был применён стандартный протокол BRUCE с использованием программ для нагрузочных тестов «Cardiosoft» (GE).

Инвазивная КАГ проводилась в течение 2010-2014 годов в условиях отделения рентген-хирургических методов диагностики и лечения ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. Диагностические и лечебные вмешательства выполнялись на ангиографическом комплексе GE Innova 3100, оснащённом системой записи и анализа параметров инвазивной гемодинамики Mac-Lab (США). Проведение первичного ЧКВ осуществлялось преимущественно (у 184 или 97,9% пациентов), через бедренную артерию. По результатам КАГ в группе обследованных больных чаще выявлялось наличие гемодинамических стенозов в бассейнах передней межжелудочковой у 128 (68,1%) больных, огибающей у 104 (55,3%) больных и правой коронарных артерий у 98 (52,1%) больных. Повторная КАГ в экстренном порядке выполнялась больным при возникновении клиники ОКС. В плановом порядке поводом для повторной КАГ являлось возобновление стабильной стенокардии напряжения II-III ФК и положительного результата стрессЭхоКГ.

Полная реваскуляризация была достигнута у 68 (36,2%) больных. Имплантация одного стента в коронарную артерию выполнена у 94 (50%)

больных, 35 из которых пришлось на экстренных пациентов (ангиопластика со стентированием инфаркт-связанной артерии). В связи с этим реваскуляризация в группе экстренных больных была преимущественно неполная (у 28 из 35), в отличие от плановых больных, что учитывалось при многофакторном анализе полученных данных. Имплантация двух стентов одномоментно произведена у 56 (29,8%) больных, из которых 5 были прооперированы в экстренном порядке. По 3 и более стентов одномоментно было имплантировано 38 (20,2%) пациентам. Суммарная длина имплантированных стентов в среднем составила $40,3 \pm 23,7$ мм. Минимальный диаметр стентированного участка в среднем – $2,9 \pm 0,7$ мм. Максимальное давление преддилатации, использованное при ЧКВ – $14,4 \pm 3,3$ атм. Оценка тяжести поражения коронарного русла осуществлялась по шкале Syntax Score [www.syntaxscore.com]. В соответствии с данной шкалой к группе низкого риска относились больные, имеющие от 0 до 22 баллов (164 больных (87,2%)), к группе промежуточного риска – 23 - 32 балла (17 (9,1%)) и к группе высокого риска – > 32 баллов (7 больных (3,7%)). Больные, подвергшиеся эндоваскулярной реваскуляризации, имели преимущественно низкие значения показателя Syntax Score, что согласуется с рекомендациями ESC/EACTS по выбору метода реваскуляризации миокарда от 2014 года (Kolh, P. et al., 2014). У пациентов, включенных в данное исследование, чаще всего были использованы стенты без лекарственного покрытия (80,2%), реже – с антипролиферативным покрытием (Зотаролимус, Эверолимус, Биолимус)(19,8%). Стенты без лекарственного покрытия были имплантированы 139(73,9%) больным, а с лекарственным покрытием 35(19,1%) больным. Стенты обоих типов были установлены 14(7,0%) больным.

В условиях ЦКДЛ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России всем обследованным выполнялся общий анализ крови на автоматическом гематологическом анализаторе Coulter LH 500 с принадлежностями (Beckman Coulter Inc., США). Биохимические исследования крови проводились с использованием автоматического биохимического анализатора Architect с8000 (Abbott Laboratories, США) и автоматического иммунохимического анализатора Cobas e411 (Roche, Швейцария). Определялись следующие показатели: содержание тропонина I, миоглобина, общего белка, С-реактивного белка, креатинина, глюкозы, активность креатинфосфокиназы МВ, аланинаминотрансферазы и аспартат-аминотрансферазы, а также липидный спектр.

Исследования гемостаза проводились в условиях ЦКДЛ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и лаборатории свёртывания крови РосНИИГТ ФМБА (Санкт-Петербург). Коагулологические параметры определяли на автоматическом коагулометре STA-Compact (STA-Compact, Швейцария) и автоматическом коагулометре Helena AC-4 (Helena Biosciences Europe, Великобритания) с использованием реагентов от производителя. Исследовались следующие показатели: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, с), протромбин по Квику (ПТ, %),

концентрация фибриногена (г/л), фактор Виллебранда (ФВ, %) , фактор VIII (Ф VIII, %) , антитромбин III (АТ III, %) и международное нормализованное отношение (МНО). D-димеры (мкг/мл) измеряли методом, основанным на латексной агглютинации. Агрегационная активность тромбоцитов оценивалась с помощью импедансного 2-канального агрегометра Chronolog (Chrono-log Corporation, США). В качестве индукторов агрегации использовали коллаген (2 мкг/мл), арахидоновую кислоту (0,5 мМ/л) и АДФ (в концентрациях 1 мкМ, 5 мкМ и 10 мкМ). Кроме того, состояние тромбоцитарного звена гемостаза оценивалось с помощью внутрисосудистой активации тромбоцитов морфофункциональным методом с использованием фазово-контрастного микроскопа МИКРОМЕД 7 (ЛОМО, Россия) по методу А.С. Шитиковой. О степени активации тромбоцитов судили по доле активных форм тромбоцитов (%) и доле тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты (%).

Интенсивность тромбиногенеза оценивалась с помощью ТГТ, позволяющего довольно точно моделировать *in vitro* условия образования тромбина, существующие в естественных условиях (рисунок 1).

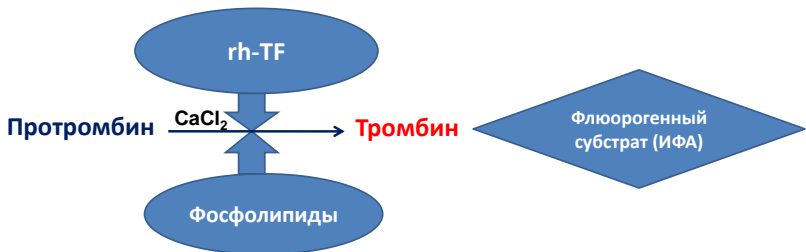


Рисунок 1 – Моделирование тромбиногенеза в плазме крови *in vitro* (адаптировано Березовской Г.А. из Hemker H. et al., 2003)

Примечание: rh-NF - рекомбинантный человеческий тканевой фактор.

Постановка и анализ результатов ТГТ выполнялись согласно методике, предложенной Hemker H et al. в 2003 г. (Hemker H.C. et al., 2003) в условиях НИЛ ОКС ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России и лаборатории свёртывания крови РосНИИГТ (Санкт-Петербург). В данном исследовании использовали плазму крови, богатую и бедную тромбоцитами. Для стандартизации ТГТ образцы крови отбирали в вакуумные пробирки VACUETT®, содержащие в качестве консерванта 3,2% (0,109 М) раствор цитрата натрия при соотношении антикоагулянта и крови 1: 9.

Богатую тромбоцитами плазму получали путем центрифугирования при 22°C в течение 10 минут при ускорении 120 g с последующим доведением концентрации тромбоцитов в каждом образце до $150 \cdot 10^9$ кл/л путем добавления аутологичной плазмы, бедной тромбоцитами. В качестве триггерного реагента использовали смесь рекомбинантного человеческого тканевого фактора (rh-TF) и отрицательно заряженных прокоагулянтных фосфолипидов в конечной концентрации 1 пМ.

Бедная тромбоцитами плазма для исследования была подготовлена путем последовательного двойного центрифугирования образцов крови: при 130g в течение 10 мин и 2500g в течение 30 мин. Для постановки ТГТ были использованы реагенты производства Thrombinoscope bv (Нидерланды). Триггерный реагент «PPP-Reagent 5pM» содержал смесь тканевого фактора (rh-TF) в конечной концентрации 5 пМоль и прокоагулянтных фосфолипидов. Смесь специфичного для тромбина флюорогенного субстрата и CaCl_2 подготавливалась перед каждой постановкой теста из реагентов «Fluo-Buffer» и «Fluo-Substrate».

Для оценки активности системы протеина С постановка ТГТ была модифицирована добавлением в реакцию смесь человеческого рекомбинантного тромбомодулина (rh-TM). Калибровка производилась параллельно с генерацией тромбина в каждом исследуемом образце плазмы при помощи реагента «Thrombin Calibrator». Постановка ТГТ проводилась в дублях на планшетном флюориметре Fluoroskan Ascent®, оборудованном диспенсером, производства ThermoFisher SCIENTIFIC (Финляндия). Построение и расчет показателей кривых ТГТ осуществлялись при помощи программного обеспечения Thrombinoscope® версия 3.0.0.26. (рисунок 2).

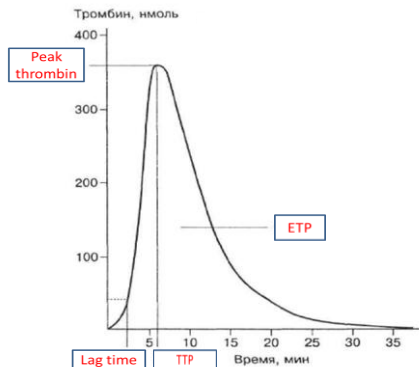


Рисунок 2 – Кривая генерации тромбина и измеряемые параметры (адаптировано Березовской Г. А. из Nemker H. et al., 2003)

Оценивали следующие показатели ТГТ (рисунок 2): LT (Lag Time) – время инициации свертывания (мин); Peak (Peak thrombin) – пиковая концентрация

тромбина, (нМ); ttPeak (time to peak) – время достижения пика (мин); ETP (Endogenous Thrombin Potential) – эндогенный тромбиновый потенциал (нМ·мин). VI (Velocity index) – скорость образования тромбина (нМ/мин), которую рассчитывали по формуле:

$$VI = \text{Peak} / \text{ttPeak} - \text{Lag time}, (1)$$

где Peak (Peak thrombin) – пиковая концентрация тромбина, (нМ); ttPeak (time to peak) – время достижения пика (мин); LT (Lag Time) – время инициации свертывания (мин).

Для определения чувствительности к тромбомодулину использовали показатели ТГТ, полученные в параллельной постановке с добавлением и без добавления тромбомодулина по формуле:

$$X = Y (\text{без rh-TM}) - Y (\text{с rh-TM}) / Y (\text{без rh-TM}) \cdot 100 \%, (2)$$

где X – чувствительность к тромбомодулину (%); Y – показатель тромбограммы; rh-TM – человеческий рекомбинантный тромбомодулин.

Генетическое исследование на предмет выявления полиморфных вариантов генов факторов свёртывания крови и фолатного обмена проводилось в условиях ЦКДЛ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России. При включении в исследование 90 случайно выбранным пациентам, подвергшимся эндоваскулярной реваскуляризации, было проведено молекулярно-генетическое исследование с помощью комплекта реагентов «Сердечно-сосудистые заболевания СтрипМетод»[®] (ViennaLab Diagnostics GmbH, Австрия). Данный метод основан на мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР), мечении ПЦР-продуктов биотином, их гибридизации на тест-стрипе и визуализации с помощью фосфатазы. Использование специфических олигонуклеотидов, закрепленных на тест-стрипе, позволило детектировать следующие варианты генов: *F1 (FGB)(-455G>A)*, *F2 (G20210A)*, *F5 (G1691A)* и *F5 (H1299R)*, *F13 (V34L)*, *SERPINE1 (5G(-675)4G)*, *ITGB3 (T1565C)*, *MTHFR (C677T)* и *MTHFR (A1298C)*.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью компьютерных программ SPSS 20.0., Statistica 10 и SAS JMP 10. О достоверности различий между двумя зависимыми выборками по причине их достаточного объема судили по t-критерию для средних (p^1), различия считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Полученные данные также анализировались с помощью непараметрических критериев Уилкоксона (p^2) и

Знаков (p^3), различия также считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Сравнения групп по номинальным признакам проводились с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона, достоверными считались различия при значениях $p < 0,05$. С помощью однофакторного дисперсионного анализа с апостериорными множественными сравнениями по критерию Шеффе была дана оценка достоверности различий между несколькими независимыми выборками для нормально распределенных данных с однородной дисперсией. В иных ситуациях был использован непараметрический критерий Краскала-Уоллиса, а для множественных сравнений – критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони. Различия считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Значения средних для выборок приведены с 95%-ми доверительными интервалами и стандартными отклонениями. Анализ результатов генетического исследования проводился с помощью компьютерной программы Statistica 7.0. Различия считали статистически значимыми при значениях $p \leq 0,05$. Для сравнения частот генотипов и аллелей использовали непараметрические методы: критерий χ^2 , а для малых выборок – критерий χ^2 с поправкой Йетса. Отношение шансов (ОШ) рассчитывали с 95% доверительным интервалом (ДИ) по формуле $OШ=(a \cdot d)/(b \cdot c)$, где а и b – количество больных, имеющих и не имеющих данный генетический вариант, соответственно; с и d – количество лиц группы сравнения, имеющих и не имеющих данный генетический вариант, соответственно. Также был использован калькулятор для статистического анализа в генетических исследованиях «случай-контроль» (http://gen-exp.ru/calculator_or.php).

Математическое моделирование классификатора возобновления клинических проявлений ИБС после эндоваскулярной реваскуляризации на основе данных ТГТ, полученных непосредственно перед операцией, осуществлялось с помощью нейронных сетей заданной архитектуры, программируемых в пакете Mathematica Wolfram.

В статистической обработке полученных результатов и создании нейросетевой модели участвовали сотрудники кафедры высшей математики СПбПУ им. Петра Великого Лазовская Т.В. и Тархов Д.А.

Результаты исследования и их обсуждение

Основную группу наблюдения составили 188 больных ИБС, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации. Период наблюдения от момента вмешательства до развития событий, предусмотренных критериями конечных клинических точек, продолжался от 1-х суток до 4-х лет и в среднем составил $2,4 \pm 1,7$ года. Из числа больных, с кем в течение всего периода наблюдения связь была сохранена, ни одного случая смерти от сердечно-сосудистых причин зафиксировано не было. В течение 4-х лет наблюдения от родственников пациентов стало известно о четырёх случаях смерти от внесердечных причин – онкологических заболеваний.

Повторное ЧКВ с целью достижения полной реваскуляризации было проведено у 12 (6,5%) больных через 2-3 месяца после первого вмешательства, что и явилось причиной их исключения от дальнейшего динамического наблюдения.

Геморрагические осложнения развились у 7 человек, из которых у четверых больных (2,2%) появились петехиальные кровоизлияния на коже (BARC 1) и у двоих (1,1%) – гемофтальм (BARC 2), потребовавшие коррекции доз антиагрегантных препаратов; у 1 (0,5%) больного развился гемоперикард через сутки после ЧКВ (BARC 3), по поводу чего было выполнено дренирование перикарда. В последующие годы наблюдения было зафиксировано 2 (1,7%) случая появления петехиальных кровоизлияний на фоне антиагрегантной монотерапии препаратом ацетилсалициловой кислоты в среднетерапевтических дозировках. Пациенты были направлены на расширенное обследование в лабораторию свёртывания крови РосНИИГТ.

Возобновление клинических проявлений ИБС (ОКС/ИМ и стабильной стенокардии напряжения II-III ФК) в течение всего периода наблюдения было выявлено у 87 больных. С клиникой ОКС в экстренном порядке в течение первого года после ЧКВ были госпитализированы 13 (7,0%) больных. У 27 (14,5%) больных наблюдалось возобновление клиники стенокардии напряжения II-III ФК, что явилось поводом для проведения пробы с физической нагрузкой и повторной КАГ с целью определения тактики дальнейшего лечения. Соотношение острых форм ИБС и стабильной стенокардии в течение этого периода наблюдения составило 1:2, а в последующие три года наблюдения – 1:7. В течение последующих трёх лет наблюдения количество новых случаев ОКС сократилось до 6 (5,0%), а стабильной стенокардии напряжения II-III ФК увеличилось до 41 (34,5%). В течение первого года наблюдения после эндоваскулярной реваскуляризации возобновление стенокардии произошло у 40 больных (21,5%), что в целом согласуется с результатами других исследователей и данными регистров (Inoue, K. et al., 2004; Izzo, P. et al., 2012).

Тромботические экстракардиальные осложнения в течение первого года после ЧКВ развились у 2-х (1,1%) больных, в связи с чем, одному пациенту была выполнена эндартериоэктомия на подвздошной и общей бедренной артерии, а второму – была назначена постоянная антикоагулянтная терапия по причине развития тромбоза лёгочной артерии, потребовавшей его госпитализации и исключения из исследования. В последующие 3 года наблюдения у 4 (3,4%) больных были выявлены признаки нарушений мозгового кровообращения: ишемического инсульта у 3-х и транзиторной ишемической атаки у 1-го больного. Клинические проявления облитерирующего атеросклероза нижних конечностей были диагностированы у 2 (1,7%) больных.

В течение первого года наблюдения было зафиксировано 3 случая пароксизмальной формы фибрилляции предсердий. У одного из пациентов спустя 6 месяцев после ЧКВ по результатам КАГ было выявлено сочетание РВС до 90% (ПМЖА) с прогрессированием атеросклероза в неоперированных ране

артериях и выполнено маммарно-коронарное шунтирование ПМЖА, аорто-коронарное шунтирование огибающей артерии и диагональной артерии. У двух других пациентов с пароксизмальной формой фибрилляции предсердий гемодинамически значимых стенозов по результатам КАГ выявлено не было. Одному больному было выполнена радиочастотная абляция устьев лёгочных вен, а другому – подобрана антиаритмическая терапия. В течение последующих трёх лет наблюдения лишь у 1 пациента была диагностирована пароксизмальная форма фибрилляции предсердий. За весь период наблюдения была утрачена связь с четырьмя больными.

Таким образом, наибольшая частота возобновления клиники ИБС после эндоваскулярного вмешательства была отмечена в течение первого года наблюдения; удельный вес случаев стабильной стенокардии напряжения среди всех рецидивов ИБС, рассматриваемых в данном исследовании в качестве клинических конечных точек, увеличивался постепенно в течение всего срока наблюдения.

Анализ факторов, влияющих на возобновление клиники ишемической болезни сердца после эндоваскулярной реваскуляризации

С целью установления факторов, влияющих на риск возобновления клиники стенокардии после эндоваскулярного вмешательства, был произведён сравнительный анализ частоты выявления наиболее известных факторов риска сердечно-сосудистых осложнений в группах больных с различными вариантами течения заболевания после реваскуляризации. Вполне ожидаемым оказалось наличие более тяжёлого поражения коронарного русла по шкале Syntax Score, оцененного при первичной КАГ, у больных с возобновлением стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации ($15,0 \pm 9,2$ против $10,0 \pm 5,4$; $p = 0,0001$). Было установлено также, что у данной категории больных исходно фракция выброса левого желудочка была существенно ниже, чем у больных без рецидивов стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации ($55,5 \pm 6,7$ против $58,5 \pm 5,4$; $p = 0,0134$). Статистически значимого влияния гендерной принадлежности, некоторых антропометрических данных, анализируемых в данном исследовании, а также сопутствующей патологии и факторов риска развития ССЗ, на варианты течения ИБС после эндоваскулярной реваскуляризации установлено не было. Сравнительная оценка лабораторных показателей, характеризующих нарушения углеводного и липидного обменов, а также развития системного воспаления, не выявила каких-либо значимых отличий между анализируемыми группами.

Таким образом, методы стандартного математического анализа позволили установить лишь влияние тяжести поражения коронарного русла, оцененной по шкале Syntax Score, и фракции выброса левого желудочка, имеющейся у больных исходно, на вероятность возобновления стенокардии после

реваскуляризации. При этом влияние известных факторов риска сердечно-сосудистых осложнений на возобновление клиники стенокардии после вмешательства с помощью данных методов статистического анализа в группе обследованных больных установить не удалось, что, вероятно, связано с жесткими критериями включения в исследование.

Результаты повторного коронароангиографического исследования

Пациентам, госпитализированным в экстренном порядке, повторная КАГ была проведена всем без исключения. В случае возобновления стабильной стенокардии и наличия положительного результата стрессЭхоКГ, повторная КАГ проводилась только с согласия больного. Было установлено, что у 2 (5,0%) в течение первого года и у 4 (8,5%) больных в последующие три года наблюдения возобновление стенокардии не было обусловлено наличием гемодинамически значимых стенозов, как в оперированных сосудах, так и в неоперированных ранее коронарных артериях. За весь период наблюдения по результатам повторной КАГ не было выявлено ни одного случая изолированного сужения стентированного коронарного сосуда в результате ТВС и/или РВС. Сочетание ТВС/РВС с прогрессированием атеросклероза в неоперированных сосудах являлось причиной возобновления стенокардии в течение первого года после ЧКВ в 3 раза чаще, чем в последующие три года наблюдения (18 (45,0%) против 7 (14,9%); $\chi^2 = 9,565$, $p = 0,002$). Количество больных, отказавшихся от проведения повторной КАГ в период от двух до четырёх лет после ЧКВ, возросло по сравнению с первым годом наблюдения в связи с увеличением в этот период случаев возобновления стабильной стенокардии невысокого функционального класса (7 (17,5%) против 26 (55,3%); $\chi^2 = 13,128$, $p < 0,001$). Результаты регрессионного и корреляционного анализа свидетельствовали об отсутствии влияния полноты реваскуляризации, давления предиятации, модификации стентов, их количества и суммарной длины одновременно установленных стентов на вероятность возобновления стенокардии после реваскуляризации в группе обследованных больных.

Таким образом, было установлено, что не всегда возобновление стенокардии после ЧКВ обусловлено наличием гемодинамически значимых стенозов только лишь в оперированных коронарных артериях; в течение первого года после ЧКВ причиной рецидивов стенокардии является преимущественно сочетание ТВС/РВС и прогрессирования атеросклероза в неоперированных сосудах.

Влияние исходной формы ишемической болезни сердца на прогноз течения заболевания после эндоваскулярной реваскуляризации

При сравнении групп больных, госпитализированных в экстренном и в плановом порядке, было установлено, что у больных ОКС чаще в анамнезе имелось указание на наличиеотягощённой наследственности по ССЗ (48,6%), у них также имелось более тяжелое поражение коронарного русла по шкале Syntax Score ($17 \pm 9,3$ против $11 \pm 6,9$; $p = 0,00001$) и более низкая фракция выброса левого желудочка ($52 \pm 7,7$ против $57 \pm 6,2$; $p = 0,0001$). У больных, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации в плановом порядке, чаще имелось наличие в анамнезе инфаркта миокарда (46,4%), проявлений хронической сердечной недостаточности II-III ФК (64,1%) и артериальной гипертензии (96,1%), курения (39,9%) и более высокого индекса массы тела на момент включения в исследование. По наличию сахарного диабета 2 типа (СД 2), а также по возрасту и полу, значимых отличий между этими категориями больных выявлено не было. Установлено, что частота возникновения рецидивов стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации у больных, оперированных в экстренном порядке, статистически значимо не отличалась от таковой в группе плановых больных. Однофакторный регрессионный и корреляционный анализ полученных данных также не позволил выявить связь между исходной формой заболевания и вероятностью возобновления стенокардии ЧКВ.

Таким образом, было установлено, что у больных, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации в экстренном и в плановом порядке, несмотря на отличия по степени поражения коронарного русла, наличию сопутствующей патологии и факторов риска сердечно-сосудистых осложнений, имеется одинаковая вероятность возобновления стенокардии после вмешательства.

Состояние гемостаза у больных ишемической болезнью сердца, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации

С помощью стандартных коагулологических исследований была дана традиционная оценка состояния плазменно-коагуляционного звена гемостаза. Результаты проведённых тестов показали, что до эндоваскулярной реваскуляризации и через сутки после вмешательства у больных ИБС значения большинства показателей не выходят за пределы референсных интервалов. Исключение составило лишь содержание фибриногена в крови обследуемых больных, как до ($3,47 \pm 0,26$ против $4,82 \pm 1,29$; $p < 0,001$), так и после ЧКВ ($3,47 \pm 0,26$ против $4,47 \pm 0,26$; $p < 0,001$) и активность фактора Виллебранда ($100 \pm 5,5$ против 155 ± 15 ; $p < 0,001$ и $100 \pm 5,5$ против 157 ± 14 ; $p < 0,001$) в эти же сроки, что на наш взгляд связано с наличием воспаления и дисфункции

эндотелия при ИБС, имеющих важное значение в патогенезе атеротромбоза (Schuliga, M., 2015).

Было обнаружено также, что активность антитромбина у больных ИБС до ЧКВ значительно выше, чем в группе сравнения ($90,4 \pm 3,5$ против $100,2 \pm 4,3$; $p = 0,013$). Есть основания полагать, что такое повышение активности антитромбина связано с назначением нагрузочных доз антиагрегантных препаратов в эти сроки. Полученные данные и предположения относительно их интерпретации согласуются с результатами исследований других учёных, объясняющих этот факт назначением антиагрегантных препаратов, обладающих антикоагулянтными свойствами (Баркаган З.С. и др., 2005; Bratseth, V. et al., 1999). Увеличение активности антитромбина на фоне приёма клопидогреля, описанное впервые Баркаганом З.С. с соавт. в 2005 году, до сих пор не имеет точного объяснения и по-прежнему представляет большой интерес для исследователей различных научных направлений (Баркаган З.С. и др., 2005).

Применение в периоперационном периоде антикоагулянтных препаратов в терапии больных ИБС вполне закономерно сопровождалось уменьшением уровня протромбина, увеличением АЧТВ и МНО, что вполне может быть связано также с назначением в эти сроки нагрузочных доз антиагрегантных препаратов, обладающих подобными эффектами (Баркаган З.С. и др., 2005; Awtry, E.H. et al., 2000). Таким образом, о наличии гиперкоагуляции, описываемой рядом авторов (Bratseth, V. et al., 2012; Tantry, U.S. et al., 2010), у обследованных нами больных ИБС свидетельствовало лишь повышение активности фактора Виллебранда, поскольку гиперфибриногенемия, которая не является строго специфичной для верификации нарушений гемостаза, в этом качестве нами не рассматривалась.

Состояние тромбоцитарно-сосудистого звена гемостаза также было оценено с помощью стандартных лабораторных исследований. Так, в течение первого года наблюдения всем больным, подвергшимся ЧКВ и принимающим двойную антиагрегантную терапию, проводилось исследование индуцированной агрегации тромбоцитов с наиболее известными индукторами агрегации, используемыми в рутинной клинической практике для оценки действия антиагрегантных препаратов. Было установлено, что в течение первого года наблюдения после ЧКВ было достигнуто статистически значимое снижение агрегационной способности тромбоцитов, которое существенно не менялось на всём протяжении приёма двойной антиагрегантной терапии. Также была проведена сравнительная оценка состояния гемостаза у больных без возобновления стенокардии и с возобновлением стенокардии в течение четырёхлетнего периода наблюдения после эндоваскулярной реваскуляризации, свидетельствующая об отсутствии статистически значимых отличий между исследуемыми группами по всем показателям. Корреляционной связи между изучаемыми показателями гемостаза и категориальной переменной «стенокардия» также не было выявлено. Проведённый регрессионный анализ не дал статистически значимых результатов.

Таким образом, с помощью стандартных приёмов математического анализа не удалось обнаружить связь между степенью инактивации тромбоцитов под воздействием антиагрегантных препаратов, активностью факторов свёртывания крови и возобновлением стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.

Оценка интенсивности не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза Интенсивность образования тромбина у здоровых людей

До недавнего времени в широкой клинической практике для оценки состояния гемостаза преимущественно использовались лабораторные исследования, характеризующие количество и активность отдельных его компонентов. Появление интегрального метода – ТГТ с различными его модификациями, предоставило исследователям уникальную возможность оценки «суммарного вектора» действия прокоагулянтных и антикоагулянтных факторов, дающего представление о состоянии гемостаза в целом (Hemker, H.C. et al., 2006). В нашем исследовании было установлено, что у практически здоровых людей без клинических проявлений ИБС и других заболеваний, сопровождающихся нарушениями в системе гемостаза, результаты стандартных коагулологических тестов и ТГТ не выходят за рамки референсных интервалов, что по всем существующим критериям свидетельствовало о наличии у них вполне ожидаемой нормокоагуляции.

О состоянии плазменно-коагуляционного звена гемостаза судили также с помощью ТГТ, выполненного в бедной тромбоцитами плазме в двух параллельных постановках – без добавления rh-TM и с его добавлением, что позволило также получить представление об активности системы протеина С. Полученные результаты приведены в Таблице 1.

Таблица 1 – Показатели теста генерации тромбина у здоровых людей

Показатели	LT, мин	ETP, нМ·мин	Peak, нМ	ttPeak, мин	VI, М/мин
Без rh-TM	2,57±0,45 CV=17,5%	1737±303 CV=17,4%	281±73 CV=26%	5,99±1,20 CV=20%	94,0±49,2 CV=52,3%
С rh-TM	2,50±0,37 CV= 14,8%	934±421 CV=45,1%	183±81 CV=44,3%	5,14±0,66 CV=12,8%	75,9±46,8 CV=61,7%
Снижение после добавления rh-TM, %	1,45±11,65 -	47,1±18,2 CV= 38,6%	36,5±16,0 CV= 43,8%	12,6±10,4 CV=82,5%	9,5±18,3 CV= 93,8%

Примечание: LT (Lag Time) – время инициации свертывания; Peak (Peak thrombin) – пиковая концентрация тромбина; ttPeak (time to peak) – время достижения пиковых концентраций тромбина; ETP (Endogenous Thrombin Potential) – эндогенный тромбиновый потенциал; VI (Velocity index) – скорость образования тромбина; CV – коэффициент вариации (значимые результаты выделены полужирным начертанием).

При анализе тромбограмм было отмечено, что при добавлении в реакционную смесь gh-ТМ в большинстве проб происходит уменьшение количественных показателей и снижение скорости образования тромбина, что согласуется с результатами других исследователей, рассматривающих данные значения в пределах, соответствующих нормокоагуляции (Machlus, K.R. et al., 2009). Однако с учётом теоретических предпосылок и в соответствии с нашими предположениями о наличии диагностической ценности временных и скоростных показателей ТГТ, в данном исследовании были также рассчитаны проценты снижения LT, ttPeak и VI, а не только процент снижения ETP и Peak, традиционно используемые для оценки чувствительности плазмы крови к gh-ТМ (Березовская Г.А. и др., 2017).

Анализ количественных показателей ТГТ – ETP и Peak, характеризующих интенсивность не связанного с тромбоцитами тромбогенеза, позволил выявить их уменьшение при добавлении gh-ТМ в 1,5 - 2 раза (таблица 1), что согласуется с результатами исследований других авторов, рассматривающих в качестве допустимого уменьшения ETP не менее чем на 23% и Peak не менее чем на 15% (Dargaud, Y. et al., 2006).

Наличие коэффициентов вариации (CV) от 17,4% до 26% по всем показателям за исключением VI (52,3%) свидетельствовало об однородности анализируемой выборки в постановке ТГТ без добавления gh-ТМ. Напротив, в постановке с добавлением gh-ТМ, CV < 33% был выявлен лишь для временных показателей (LT и ttPeak), что свидетельствовало о типичности средней величины для данной статистической совокупности. Коэффициенты вариации для средних значений, близких к нулевым, не рассчитывались, а оценивались только стандартные отклонения (таблица 1).

Характер изменений временных параметров ТГТ под воздействием gh-ТМ оказался не вполне объяснимым. Были обнаружены три варианта изменений LT при добавлении gh-ТМ. В 11 случаях (36,7%) было отмечено уменьшение LT, а процент снижения имел положительные значения. У 12 обследованных (40,0%) изменений данного показателя при добавлении gh-ТМ не произошло. Увеличение LT было выявлено в 7 случаях (23,3%), что сочеталось с отрицательным значением процента снижения этого показателя. При сравнении других показателей ТГТ групп, сформированных по принципу реакции LT на gh-ТМ, было установлено, что во второй и третьей – пиковые концентрации и скорость образования тромбина в обеих постановках были существенно выше значений в первой группе (таблица 2). При этом время достижения пиковых концентраций тромбина и процент снижения данного показателя при добавлении gh-ТМ, были значительно выше в первой группе. Следует отметить, что наиболее значимыми эти отклонения оказались в группе, где % снижения LT при добавлении gh-ТМ был равен 0, т.е. изменений LT при добавлении gh-ТМ не происходило.

Было установлено также, что значения ttPeak, Peak и V в постановке с gh-ТМ не соответствуют закону нормального распределения и по этой причине при

анализе полученных данных применялась поправка Бонферони для исключения возможных ошибок, возникающих при сравнении выделенных из совокупности групп. При проведении корреляционного анализа удалось установить, что значения процента снижения LT связаны напрямую с LT в постановке без rh-TM ($k = 0,586$; $p = 0,001$) и практически не коррелируют со значениями данного показателя в постановке с rh-TM. На основании этого мы пришли к выводу о том, что чувствительность к rh-TM в большей мере обусловлена исходными значениями LT без rh-TM.

Таблица 2 – Показатели теста генерации тромбина у здоровых людей в зависимости от реакции LT на добавление rh-TM

Показатель	Процент снижения LT > 0, $n = 11$	Процент снижения LT = 0, $n = 12$	Процент снижения LT < 0, $n = 7$	Однофакторный анализ значение p
Peak+rh-TM, нМ	135 ± 54	225 ± 75	187 ± 95	p между 1 и 2 = 0,024
VI, нМ/мин	58 ± 27	123 ± 42	101 ± 56	p между 1 и 2 = 0,003
Снижение ttPeak, %	22 ± 8	7,6 ± 8,3	6,8 ± 8,1	p между 1 и 2 = 0,001 p между 1 и 3 = 0,003
LT, мин	2,77 ± 0,29	2,57 ± 0,47	2,24 ± 0,45	p между 1 и 3 = 0,041
Показатель	Процент снижения LT > 0, $n = 11$	Процент снижения LT = 0, $n = 12$	Процент снижения LT < 0, $n = 7$	Краскала-Уоллиса критерий. Парные сравнения с поправкой по Бонферони по критерию Манна-Уитни
ttPeak, мин	6,9 ± 0,8	5,4 ± 0,9	5,6 ± 1,4	p между 1 и 2 = 0,003
Peak, нМ	226 ± 59	324 ± 74	294 ± 74	p между 1 и 2 = 0,003
VI+rh-TM, М/мин	46 ± 18	99 ± 40	84 ± 65	p между 1 и 2 < 0,003

Примечание: LT (Lag Time) – время инициации свертывания (мин); Peak (Peak thrombin) – пиковая концентрация тромбина; Peak + rh-TM – пиковая концентрация тромбина при добавлении rh-TM; ttPeak (time to peak) – время достижения пиковых концентраций тромбина; Снижение ttPeak – процент снижения времени достижения пиковых концентраций тромбина после добавления rh-TM; VI (Velocity index) – скорость образования тромбина; VI + rh-TM – скорость образования тромбина при добавлении rh-TM.

Таким образом, проведённый в рамках настоящего исследования детальный анализ результатов ТГТ в бедной тромбоцитами плазме у практически здоровых людей позволил впервые выявить вариабельность изменений всех без исключения показателей тромбограмм, отражающих чувствительность к rh-TM, что позволило оценить не только интенсивность тромбогенеза, но и вклад активности системы протеина С в его ограничение. Наибольший интерес вызвала связь между вариантами изменений продолжительности LT при добавлении rh-TM и параметрами ТГТ, характеризующими интенсивность образования не связанного с тромбоцитами тромбогенеза.

Выявленные в данном исследовании варианты изменений временных показателей на добавление в реакционную смесь rh-TM пока являются в большей степени лабораторным феноменом. Однако продолжение изучения

изменчивости параметров ТГТ, на наш взгляд, может дополнить представление о состоянии гемостаза как у пациентов с высоким риском тромботических или геморрагических осложнений и получающих антитромботическую терапию, так и у пациентов без факторов риска развития подобных осложнений перед планируемыми оперативными вмешательствами.

Особенности тромбогенеза у больных ишемической болезнью сердца

Было установлено, что интенсивность не связанного с тромбоцитами тромбогенеза у больных ИБС существенно не отличается от обследованных людей без клинических проявлений ИБС. При этом, вариабельность показателей тромбограмм после добавления gh-ТМ, выявленная ранее у практически здоровых людей, также была обнаружена и у больных ИБС, но не имела у них связи с изменениями других показателей ТГТ и менялась в течение первого года наблюдения после эндоваскулярного вмешательства. На основе анализа возможных причин неоднородности результатов ТГТ у больных ИБС было выдвинуто предположение о влиянии на вариабельность показателей данного теста нарушений углеводного обмена, обусловленных наличием СД 2 типа – независимого фактора риска развития интракоронарных осложнений после эндоваскулярных вмешательств у больных ИБС, механизмы развития которых до конца не изучены (Бокерия Л.А. и др., 2012; Григорян М.В. и др., 2014; Malviya, A. et al., 2015).

Интенсивность тромбогенеза у больных ИБС и СД2 типа после эндоваскулярного вмешательства была оценена с помощью ТГТ в бедной тромбоцитами плазме. Для анализа были выбраны результаты данного теста больных с уровнем гликемией < 7 ммоль/л натощак для того, чтобы исключить влияние высокой гипергликемии на результаты исследования. При сравнении результатов ТГТ у больных ИБС без СД 2 типа и больных ИБС с СД 2 типа статистически значимых отличий обнаружено не было. Однако удалось установить, что также как и у практически здоровых людей, у больных ИБС без СД 2 типа и при его наличии было выявлено три варианта изменений LT (снижение LT, %) при добавлении gh-ТМ: увеличение, уменьшение и отсутствие реакции, а частота встречаемости различных вариантов реакции на gh-ТМ между группами не отличалась. Наибольший интерес представляют отличия между анализируемыми группами больных по степени снижения ETP и Peak под воздействием gh-ТМ, отражающие различную чувствительность к тромбомодулину и, следовательно, степень активности системы протеина С. Установлено, что при увеличении LT в ответ на добавление gh-ТМ у больных СД 2 типа статистически значимо сокращается ttPeak, происходит уменьшение процента снижения Peak и ETP при добавления gh-ТМ на фоне более высоких значений ETP в постановке с gh-ТМ (таблица 3).

Выявленные изменения свидетельствуют о том, что у больных СД 2 типа, в

случае положительной реакции ЛТ на введение в реакционную смесь rh-TM, имеется более высокая активность плазменно-коагуляционного звена гемостаза и низкая активность системы протеина С, повышающих протромбогенный потенциал крови. Было установлено, что преимущественно у больных СД 2 типа при увеличении ЛТ при добавлении rh-TM выявляется снижение ЕТР менее чем на 23% и Peak менее чем на 15% при постановке ТГТ с rh-TM. Несмотря на то, что о роли активности системы протеина С в развитии макрососудистых осложнений при СД известно хорошо (Kim, H.K. et al., 2014), роль этой системы в развитии осложнений у таких больных после эндоваскулярных вмешательств практически не изучена.

Таблица 3 – Показатели теста генерации тромбина у больных ишемической болезнью сердца без сахарного диабета 2 типа и при его наличии при положительной реакции времени инициации образования тромбина после добавления тромбомодулина со статистически значимыми отличиями

Показатели	Больные ИБС, n = 103	Больные ИБС и СД2, n = 27	Значения p
ttPeak, мин	7,00 ± 0,79	6,11 ± 1,14	0,023
ЕТР+ rh-TM, нМ·мин	889,00 ± 317,5	1064,00 ± 181,0	0,049
Снижение ЕТР, %	47,44 ± 8,15	34,51 ± 20,35	0,007
Снижение Peak, %	33,49 ± 4,81	23,84 ± 20,27	0,012

Примечание: ttPeak (time to peak) – время достижения пиковых концентраций тромбина; ЕТР + rh-TM – эндогенный тромбиновый потенциал при добавлении rh-TM; Снижение ЕТР – процент снижения эндогенного тромбинового потенциала после добавления rh-TM; Снижение Peak – процент снижения пиковых концентраций тромбина после добавления rh-TM.

Таким образом, установлено, что интенсивность не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза у больных ИБС, оцененного с помощью ТГТ в бедной тромбоцитами плазме, существенно не отличается от такового у практически здоровых людей без клинических проявлений ИБС. Полученные данные позволяют сделать вывод о связи вариабельности показателей ТГТ у больных ИБС с наличием у больных СД 2 типа. Выявленные особенности тромбиногенеза у больных, страдающих ИБС и СД 2 типа, свидетельствуют о влиянии нарушений углеводного обмена на снижение активности системы протеина С у данных больных, что, возможно, и объясняет более высокий риск развития осложнения после ЧКВ при сочетании этих заболеваний.

Интенсивность образования тромбина и активность системы протеина С у больных ишемической болезнью сердца, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации

Анализ результатов ТГТ, выполненного в бедной тромбоцитами плазме без добавления rh-TM и в его присутствии в периоперационном периоде, позволил установить, что период инициации свёртывания крови (ЛТ) у больных ИБС, как

до ЧКВ, так и после вмешательства, значимо удлинялся по сравнению со значениями в группе сравнения лишь в постановке без rh-TM. Тогда как по результатам постановки ТГТ с rh-TM данный показатель превосходил значения в группе сравнения, но только лишь после ЧКВ. Было установлено также, что в послеоперационном периоде у больных ИБС происходит статистически значимое уменьшение процента изменения продолжительности LT после добавления ТМ ($12,9 \pm 2,5$ против $5,1 \pm 2,7$; $p < 0,001$). При этом клиническую значимость выявленных изменений сложно определить, поскольку так же, как и у здоровых людей, у больных ИБС были выявлены различные варианты изменения LT при добавлении rh-TM. Однако у обследованных больных с помощью стандартных методов математического анализа не удалось установить наличие связи между вариабельностью данного показателя и другими показателями ТГТ, используемыми традиционно для оценки интенсивности тромбиногенеза.

Установлено также, что значительное увеличение основного количественного показателя данного теста ЕТР происходит после ЧКВ, как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с больными ИБС до вмешательства, но только в постановке с rh-TM. Кроме того в послеоперационном периоде было выявлено уменьшение процента снижения ЕТР при добавлении rh-TM ($44,3 \pm 4,95$ против $36,4 \pm 4,8$; $p = 0,002$), что свидетельствовало об угнетении активности системы протеина С, и вполне могло бы объяснить повышенный риск тромботических осложнений непосредственно после ЧКВ. Было установлено, что ни до вмешательства, ни после него, значения Peak в обеих постановках ТГТ практически не отличались от группы сравнения. Однако у больных ИБС после реваскуляризации среднее значение Peak было существенно выше по сравнению с исходными значениями, но лишь в постановке с rh-TM. Наряду с этим, после вмешательства было обнаружено статистически значимое уменьшение процента снижения Peak, как по сравнению с контрольными значениями и больными ИБС до ЧКВ ($33,4 \pm 5,2$ против $27,6 \pm 4,8$; $p < 0,03$), что свидетельствовало об угнетении в эти сроки активности системы протеина С, обладающей антикоагулянтной активностью. В ходе настоящего исследования у подавляющего большинства больных не было выявлено уменьшения ЕТР менее чем на 23% и Peak менее чем на 15% в постановке ТГТ с rh-TM, которое принято связывать с недостаточной чувствительностью системы гемостаза к rh-TM вследствие APC-резистентности (Dielis, A.W. et al., 2008). Однако снижение чувствительности к rh-TM рассматривалось нами в качестве прогностически неблагоприятного фактора, и было использовано при математическом моделировании влияния нарушений гемостаза на течение ИБС после реваскуляризации.

Установлено также, что ttPeak у больных ИБС до вмешательства существенно превышал значения в группе сравнения и у этих же больных после ЧКВ. Обращает внимание статистически значимое уменьшение процента снижения ttPeak после эндоваскулярного вмешательства ($17,7 \pm 2,7$ против $12 \pm$

2,9; $p < 0,001$). Но, несмотря на то, что изменение временных параметров, по мнению большинства авторов, не обладают большой диагностической значимостью, есть основания предполагать, что уменьшение чувствительности данного показателя к gh-ТМ также может рассматриваться в качестве неблагоприятного прогностического фактора. Скорость образования тромбина, напротив, перед вмешательством была значительно ниже относительно группы сравнения и значений у этих же больных после реваскуляризации, но лишь в постановке с gh-ТМ ($59,4 \pm 7,4$ против $73 \pm 8,6$; $p = 0,005$). Результаты корреляционного анализа между параметрами ТГТ и рутинных коагулологических тестов свидетельствовали лишь о наличии слабой отрицательной связи между уровнем антитромбина и ЕТР до эндоваскулярного вмешательства ($r = -0,3$; $p = 0,048$).

При сравнении показателей ТГТ, выполненного перед ЧКВ, между группами больных без возобновления и с возобновлением стенокардии в течение после первого года после реваскуляризации было выявлено лишь статистически значимое отличие ЕТР, как в постановке без gh-ТМ ($1636,8 \pm 434,9$ против $1876,9 \pm 303,6$; $p = 0,03$), так и в его присутствии ($915,1 \pm 397,6$ против $1132,8 \pm 350,3$; $p = 0,03$), что свидетельствует о более высокой интенсивности тромбогенеза в эти сроки у больных с рецидивами стенокардии после ЧКВ. Результаты ТГТ, проведённого через сутки после вмешательства, свидетельствовали о более высокой интенсивности тромбогенеза и низкой чувствительности к gh-ТМ, отражающей активность системы протеина С, в группе больных, у которых отмечался рецидив стенокардии в течение первого года после ЧКВ. Так, значения ЕТР у больных с возобновлением стенокардии в эти сроки были существенно больше, чем у больных без рецидивов заболевания как в постановке без gh-ТМ ($1748,1 \pm 431,6$ против $1991,5 \pm 407,5$; $p = 0,03$), так и в его присутствии ($1100,9 \pm 457,7$ против $1443,4 \pm 498,9$; $p = 0,01$). Пиковые концентрации тромбина (Peak: $192,9 \pm 87,9$ против $249,4 \pm 87,9$; $p = 0,03$) и скорость его образования (VI: $69,9 \pm 45,2$ против $95,0 \pm 44,1$; $p = 0,05$) у больных с рецидивами заболевания также были выше, чем у больных без рецидивов заболевания, но только в постановке с gh-ТМ. И лишь процент снижения Peak при добавлении gh-ТМ в эти сроки был значительно выше у больных без рецидивов стенокардии после реваскуляризации ($29,8 \pm 20,3$ против $17,4 \pm 11,2$; $p = 0,02$).

В соответствии с современными представлениями о диагностической ценности показателей ТГТ, нами был проведён анализ изменений показателей, характеризующих состояние активности системы протеина С (Lee, K. et al., 2014), в течение первого года наблюдения после ЧКВ (рисунок 3). С этой целью была проанализирована динамика изменения процента снижения ЕТР и Peak после добавления gh-ТМ. Среди показателей, характеризующих интенсивность не связанного с тромбоцитами тромбогенеза и активности системы протеина С, в течение первого года после эндоваскулярного вмешательства наибольший интерес, на наш взгляд, представляет изменение именно процента снижения ЕТР

и Peak не только сразу после ЧКВ, но и через 6 и 12 месяцев после него. Учитывая multifunctionality системы протеина С мы предположили, что подобное уменьшение чувствительности к rh-TM, отражающее снижение активности данной системы, может объяснить высокий риск развития эндоваскулярных осложнений после ЧКВ.

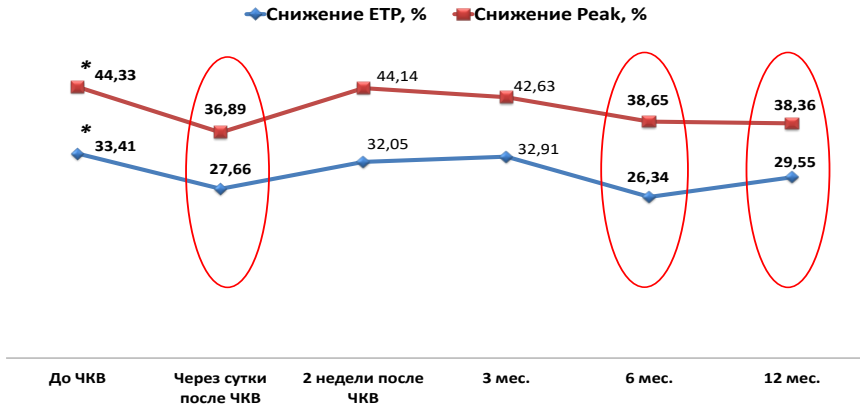


Рисунок 3 – Изменение активности системы протеина С у больных ишемической болезнью сердца в течение первого года наблюдения после эндоваскулярной реваскуляризации

Примечание: Снижение ETP – % снижения эндогенного тромбинового потенциала после добавления rh-TM; Снижение Peak – % снижения пиковых концентраций тромбина после добавления rh-TM; * – $p < 0,05$ по сравнению с результатами через сутки, 6 и 12 месяцев после ЧКВ.

В течение первого года наблюдения был также проведён сравнительный анализ интенсивности не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза у больных, оперированных в экстренном и в плановом порядке, поскольку больных, подвергшихся эндоваскулярным вмешательствам в экстренном порядке, принято относить к группе высокого риска развития осложнений после ЧКВ. Было установлено, что в периоперационном периоде и в отдалённые сроки после ЧКВ в системе гемостаза возникают изменения, обусловленные повышением активности не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза, и снижением активности системы протеина С – одного из основных механизмов ограничения образования тромбина.

Предпринятая впервые попытка оценки динамического состояния системы протеина С в течение первого года наблюдения после ЧКВ позволила выявить снижение активности данной системы в сроки, наиболее уязвимые в плане развития как тромботических, так и не тромботических эндоваскулярных осложнений. Установлено также, что принципиальных отличий в интенсивности

тромбиногенеза между больными, подвергшимися эндоваскулярной реваскуляризации в плановом и в экстренном порядке, нет, а выявленные отличия в интенсивности образования тромбина и чувствительности к rh-TM у больных данных категорий перед вмешательством связаны с интенсивностью антикоагулянтной терапии в эти сроки, начатой на догоспитальном этапе.

Интенсивность связанного с тромбоцитами тромбиногенеза у больных ишемической болезнью сердца после эндоваскулярной реваскуляризации

Согласно современным представлениям активация тромбоцитов сопровождается транслокацией отрицательно заряженных фосфолипидов на наружную поверхность их мембран, которые обеспечивают условия для образования тромбина на их поверхности. На основании этого мы предположили, что интенсивность связанного с тромбоцитами тромбиногенеза, напрямую зависящая от степени их активности, позволит оценить действие антиагрегантных препаратов, вызывающих инактивацию данных клеток.

При анализе показателей стандартных коагулологических тестов, характеризующих состояние плазменно-коагуляционного звена гемостаза (ПТ, АПТВ, ТВ, содержание фибриногена, антитромбина, активность факторов VIII и Виллебранда (FW)), было установлено, что у больных ИБС в основном их значения вполне ожидаемо не выходили за границы референсных значений. Исключение составила активность фактора Виллебранда (FW), которая была значительно выше у больных ИБС и отражала у них степень эндотелиальной дисфункции (Muller, O. et al., 2013).

Результаты оценки индуцированной агрегации тромбоцитов с такими индукторами, как АДФ ($1 \cdot 10^{-6}$ М и $5 \cdot 10^{-6}$ М) и коллаген (2 мкг/мл), позволили выявить снижение агрегационной способности тромбоцитов под воздействием антиагрегантных препаратов, принимаемых больными ИБС. Полученные результаты показали также, что антиагреганты практически не влияют на процент образования как активных форм тромбоцитов ($24 \pm 2,5$ против $29 \pm 1,0$; $p = 0,0004$), так и тромбоцитов, вовлечённых в агрегаты ($6,7 \pm 1,4$ против $8,4 \pm 0,7$; $p = 0,032$). Напротив, у больных сохраняется усиленное образование данных форм тромбоцитов, свойственное ИБС.

При анализе параметров тромбограмм ТГТ, выполненного в богатой тромбоцитами плазме было установлено, что приём антиагрегантов существенно не влияет на время инициации тромбиногенеза (LT), поскольку изменение проявлялось лишь в виде статистически незначимого удлинения этого периода ($p = 0,37$). Установлено также, что под воздействием антиагрегантных препаратов происходит уменьшение количественных показателей ТГТ: эндогенного тромбинового потенциала (ETP; $p = 0,0045$) и максимальной концентрации тромбина (РТ; $p = 4 \cdot 10^{-6}$), а также увеличение времени достижения пиковых концентраций тромбина (ttPeak; $p = 0,0012$),

свидетельствующие о снижении интенсивности связанного с тромбоцитами тромбогенеза (таблица 4). Наиболее значимым оказалось влияние антиагрегантных препаратов на скорость тромбогенеза, о чём свидетельствовало наиболее значимое уменьшение скорости образования тромбина у больных ИБС ($p = 10^{-8}$) (таблица 4), диагностическую ценность которого подтвердили результаты проведённого ROC-анализа (рисунок 4).

Таблица 4 – Показатели тромбограммы в богатой тромбоцитами плазме в группе сравнения и в группе больных ИБС

Показатели	Группа сравнения, $n = 40 (M_1)$	Больные ИБС, $n = 54 (M_2)$	p	$D = M_1 - M_2$	StD
LT, мин	$16 \pm 1,5$	$17 \pm 2,0$	0,37	$-1,3 \pm 2,1$	$-0,20 \pm 0,42$
ttPeak, мин	$27 \pm 1,5$	$31 \pm 2,0$	0,0012	$-4,5 \pm 2,5$	$-0,72 \pm 0,43$
ETP, нМ·мин	1900 ± 85	1740 ± 95	0,0045	167 ± 126	$0,62 \pm 0,43$
Peak, нМ	$134 \pm 9,5$	$106 \pm 6,5$	$4 \cdot 10^{-6}$	28 ± 11	$1,1 \pm 0,45$
VI, нМ/мин	$13 \pm 2,0$	$7,9 \pm 0,8$	10^{-8}	$5,1 \pm 1,7$	$1,4 \pm 0,45$

Примечание: LT – время инициации свертывания; ttPeak – время достижения пиковых концентраций тромбина; ETP – эндогенный тромбоиновый потенциал; Peak – пиковая концентрация тромбина; VI – скорость образования тромбина; $D = M_1 - M_2$ – разность средних, размер эффекта в реальных единицах; StD – размер эффекта по Коуэну (Cohen), т.е. стандартизированная разность средних, безразмерная величина, позволяющая интерпретировать силу эффекта безотносительно к единицам его измерения.

При этом было получено пороговое значение данного показателя – VI = 10 нМ/мин (рисунок 4,б), оптимальные значения чувствительности (85%) и специфичности (75%) (рисунок 4,а), подтверждающие его преимущества в плане информативности и диагностической ценности перед другими показателями ТГТ, изменение которых под воздействием антиагрегантных препаратов также было обнаружено.

Свидетельством информативности предлагаемого диагностического теста являлся тот факт, что рассчитанное значение такого показателя качества теста как AUC высоко значимо отличалось от неинформативного значения $AUC_{uninf} = 0,5$. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что под воздействием двойной антиагрегантной терапии, включающей препарат ацетилсалициловой кислоты и клопидогрель, происходит изменение показателей ТГТ, наиболее значимое из которых касается уменьшения скорости образования тромбина

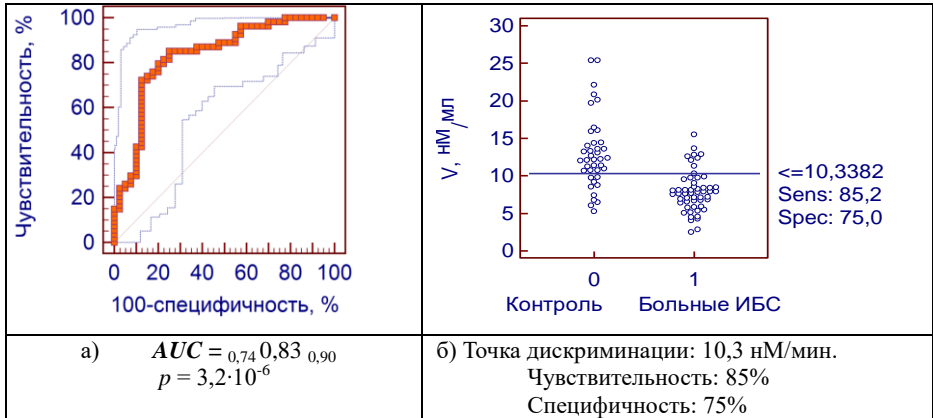


Рисунок 4 - Результаты ROC-анализа для показателя, характеризующего скорость образования тромбина

Примечание: *AUC* – площадь под ROC-кривой; *Sens* и *Spec* – чувствительность и специфичность «диагностического» теста.

В нашем исследовании также была проведена оценка не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза для того, чтобы исключить в образование тромбина вклад тромбоцитов, представляющих собой основную точку приложения для антиагрегантных препаратов. Анализ полученных данных показал, что у больных ИБС на фоне антиагрегантной терапии показатели ТГТ в данной постановке, как и ожидалось, практически не отличаются от значений в группе сравнения, состоящей из людей, не принимающих данные препараты.

Результаты сравнительного анализа широко используемых в клинической практике стандартных тестов, отражающих состояние гемостаза, и показателей ТГТ, позволили убедиться в преимуществах последнего в оценке действия двойной антиагрегантной терапии (Berezovskaya, G. et al., 2018). Было установлено, что большинство показателей ТГТ выполненного в богатой тромбоцитами плазме изменялось под воздействием антиагрегантов (таблица 4), а степень этого влияния превосходила наиболее информативные показатели стандартных лабораторных тестов, в том числе индуцированную агрегацию с коллагеном.

Таким образом, в ходе данного исследования впервые было установлено, что под воздействием антиагрегантных препаратов происходит не только инактивация тромбоцитов, но и угнетение образования связанного с тромбоцитами тромбиногенеза. С учётом многофункциональности тромбина, этот факт позволяет предположить, что роль антиагрегантных препаратов в профилактике осложнений после ЧКВ не ограничивается их антитромботическими эффектами. Результаты исследования свидетельствуют

также о том, что оценка связанного с тромбоцитами тромбиногенеза, полученная с помощью ТГТ в богатой тромбоцитами плазме и отражающая степень активации тромбоцитов, позволит клиницистам контролировать действие антиагрегантных препаратов.

Поскольку с помощью корреляционного и регрессионного анализов не удалось выявить наличие связи между показателями, характеризующими состояние гемостаза, и фактами возобновления клиники ИБС после реваскуляризации, была предпринята попытка моделирования подобных влияний с помощью искусственной нейронной сети заданной архитектуры.

Математическое моделирование влияний гемостаза на течение ишемической болезни сердца после эндоваскулярной реваскуляризации

В качестве клинических вариантов возобновления клиники ИБС в течение первого года после ЧКВ рассматривались случаи ОКС/ИМ, а также возобновления стенокардии напряжения, подтверждённой результатами стрессЭхоКГ. Для создания нейросетевой модели были проанализированы результаты ТГТ, выполненного в бедной тромбоцитами плазме до ЧКВ, 66 больных, в числе которых 4 пациента были прооперированы в экстренном порядке и 62 – в плановом порядке. В течение первого года наблюдения после вмешательства у 15 больных отмечалось возобновление клиники ИБС в виде ОКС/ИМ у 7 и в виде возобновления стабильной стенокардии напряжения II-III ФК у 8 больных.

Сравнительный анализ результатов ТГТ, выполненного в группе сравнения и у больных ИБС до эндоваскулярной реваскуляризации показал, что значения большинства параметров теста не выходят за рамки референсных значений независимо от клинических исходов в течение первого года наблюдения после ЧКВ. Проведение регрессионного и корреляционного анализов не позволило выявить наличие связи между большинством показателей ТГТ в бедной тромбоцитами плазме, характеризующими преимущественно состояние плазменно-коагуляционного звена гемостаза, и категориальной переменной «стенокардия». Для анализа данных с помощью нейронных сетей были выбраны показатели, отражающие интенсивность тромбиногенеза (ETP, Peak), скорость образования тромбина при добавлении в реакционную смесь rh-TM (VI+rh-TM) и процент изменения времени инициации образования тромбина после добавления rh-TM (снижение LT, %).

С помощью искусственной нейронной сети заданной архитектуры для каждого больного был получен персональный коэффициент (k), по которому после выбора порогового значения, можно было судить о вероятности возобновления стенокардии после реваскуляризации. Установлено, что минимальный риск рецидива ИБС имеется при значениях данного коэффициента от 0,10 до 3,35 (у 43 больных). Напротив, максимальный риск – при значениях

данного коэффициента от $-0,02$ до $-4,58$ (у 23 больных). Все пациенты, госпитализированные в экстренном порядке с ОКС/ИМ, имели значения данного коэффициента в этом диапазоне. И лишь 2 пациента, имеющие подтвержденный с помощью стрессЭхоКГ факт возобновления клиники ИБС, имели коэффициенты в диапазоне минимального риска: $0,34$ и $0,46$. По результатам расчетов было установлено, что высокая вероятность возобновления клиники ИБС была предсказуема у 13 из 15 больных с рецидивом заболевания, а у 2-х пациентов клиника ИБС возобновилась, несмотря на низкую, судя по коэффициенту, вероятность (таблица 5).

Таблица 5 - Частота возобновления стенокардии в течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации

Клинические данные	Результат классификации	
	Высокая вероятность (<i>k</i>) от $-0,02$ до $-4,58$	Низкая вероятность (<i>k</i>) от $0,10$ до $3,35$
Возобновление стенокардии есть	13	2
Возобновления стенокардии нет	10	41

Однако при анализе последующих событий было установлено, что у обоих пациентов спустя год после эндоваскулярной реваскуляризации было выполнено АКШ/МКШ по причине развития РВС и прогрессирования атеросклероза в неоперированных ранее коронарных артериях. Из числа 10 больных с коэффициентом высокого риска, при полном отсутствии в течение первого года наблюдения каких-либо сердечно-сосудистых осложнений, спустя год после первичного ЧКВ у 2 произошло возобновление клиники стабильной стенокардии II-III ФК, потребовавшее повторного эндоваскулярного вмешательства, а у 2 больных – нарушение мозгового кровообращения ишемического генеза.

Сложности прогнозирования развития осложнений после ЧКВ, безусловно, связаны с многоплановостью проблемы, которая осложняется также недостаточно высокой информативностью методов математического анализа полученных данных, расширением возможностей которых заняты в настоящее время специалисты по биостатистике и математике. Качество построенных нейросетевых моделей было оценено с помощью ROC-анализа. Сравнивались результаты для нейросетевых моделей с возрастающим количеством нейронов на каждом из этапов моделирования. Таблица 6 иллюстрирует качество классификаторов после выбора наилучшего порогового значения (cut-off value).

Учитывая особенности кодирования исходов (возобновления стенокардии) в наших случаях пороговое значение для всех моделей было близко или равно

нулю. Значения стандартной ошибки площади под кривой оценивались непараметрическим методом на уровне для доверительного интервала 95%. Установлено, что уже при использовании трех нейронов качество модели является хорошим, а четырех – очень хорошим (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты ROC-анализа для оценки качества нейросетевой модели с различным количеством нейронов

Количество нейронов в модели	Площадь	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% ДИ	
				Нижняя граница	Верхняя граница
1	0,695	0,074	0,022	0,551	0,840
2	0,778	0,060	0,001	0,661	0,895
3	0,824	0,064	0,000	0,697	0,950
4	0,886	0,051	0,000	0,785	0,987

Было установлено, что модель с одним нейроном недостаточно чувствительна. Добавление второго нейрона значительно улучшало распознавание наблюдений, соответствующих осложнениям, но при этом резко снижалась специфичность. Начиная с трехнейронной модели, все показатели улучшались (таблица 7).

Таблица 7 - Количество классификаторов

Число нейронов в модели	1	2	3	4
Чувствительность	60,0%	80,0%	80,0%	86,7%
Специфичность	72,5%	62,7%	74,5%	80,4%
Эффективность	66,3%	71,4%	77,3%	83,5%
ПЦПР	39,1%	38,7%	48,0%	56,5%
ПЦОР	86,0%	91,4%	92,6%	95,3%

Примечание: ПЦПР - прогностическая ценность положительного результата; ПЦОР - прогностическая ценность отрицательного результата.

Данный подход в решении проблемы, связанной с прогнозированием течения ИБС после эндоваскулярной реваскуляризации, сводится к поиску аппроксиматора некоторой неизвестной функции, зависящей от входных данных и отражающей в той или иной степени вероятность возобновления стенокардии у объекта исследования (больного) после оперативного вмешательства. Результат моделирования представляет собой выход искусственной нейронной сети заданной архитектуры (Васильев А.Н. и др., 2009):

$$U(\mathbf{a}, \mathbf{c}, \mathbf{t}) = c_0 + \sum_{i=1}^n c_i v(\mathbf{a}_i, \mathbf{t}), \quad (3)$$

где n – число нейронов; скаляры $\mathbf{c} = (c_0, \dots, c_n)$ и векторы $\mathbf{a} = (\mathbf{a}_0, \dots, \mathbf{a}_n)$ – входящие веса (параметры) модели; V – базисная функция выбранного типа; \mathbf{t} – используемые данные (результаты ТГТ).

Значения весов нейросетевой модели подбираются в процессе минимизации так называемого функционала ошибки, дискретная форма которого имеет вид:

$$I(\mathbf{a}, \mathbf{c}) = \sum_{j=1}^M \delta_j (U(\mathbf{a}, \mathbf{c}, \mathbf{t}_j) - G_j)^2, \quad (4)$$

где M – число наблюдений; G_j – значения приближаемой функции в точках \mathbf{t}_j ; δ_j – некоторые положительные штрафные множители.

В результате решения задачи глобальной нелинейной оптимизации мы получим итоговую нейросетевую модель $U(\mathbf{a}, \mathbf{c}; \mathbf{t}) = U_{a,c}(\mathbf{t})$ с фиксированными параметрами (весами). Данная функция принимает значения на вещественной прямой. Классификатор может быть получен путем выбора порогового значения. В качестве базисных функций нами были выбраны сигмоиды (гиперболические тангенсы), считающиеся оптимальными для классификации данных (Bolgov I. et al., 2016; Filkin V. et al., 2016; Kaverzneva T. et al., 2016). Результаты проведённого анализа подтвердили предположение о том, что количественные показатели ТГТ (ЕТР, Peak), отражающие интенсивность его образования, влияют на возобновление клиники стенокардии после ЧКВ независимо от варианта рецидива (Lazovskaya T. V. et al., 2017). Высказанная ранее гипотеза относительно роли системы протеина С в развитии осложнений после ЧКВ и возможности использования показателей, характеризующих степень активации данной системы по изменению скорости образования тромбина (VI+ gh-ТМ) и процента уменьшения периода инициации образования тромбина (снижение LT) после добавления gh-ТМ реакционную смесь, также нашла своё подтверждение.

Таким образом, в результате проведённого исследования впервые была получена математическая модель, позволяющая проанализировать влияния изменений гемостаза на течение ИБС после реваскуляризации. Особенностью данной модели является возможность «доучивания» после получения новой информации, включающей как новые наблюдения, так и дополнительные факторы. Установлено, что применение данного метода для анализа результатов обследования больных, в том числе и показателей ТГТ, выполненного до ЧКВ, позволяет получить информацию о вероятности возобновления ИБС после вмешательства, необходимую персонализации ведения больного.

Генетические предикторы возобновления клиники стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации

В результате проведённого генетического исследования 90 случайно выбранных больных ИБС, подвергшихся эндоваскулярной реваскуляризации, была проанализирована частота носительства полиморфных маркеров генов факторов свёртывания крови и фолатного обмена: *F1 (FGB)(-455G>A)*, *F2 (G20210A)*, *F5 (G1691A)* и *F5 (H1299R)*, *F13 (V34L)*, *SERPINE1 (5G(-675)4G)*, *ITGB3 (T1565C)*, *MTHFR (C677T)* и *MTHFR (A1298C)*.

Статистически значимые результаты выявлены только для полиморфного маркера *G103T (Val34Leu)* гена *F13A1* (фактора свертывания крови XIII, субъединицы A1). Частота генотипа V/V у пациентов с осложнениями была выше, чем у пациентов без осложнений: 0,700 и 0,400, соответственно ($\chi^2 = 7,78$; $p = 0,020$). При этом генотип V/V проявил себя как фактор риска рецидива стенокардии, о чём свидетельствует значение ОШ = 3,50 (95%ДИ 1,37 – 8,93). Напротив, частота аллеля L у больных с возобновлением клиники ИБС была ниже, чем у лиц без рецидивов стенокардии: 0,167 и 0,375, соответственно ($p = 0,014$). У обследованных нами пациентов носительство аллеля L являлось своего рода защитным фактором, поскольку ассоциировалось с меньшей вероятностью возобновления стенокардии после ЧКВ: ОШ = 0,33 (95%ДИ 0,15 – 0,72).

Результаты проведённого исследования свидетельствуют о том, что обследованные группы различаются только по распределению вариантов V34L гена XIII фактора. Известно, что данный вариант возникает в результате однонуклеотидной замены V34L в гене, кодирующем A1-субъединицу фактора свертывания крови XIII, благодаря чему происходит замещение валина на лейцин в позиции 34 белкового продукта гена (Val34Leu). Это приводит к снижению прокоагулянтного эффекта фактора XIII, трансглутаминазные эффекты которого проявляются лишь в его активной форме (фактор XIIIa), образующейся путем частичного протеолиза A1-субъединицы под действием тромбина с высвобождением «пептида активации» (AP – activation peptide) на последней стадии коагуляционного каскада.

Таким образом, результаты проведённого исследования свидетельствуют о том, что среди многочисленных причин рецидивов стенокардии следует рассматривать и генетические особенности индивидуума. Установлено, что генетическая предрасположенность к возобновлению клинических проявлений ИБС после эндоваскулярной реваскуляризации обусловлена как наличием мутаций в генах, кодирующих образование факторов свёртывания и определяющих их функциональную активность, так и с отсутствием полиморфных вариантов генов, обладающих защитным эффектом, что свидетельствует о необходимости продолжения исследований в этой области.

Выводы

1. В течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации среди экстракардиальных осложнений преобладали геморрагические, а в течение последующих трёх лет – тромботические осложнения в бассейне брахиоцефальных и периферических артерий.
2. Наибольшая частота возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации отмечалась в течение первого года наблюдения; соотношение нестабильных и стабильных вариантов стенокардии изменялось постепенно от 1:2 до 1:7 в течение всего периода наблюдения.
3. Причиной рецидивов стенокардии в течение первого года после реваскуляризации по результатам повторной коронароангиографии являлось преимущественно сочетание рестеноза и тромбоза внутри стента с прогрессированием атеросклероза в неоперированных артериях.
4. Вероятность возобновления стенокардии в течение четырёх лет после эндоваскулярной реваскуляризации одинакова у больных, подвергшихся чрескожного коронарному вмешательству в экстренном и в плановом порядке.
5. Интенсивность не связанного с тромбоцитами тромбиногенеза у больных ишемической болезнью сердца до эндоваскулярного вмешательства существенно не отличается от такового у практически здоровых людей; у больных ишемической болезнью сердца в раннем послеоперационном периоде, а также спустя 6 и 12 месяцев после эндоваскулярной реваскуляризации отмечается снижение активности системы протеина С и усиление тромбиногенеза.
6. Под воздействием антиагрегантных препаратов происходит угнетение образования связанного с тромбоцитами тромбиногенеза: интенсивности и скорости образования тромбина.
7. Носительство варианта 34V гена *F13A1*, кодирующего A1-субъединицу фибринстабилизирующего фактора свёртывания крови (XIII), у больных ишемической болезнью сердца ассоциируется с возобновлением стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации.
8. Нейросетевая математическая модель позволяет оценить влияния нарушений гемостаза на течение ишемической болезни сердца после эндоваскулярного реваскуляризации.
9. Вероятность возобновления стенокардии в течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации связана с интенсивностью и скоростью образования тромбина до вмешательства и может быть рассчитана с помощью математической модели искусственной нейронной сети.

Практические рекомендации

1. Комплексную оценку состояния гемостаза у больных ИБС следует проводить с помощью теста генерации тромбина как до эндоваскулярного вмешательства, так и после него: через сутки, 6 и 12 месяцев.
2. В стандарты оценки действия антиагрегантной терапии включить проведение теста генерации тромбина в богатой тромбоцитами плазме, в интерпретации результатов которого акцентировать внимание на изменении интенсивности и скорости образования тромбина как наиболее чувствительных к действию данных препаратов.
3. С целью персонализации рекомендаций по ведению пациентов после эндоваскулярной реваскуляризации носительство полиморфного маркера гена фибринстабилизирующего фактора свёртывания крови (FXIII) – генотипа VV необходимо рассматривать в качестве критерия высокого риска возобновления стенокардии после вмешательства.
4. Расчёт вероятности возобновления стенокардии после эндоваскулярной реваскуляризации следует проводить с помощью математической нейросетевой модели, основанной на анализе показателей теста генерации тромбина, выполненного в бедной тромбоцитами плазме до вмешательства. В группу с минимальным риском рецидива стенокардии определять больных со значениями полученного с помощью данной модели коэффициента от 0,10 до 3,35, а в группу с максимальным риском – со значениями данного коэффициента от - 0,02 до - 4,58.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Березовская, Г.А. Апоптоз тромбоцитов. Причины недостаточной эффективности антитромбоцитарных препаратов/ Г.А. Березовская // Бюллетень СО РАМН.– 2012.– Т 32, № 4.– С.17–27.
2. Березовская, Г.А. Рестеноз и тромбоз внутри стента: патогенетические механизмы развития и прогностические маркеры / Г.А. Березовская, В.И. Ганюков, М.А. Карпенко // Российский кардиологический журнал. – 2012.– № 6 (98).– С. 91–95.
3. Руюткина, Л.А. Гипогликемии в патогенезе сердечно-сосудистого риска / Л.А. Руюткина, Д.С. Руюткин, Г.А. Березовская // Фарматека. – 2013.– № 16.– С. 15–21.
4. Руюткина, Л.А. К вопросу о приоритетах сахароснижающей терапии сахарного диабета 2 типа: сердечно-сосудистые аспекты гипогликемий /

- Л.А. Руюткина, Д.С. Руюткин, Г.А. Березовская // *Сердце: журнал для практикующих врачей.*– 2013.– №40.– С. 207–213.
5. Березовская, Г.А. Фибронектин – фактор риска или защиты после интракоронарного стентирования? / Г.А. Березовская, М.А. Карпенко, Н.Н. Петрищев // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.*– 2013.– № 4(48).– С. 12–19.
6. Шмелева, В.М. Новые лабораторные возможности мониторинга противотромботической терапии / В.М. Шмелева, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, Ю.А. Наместников, В.Е. Солдатенков, Н.Б. Салтыкова, Г.А. Березовская, Л.П. Папаян // *Трансфузиология.* – 2014. – Т. 15. – № 4. – С.29–34.
7. Напалкова, О.С. Тест генерации тромбина в динамике у пациентов, перенесших чрескожное коронарное вмешательство / О.С. Напалкова, В.Л. Эмануэль, М.А. Карпенко, Г.А. Березовская и др. // *Клиническая лабораторная диагностика.*– 2015.– №4.– С.40–45.
8. Березовская, Г.А. Возможности лабораторной оценки состояний соединительной ткани / Г.А. Березовская, В.Л. Эмануэль // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.*– 2015.– № 2.– С. 37–40.
9. Березовская, Г.А. Тест генерации тромбина в оценке действия антиагрегантов у больных ишемической болезнью сердца после чрескожного коронарного вмешательства / Г.А. Березовская, О.А. Смирнова, Н.Н. Петрищев и др. // *Атеротромбоз.*– 2015.– № 1.– С.40–51.
10. Березовская, Г.А. Интенсивность образования тромбина у больных ишемической болезнью сердца после коронарного стентирования / Г.А. Березовская, Н.Н. Петрищев, Л.П. Папаян и др. // *Атеротромбоз.*– 2015.– № 2.– С.115–123. doi: <http://dx.doi.org/10.21518/2307-1109-2015-2-115-123>
11. Напалкова, О.С. Тромбин как ключевой фермент гемостаза и его роль в атеросклерозе и воспалении / О.С. Напалкова, В.Л. Эмануэль, С.В. Лапин, М.А. Карпенко, Т.В. Вавилова, Г.А. Березовская и др. // *Медицинский алфавит.*– 2015.– Т.3, № 11.– С.42–45.
12. Березовская, Г.А. Лабораторные методы оценки состояний соединительной ткани / Г.А. Березовская // *Медицинский алфавит.*– 2015.– 18 (259).– С. 38–43.
13. Березовская, Г.А. Роль тромбина в развитии осложнений после интракоронарного стентирования / Г.А. Березовская, М.А. Карпенко, Н.Н. Петрищев и др. // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.*– 2015.– № 3(55). – С. 4–13.
14. Напалкова, О.С. Тест генерации тромбина в оценке риска повторной операции реваскуляризации миокарда / О.С. Напалкова, В.Л. Эмануэль, М.А. Карпенко, Т.В. Вавилова, Г.А. Березовская и др. // *Тромбоз, гемостаз и реология.* – 2016.– № 1. – С.65–71.
15. Березовская, Г.А. Коронарное кровообращение и возобновление клиники ишемической болезни сердца после интракоронарного

стентирования / Г.А. Березовская // Регионарное кровообращение и микроциркуляция.– 2016.– № 3(59).– С. 57–63.

16. Березовская, Г.А. Клинический случай развития рестеноза внутри стента после коронарной ангиопластики со стентированием у больного ишемической болезнью сердца / Г.А. Березовская // Кардиология: новости, мнения, обучение.– 2017.– № 1 (12).– С.48–51.

17. Березовская, Г.А. Интенсивность образования тромбина и сократительная способность миокарда у больных ишемической болезнью сердца после коронарного стентирования / Г.А. Березовская, Е.С. Клокова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция.– 2017.– № 2(62).– С. 63–69.

18. Lazovskaya, T.V. Possibilities of Neural Networks for Personalization Approaches for Prevention of Complications After Endovascular Interventions / T.V. Lazovskaya, D.A. Tarkhov, G.A. Berezovskaya et al. // In: Cong F, Leung A, Wei Q, eds. Advances in Neural Networks - ISSN 2017: 14th International Symposium, ISSN 2017, Sapporo, Hokodate, and Muroran, Hokkaido, Japan, June 21-26, 2017, Proceedings, Part I. Cham: Springer International Publishing.–2017.–P. 379-385. doi:10.1007/978-3-319-59072-1_45.

19. Березовская, Г.А. Вариабельность показателей тромбограмм теста генерации тромбина / Г.А. Березовская, Т.В. Лазовская, Н.Н. Петрищев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.– 2017.–Т.61, № 3.– С.63 – 68.

20. Березовская, Г.А. Генетические предикторы возобновления клиники ишемической болезни сердца после чрескожного коронарного вмешательства / Г.А. Березовская, Е.С. Клокова, Н.Н. Петрищев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия.– 2017.– Т.61, № 4.– С. 83 – 88.

21. Berezovskaya, G. Thrombin generation test for evaluation of antiplatelet treatment in patients with coronary artery disease after percutaneous coronary intervention / G. Berezovskaya, O. Smirnova, N. Khromov-Borisov et al. // Platelets.– 2018.–V.29, № 2.– P.185-191. doi:10.1080/09537104.2017.1294680.

22. Березовская, Г.А. Способ прогнозирования возобновления клиники ишемической болезни сердца с помощью нейронных сетей у пациентов после эндоваскулярной реваскуляризации / Березовская Г.А., Лазовская Т.В., Клокова Е.С., Карпенко М.А., Петрищев Н.Н. // Изобретения, полезные модели.– 2018.– № 35.

Список сокращений

АКШ	Аорто-коронарное шунтирование
ИБС	Ишемическая болезнь сердца
ИМ	Инфаркт миокарда
КАГ	Коронароангиография
МКШ	Маммарно-коронарное шунтирование
ОКС	Острый коронарный синдром
РВС	Рестеноз внутри стента
СД	Сахарный диабет
ТВС	Тромбоз внутри стента
ТГТ	Тест генерации тромбина
ЧКВ	Чрескожное коронарное вмешательство
APC	Activated protein C
ETP	Endogenous Thrombin Potential
LT	Lag Time
Peak	Peak thrombin
rh-TM	recombinant human Thrombomodulin
rh-TF	recombinant human Tissue Factor
TAFI	Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor
TF	Tissue Factor
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
ttPeak	time to Peak
VI	Velocity index