

© Коллектив авторов, 2017
УДК 612.115.12

Березовская Г.А.^{1,2}, Лазовская Т.В.³, Петрищев Н.Н.^{1,2}

Вариабельность показателей тромбограмм теста генерации тромбина

¹ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Льва Толстого, д. 6-8

² ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова», 197341, г. Санкт-Петербург, Россия, ул. Аккуратова, д. 2

³ ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», 195251, г. Санкт-Петербург, Россия, Политехническая, д. 29

Цель исследования — изучение вариабельности показателей теста генерации тромбина (ТГТ) в бедной тромбоцитами плазме у практически здоровых людей. **Методика.** В исследовании использовалась бедная тромбоцитами плазма 30 практически здоровых людей (9 мужчин и 21 женщина) без клинических проявлений атеросклероза в возрасте от 30 до 56 лет. У всех участников проводилось стандартное исследование гемостаза: АЧТВ (с), протромбинового теста по Квику (%), содержания фибриногена (г/л) и D-димеров (мкг/мл), активности антитромбина (%) и МНО. **Результаты.** Установлено, что вариабельность показателей тромбограмм при добавлении в постановку рекомбинантного человеческого тромбомодулина (rh-TM) позволяет выявить скрытую склонность к гиперкоагуляции. Наиболее информативными оказались изменения временного показателя LT (Lag Time). Отсутствие изменений LT или увеличение данного показателя при добавлении rh-TM сопровождалось значительным увеличением количества и скорости образования тромбина, отражающего тенденцию к гиперкоагуляции. **Заключение.** Изменение времени инициации свёртывания крови (LT) после добавления rh-TM позволяет выявить скрытый дисбаланс в системе гемостаза.

Ключевые слова: тест генерации тромбина; тромбомодулин; система протеина С.

Для цитирования: Березовская Г.А., Лазовская Т.В., Петрищев Н.Н. Вариабельность показателей тромбограмм теста генерации тромбина. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(3): 63–68.

DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.63-68

Для корреспонденции: Петрищев Николай Николаевич, доктор мед. наук, проф. каф. патологической физиологии, руководитель Центра лазерной медицины ПСПбГМУ, e-mail: lasmed@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 31.05.2016

Berezovskaya G.A.^{1,2}, Lazovskaya T.V.³, Petrishchev N.N.^{1,2}

Variability trombogram test thrombin generation

¹ Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, ul. Leo Tolstoy, d. 6-8. Russia

² Federal Almazov North-West Medical Research Center, 197341, St. Petersburg, ul. Akkuratova, 2. Russia

³ Saint-Petersburg State Polytechnic University, 195251, St. Petersburg, Polytechnique, 29, Russia

According to the results of the thrombin generation test (TGT) thrombinogenesis is evaluated mainly by quantitative indicators. At the moment there is no consensus in the literature about the diagnostic value of time parameters. **The purpose.** To research the variability of TGT in platelet-poor plasma from healthy individuals. **Methods.** The study used platelet-poor plasma of 30 healthy individuals (9 men and 21 women) without clinical manifestations of atherosclerosis, age from 30 to 56 years. All subjects also received standard study hemostasis APTT (s), Quick prothrombin test (%), fibrinogen content (g/l) and D-dimers (µg/ml), antithrombin activity (%) and INR. **Results.** The analysis of indicators trombogram TGT in healthy people who have normal coagulation on the results of routine coagulation tests. It has been found that variability trombogram performance, when added to the formulation of recombinant human thrombomodulin (rh-TM), reveals latent tendency to hypercoagulability. The most informative indicator of temporary changes were LT (Lag to Time). Lack LT change or an increase in this indicator with the addition of rh-TM was accompanied by a significant increase in the number and rate of formation of thrombin, reflecting a tendency to hypercoagulability. **Conclusions.** Changing the time of initiation of blood clotting (LT) after the addition of rh-TM allows to reveal hidden imbalance in the hemostatic system.

Keywords: thrombin generation test; thrombomodulin; protein C system.

For citation: Berezovskaya G.A., Lazovskaya T.V., Petrishchev N.N. Variability trombogram test thrombin generation. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61(3): 63–68. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2017.03.63-68

For correspondence: Nikolai N. Petrishchev, doctor of Medical Sciences, professor, Director of Laser Center Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, 6-8, Tolstoy Str. St. Petersburg, 197022, Russian Federation, e-mail: lasmed@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Berezovskaya G.A., <http://orcid.org/0000-0001-7854-5121>

Lazovskaya T.V., <http://orcid.org/0000-0002-3324-6213>

Petrishchev N.N., <http://orcid.org/0000-0003-4760-2394>

Received 31.05.2016

Введение

Долгое время лабораторная оценка состояния гемостаза была ограничена представлением о количестве, активности отдельных его компонентов и расчётными показателями, не способными охарактеризовать состояние гемостаза в целом. Возможность определения «суммарного вектора» действия про- и антикоагулянтных факторов связана с появлением интегрального теста генерации тромбина (ТГТ) со множеством его модификаций [1].

Автоматизированный тест генерации тромбина (ТГТ), позволяющий *in vitro* оценить интенсивность образования тромбина, значительно расширил представление исследователей и о кинетике гемостаза. В настоящее время для характеристики тромбиногенеза используются преимущественно количественные показатели ТГТ. Относительно диагностической ценности временных параметров этого теста единого мнения до сих пор нет, несмотря на то, что о влиянии на данные показатели различных факторов свёртывания крови хорошо известно [2].

Цель исследования — изучение вариабельности показателей ТГТ в бедной тромбоцитами плазме у практически здоровых людей.

Методика

Обследовано 30 практически здоровых людей (9 мужчин и 21 женщина) без клинических проявлений атеросклероза в возрасте от 30 до 56 лет, не принимающих антиагрегантные и антикоагулянтные препараты. Участие в исследовании подтверждено письменным согласием и одобрено Этическим комитетом ФГБУ СЗФМИЦ.

Стандартные коагулологические исследования проводились на автоматическом коагулометре STA-Compact (Diagnostica Stago, Швейцария) с использованием реагентов от производителя. Исследовали следующие показатели: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ, с), протромбиновый тест по Квику (ПТ, %), содержание фибриногена (г/л) и D-димеров (с использованием ла-

тексной агглютинации, мкг/мл), активность анти-тромбина (АТ, %) и МНО. Исследования крови проводились в ЦКДЛ ФГБУ СЗФМИЦ.

Проведение ТГТ в бедной тромбоцитами плазме (PPP, Platelet-Poor Plasma) и анализ результатов теста выполнялись согласно методике, предложенной Hemker Н. и соавт. в 2003 г. [3]. Для стандартизации ТГТ образцы крови отбирали в вакуумные пробирки VACUETT®, содержащие в качестве консерванта 3,2% (0,109 M) раствор цитрата натрия при соотношении антикоагулянта и крови 1:9. Плазма бедная тромбоцитами 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 рекомбинантного человеческого тканевого фактора (th-TF) в конечной концентрации 5 пМоль и прокоагулянтных фосфолипидов. Смесь специфичного для тромбина флюорогенного субстрата и CaCl₂ подготавливалась перед каждой постановкой теста из реагентов «Fluo-Buffer» и «Fluo-Substrate».

Для оценки влияния системы активированного протеина С на образование тромбина постановка теста генерации тромбина была модифицирована добавлением в реакционную смесь человеческого рекомбинантного тромбомодулина (rh-TM) [4–6]. Калибровка производилась параллельно с генерацией тромбина в каждом исследуемом образце плазмы при помощи реагента «Thrombin Calibrator». Постановка ТГТ проводилась в дублях на планшетном флуориметре Fluoroskan Ascent®, оборудованном диспенсером производства ThermoFisher SCIENTIFIC (Финляндия). Построение и расчет показателей тромбogram генерации тромбина осуществлялись при помощи программного обеспечения Thrombinoscope® версия 3.0.0.26.

Анализировали следующие показатели ТГТ: LT (Lag Time) — время инициации свертывания (мин); Peak (Peak thrombin) — пиковое количество тромбина, (нМ); ttPeak (time to Peak) — время достижения пикового количества тромбина (мин); ETP (Endoge-

pous Thrombin Potential) — эндогенный тромбиновый потенциал (нМ·мин). Velocity Index (VI) — скорость образования тромбина (нМ/мин), рассчитываемую по формуле:

$$VI = \frac{Peak}{ttPeak - Lag\ time}$$

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

$$\begin{aligned} \text{Чувствительность к тромбомодулину} &= \\ &= \frac{X_{(\text{без } rh\text{-TM})} - X_{(c\ rh\text{-TM})}}{X_{(\text{без } rh\text{-TM})}} \times 100\%, \end{aligned}$$

где X — показатель тромбограммы.

Статистическая обработка данных осуществлялась с помощью компьютерной программы SPSS 20.0. Оценка значимости различий между несколькими независимыми выборками для нормально распределенных данных с однородной дисперсией проводилась с использованием однофакторного дисперсионного анализа с апостериорными множественными сравнениями по критерию Шеффе. В других случаях применялся непараметрический критерий Краскала—Уоллиса, для множественных сравнений — критерий Манна—Уитни с поправкой Бонферони [7]. Различия считались статистически значимыми при уровне $p < 0,05$. Значения средних для выборок приведены в таблицах с соответствующими 95%-ными доверительными интервалами, а также стандартным отклонением.

Результаты и обсуждение

Состояние плазменно-коагуляционного звена гемостаза характеризуют показатели коагулограммы, большинство из которых являются расчётными. Результаты стандартных коагулологических тестов, выполненных в группе практически здоровых людей, не вы-

ходят за рамки референсных значений (табл. 1). Следовательно, по всем существующим критериям во всех случаях выявлена нормокоагуляция.

О состоянии системы свёртывания крови судили также по результатам ТГТ, выполненного в двух параллельных постановках — без добавления рекомбинантного тромбомодулина и с его добавлением (rh-TM). Полученные значения приведены в табл. 2.

Добавление в реакционную смесь rh-TM, как и по данным других авторов, сопровождалось уменьшением величин всех показателей в пределах нормальных значений, также соответствующих нормокоагуляции [2]. В нашем исследовании был рассчитан не только процент снижения ЕТР и Peak, традиционно характеризующий чувствительность к rh-TM, но и степень снижения временных показателей ТГТ: LT, ttPeak и V. Было установлено, что в присутствии rh-TM уменьшение LT (% снижения $LT > 0$) произошло в 11 случаях (36,7%), не повлияло на данный показатель (% снижения $LT = 0$) в 12 случаях (40%) и вызвало удлинение LT (% снижения $LT < 0$) в 7 случаях (23,3%).

Коэффициенты вариации (V) свидетельствуют об однородности выборки в постановке ТГТ без добавления rh-TM по всем показателям, за исключением VI. Коэффициент вариации для средних значений, близких к нулевому, не рассчитывается, а оценивается только стандартное отклонение. В постановке с добавлением rh-TM однородность выборки, судя по коэффициенту вариации (<33%), сохранялась лишь у временных параметров ТГТ (LT и ttPeak), что подчёркивает типичность найденной средней величины для конкретной статистической совокупности (табл. 2). При анализе количественных показателей — ЕТР и Peak, обычно используемых для оценки интенсивности образования тромбина, было установлено, что добавление rh-TM приводило к их уменьшению в 1,5—2 раза (табл. 2). Это согласуется с результатами других исследований, авторы которых предлагают считать критическим уровнем снижения ЕТР менее, чем на 23% и Peak менее, чем на 15% при постановке ТГТ с rh-TM,

Таблица 1

Показатели коагулограммы у здоровых людей

Показатели	Референсные значения	Группа испытуемых
Протромбиновый тест по Квику, %	80 — 120	105 111 118 $s = 14,8$
АЧТВ, с	28,0 — 40,0	32,2 33,4 34,7 $s = 3$
Фибриноген, г/л	2,0 — 4,0	3,06 3,27 3,48 $s = 0,50$
МНО	0,65 — 1,11	0,922 0,950 0,977 $s = 0,067$

Примечание. s — стандартное отклонение

которое могло быть связано с недостаточной чувствительностью системы гемостаза к добавляемому rh-TM в результате APC-резистентности, абсолютным или относительным дефицитом протенинов С и/или S, а также наличием Лейденской мутации [4].

Ожидаемым оказалось снижение скорости образования тромбина (VI, нМ/мин) под влиянием rh-TM и уменьшение времени достижения пикового количества тромбина в постановке с rh-TM, связанное с активацией системы протеина С под влиянием rh-TM, в результате чего меньшее количество тромбина инактивировалось быстрее.

Разделение обследуемых на 3 группы по реакции LT на добавление rh-TM позволило установить статистически значимые различия результатов ТТГ (табл. 3).

Поскольку значения ttPeak, Peak и VI в постановке с rh-TM не соответствовали закону нормального распределения, для анализа этих данных применялась поправка Бонферони, чтобы исключить возможные ошибки, возникающие при сравнении отдельных групп из совокупности. Были выявлены отличия между группами по показателям Peak и VI в обеих постановках, ttPeak в постановке без rh-TM, а также % уменьшения ttPeak при добавлении rh-TM. Значимыми эти отличия оказались между группами 1 и 2, в которых LT соответственно уменьшался и не изменялся при добавлении rh-TM. Группы с отсутствием изменения и удлинением LT в ответ на добавление rh-TM характеризовались большими пиковыми концентрациями тромбина, уменьшением времени достижения пиковых концентраций, а также увеличением ско-

Таблица 2

Показатели теста генерации тромбина у здоровых людей

Показатели	LT, мин	ETP, нМ · мин	Peak, нМ	ttPeak, мин	VI, нМ/мин
Без rh-TM	2,40 2,57 2,73 <i>s</i> = 0,45 <i>V</i> = 17,5%	1624 1737 1851 <i>s</i> = 303 <i>V</i> = 17,4%	254 281 308 <i>s</i> = 73 <i>V</i> = 26%	5,54 5,99 6,44 <i>s</i> = 1,20 <i>V</i> = 20%	75,6 94,0 112,3 <i>s</i> = 49,2 <i>V</i> = 52,3%
С rh-TM	2,36 2,50 2,64 <i>s</i> = 0,37 <i>V</i> = 14,8%	777 934 1091 <i>s</i> = 421 <i>V</i> = 45,1%	153 183 214 <i>s</i> = 81 <i>V</i> = 44,3%	4,89 5,14 5,38 <i>s</i> = 0,66 <i>V</i> = 12,8%	58,4 75,9 93,3 <i>s</i> = 46,8 <i>V</i> = 61,7%
Снижение после добавления rh-TM, %	-2,90 1,45 5,80 <i>s</i> = 11,65 —	40,3 47,1 53,9 <i>s</i> = 18,2 <i>V</i> = 38,6%	30,5 36,5 42,4 <i>s</i> = 16,0 <i>V</i> = 43,8%	8,7 12,6 16,4 <i>s</i> = 10,4 <i>V</i> = 82,5%	12,7 19,5 26,4 <i>s</i> = 18,3 <i>V</i> = 93,8%

Примечание. *s* — стандартное отклонение; *V* — коэффициент вариации

Таблица 3

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

Показатель	dLT ₁ %LT >0 (11)	dLT ₂ %LT = 0 (12)	dLT ₃ %LT <0 (7)	Значимость, <i>p</i>
Однофакторный анализ				
Peak + rh-TM	99 135 172 <i>s</i> = 54	177 225 273 <i>s</i> = 75	100 187 275 <i>s</i> = 95	<i>p</i> между 1 и 2 = 0,024
VI	40 58 76 <i>s</i> = 27	97 123 149 <i>s</i> = 42	49 101 153 <i>s</i> = 56	<i>p</i> между 1 и 2 = 0,003
%ttPeak	17 22 27 <i>s</i> = 8	2,3 7,6 12,9 <i>s</i> = 8,3	-0,7 6,8 14,2 <i>s</i> = 8,1	<i>p</i> между 1 и 2 = 0,001 <i>p</i> между 1 и 3 = 0,003
LT	2,58 2,77 2,97 <i>s</i> = 0,29	2,27 2,57 2,87 <i>s</i> = 0,47	1,82 2,24 2,66 <i>s</i> = 0,45	<i>p</i> между 1 и 3 = 0,041
Краскала—Уоллиса критерий. Парные сравнения с поправкой по Бонферони по критерию Манна—Уитни				
ttPeak	6,4 6,9 7,4 <i>s</i> = 0,8	4,8 5,4 5,9 <i>s</i> = 0,9	4,3 5,6 6,9 <i>s</i> = 1,4	<i>p</i> между 1 и 2 = 0,003
Peak	186 226 266 <i>s</i> = 59	293 324 356 <i>s</i> = 74	225 294 363 <i>s</i> = 74	<i>p</i> между 1 и 2 = 0,003
VI + rh-TM	34 46 58 <i>s</i> = 18	73 99 124 <i>s</i> = 40	23 84 144 <i>s</i> = 65	<i>p</i> между 1 и 2 < 0,003

Примечание. *p* — значимость отличий для групп наблюдений; *s* — стандартное отклонение

рости образования тромбина. Корреляционный анализ позволил установить, что % снижения ЛТ имеет положительную корреляционную связь с ЛТ в постановке без rh-TM ($k = 0,586$; $\rho = 0,001$) и не коррелирует с ЛТ в постановке с rh-TM, следовательно, реакция на добавление rh-TM в большей мере обусловлена значением исходного ЛТ без rh-TM.

За время использования ТГТ сложились определённые представления о диагностической ценности его показателей в зависимости от поставленных перед исследованием задач [8]. Однако остаётся ряд нерешённых вопросов относительно целесообразности анализа всех его показателей. Избыточному образованию тромбина, как известно, препятствует активация целого ряда антикоагулянтных факторов, к числу которых относятся антитромбин (АТ), протеин С (РС), протеин S (PS), тромбомодулин (ТМ), а также ингибитор пути тканевого фактора (Tissue factor pathway inhibitor, TFPI). ТМ представляет собой трансмембранный белок, выполняющий роль рецептора тромбина на поверхности эндотелия. Тромбин в комплексе с ТМ превращает РС, связанный с эндотелиальным рецептором протеина С (рецептором-ЕРСР), в сериновую протеиназу — активированный протеин С (АРС), обладающий антикоагулянтной, противовоспалительной и цитопротекторной активностью. В комплексе с кофактором — протеином S, АРС инактивирует факторы Va и VIIIa, необходимые для образования тромбина.

В нашем исследовании участвовали практически здоровые люди без клинических проявлений атеросклероза и других заболеваний, сопровождающихся изменениями в системе гемостаза. Именно поэтому отсутствие в целом отклонений от референсных значений в обследованной группе среди рутинных коагулологических тестов и ТГТ оказалось вполне естественным. Однако отсутствие клинических проявлений атеросклероза, с учётом выбранной возрастной категории, не означает отсутствие самого процесса у обследованных людей.

Анализ показателей тромбограмм ТГТ 30 обследованных показал, что добавление в реакционную смесь человеческого рекомбинантного тромбомодулина (rh-TM) привело, как и ожидалось, к уменьшению количественных показателей, традиционно характеризующих чувствительность к ТМ, и снижению скорости образования тромбина. Не вполне объяснимым оказалось изменение временных показателей, ЛТ и ttPeak. Было выявлено 3 варианта реакции ЛТ на добавление rh-TM: уменьшение в 11 случаях, при этом процент снижения имел положительные значения (36,7%); отсутствие изменений в 12 случаях, сопровождающихся отсутствием разницы между двумя постановками (40,0%); увеличение в 7 случаях, что соответствовало отрицательному значению процента снижения данного показателя (23,3%). Во 2-й и 3-й группах пиковые концентрации

тромбина, а также скорость его образования в обеих постановках были значительно выше, чем в 1-й группе. Напротив, время достижения пиковых концентраций тромбина и процент снижения данного показателя при добавлении rh-TM в этих группах были существенно ниже, чем в 1-й группе. В группе людей, у которых изменения ЛТ при добавлении rh-TM отсутствовали полностью, т.е. % снижения ЛТ был равен 0, эти отклонения оказались статистически значимыми.

Имеющиеся в литературе данные свидетельствуют о влиянии на продолжительность ЛТ факторов свёртывания крови. Установлено, что в постановке ТГТ в РРР при концентрации ТФ 5 μM , как это имело место и в нашем исследовании, продолжительность этого периода меньше, чем при 1 μM ТФ, более чем в 2 раза ($\rho < 0,0001$), а добавление rh-TM в концентрации 5 μM , напротив, сопровождается увеличением ЛТ ($\rho < 0,0001$). Отмечено также, что добавление в постановку rh-TM, независимо от концентрации ТФ, приводит к значительному уменьшению количественных показателей ТГТ (Peak и ETP; $\rho < 0,0001$), а к уменьшению ТТР только в постановке с ТФ в концентрации 1 μM [2]. Показано также, что степень влияния ТФ на продолжительность ЛТ зависит от концентрации других прокоагулянтов и антикоагулянтов. При этом изменения ЛТ в РРР с 5 μM ТФ менее выражены, чем при постановке с использованием 1 μM ТФ. Установлено, что ЛТ постепенно удлиняется по мере уменьшения концентрации факторов свертывания, но в большей мере в постановке с 1 μM ТФ. Известно также, что продолжительность ЛТ наиболее чувствительна к изменениям концентрации ФХ. Так, ЛТ увеличивается в 9 раз при уменьшении концентрации ФХ со 100% до 5%. Данный эффект наблюдался как в РРР, так и в РРР (Platelet-Rich Plasma).

Известно, что ЛТ в постановке с 5 μM ТФ укорачивается при увеличении концентрации ФVII и ФXII. Аналогичная зависимость, т.е. значительное сокращение ЛТ, наблюдается при увеличении концентрации ФV в постановке РРР, но при низких концентрациях ТФ (1 μM). Дефицит протеина S приводит к сокращению ЛТ на 125% при 1 μM ТФ и примерно на 80% при 5 μM ТФ [9]. Также установлено, что фибриноген и протромбин удлиняют ЛТ независимо от концентрации ТФ и наличия rh-TM, а факторы XI, IX и VIII существенно не изменяют его, хотя степень этого влияния немного больше в присутствии ТМ. При этом ЛТ не реагирует на дефицит ФXI, АТ и протеина С [2].

Результаты другого исследования свидетельствуют о том, что ЛТ в основном зависит от уровня ингибитора пути тканевого фактора (TFPI), протеина S (PS), ФVII, ФIX и фибриногена. Основными факторами, определяющими образование тромбина (ETP и Peak)

при концентрации ТФ 1рМ, являются фибриноген, ФХа (несмотря на ингибирование контактной активации), свободный ТФР1 и АТ как в отсутствие, так и в присутствии rh-ТМ. Образование тромбина в присутствии rh-ТМ также зависит от уровней протеина С. При концентрации ТФ 13,6 рМ, образование тромбина зависит от протромбина, АТ, фибриногена, свободного ТФР1 и ФV в отсутствие APC, и свободного ТФР1, PS и ФХ при наличии APC [10]. Одним из наиболее значимых факторов, влияющих на продолжительность ЛТ, является ТФР1, активность которого зависит от уровня эстрогенов, липидного спектра крови и проявлений атеросклероза [11]. Способностью изменять активность протромбиназы и, следовательно, начальную фазу образования тромбина, обладает одна из двух известных на данный момент изоформ ТФР1 — ТФР1б, точнее 2 его ингибиторных домена типа Kunitz (K2 и K3), благодаря препятствию взаимодействия Va и Ха факторов, приводящему к угнетению образования тромбина. Однако известно о существовании механизмов, благодаря которым данный эффект тормозится, что приводит к развитию прокоагулянтных эффектов отрицательно заряженных макромолекул, таких, как, например, гепарин [12, 13].

Было установлено, что добавление rh-ТМ в одну из параллельных постановок ТГТ у здоровых людей позволило выявить различные варианты изменения ЛТ в виде его увеличения, укорочения и отсутствия изменений. Отсутствие реакции ЛТ на rh-ТМ и его удлинение сопровождалось большими пиковыми концентрациями тромбина, увеличением скорости его образования и уменьшением времени достижения пиковых концентраций. Наиболее значимыми эти изменения были в группе с полным отсутствием изменений ЛТ при добавлении rh-ТМ, в которой также было отмечено минимальное снижение процента ttPeak, отражающее чувствительность к rh-ТМ.

Таким образом, анализ результатов теста генерации тромбина у практически здоровых людей позволил выявить вариабельность изменений показателей тромбограмм после добавления rh-ТМ. Выявленные нами варианты реакции ЛТ на добавление rh-ТМ и соответствующие им изменения других показателей ТГТ, безусловно, являются лабораторным феноменом. Однако дальнейшее изучение изменчивости показателей тромбограмм, на наш взгляд, может быть полезным для выявления дисбаланса в системе гемо-

стаза у больных людей с высоким риском как тромботических, так и геморрагических осложнений, получающих соответствующую терапию, а также пациентов, не имеющих исходно риска подобных осложнений, но нуждающихся в оперативном лечении.

References

1. Hemker H.C., Dieri R.A., De Smedt E. et al. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost.* 2006; 96: 553-61.
2. Machlus K.R., Colby E.A., Wu J.R. et al. Effects of tissue factor, thrombomodulin and elevated clotting factor levels on thrombin generation in the calibrated automated thrombogram. *Thromb Haemost.* 2009; 102(5): 936-944. doi: 10.1160/TH09-03-0180.
3. Hemker H.C., Giesen P., Al Dieri R. et al. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003; 33: 4-15.
4. Dargaud Y., Trzeciak M.C., Bordet J.C. et al. Use of calibrated automated thrombinography +/- thrombomodulin to recognize the prothrombotic phenotype. *Thromb. Haemost.* 2006; 96(5): 562-7.
5. Liesel S., Sandset P.M., Mowinckel M.C. et al. Activated protein C resistance determined with a thrombin generation-based test is associated with thrombotic events in patients with lupus anticoagulants. *J. Thromb. Haemost.* 2007; 5(11): 2204-10.
6. Tripodi A., Martinelli I., Chantarangkul V. et al. The endogenous thrombin potential and the risk of venous thromboembolism. *Thromb. Res.* 2007; 121: 353-9.
7. Zar J.H. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey; 1999.
8. Papajan L.P., Golovina O.G., Chechetkin A.V. et al. *Diagnostic algorithm hemostasis and monitoring of antithrombotic therapy. Guidelines*. 2016. SPb., Agency «ViT-print», 2016. (in Russian)
9. Kim S.Y., Kim J.E., Kim H.K. et al. Influence of coagulation and anticoagulant factors on global coagulation assays in healthy adults. *Am J Clin Pathol.* 2013; 139(3): 370-9. doi: 10.1309/AJCP5C4AGFRDKMX
10. Dielis A.W., Castoldi E., Spronk H.M. et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population. *J Thromb Haemost.* 2008; 6(1): 125-31.
11. Winckers K., ten Cate H., Hackeng T.M. The role of tissue factor pathway inhibitor in atherosclerosis and arterial thrombosis. *Blood Rev.* 2013; 27(3): 119-32. doi: 10.1016/j.blre.2013.03.001.
12. Wood J.P., Bunce M.W., Maroney S.A. et al. Tissue factor pathway inhibitor-alpha inhibits prothrombinase during the initiation of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(44): 17838-43.
13. Wood J.P., Ellery P.E., Maroney S.A. et al. Biology of tissue factor pathway inhibitor. *Blood.* 2014; 123 (19): 2934-43.

Сведения об авторах:

Березовская Гелена Анатольевна, канд. мед. наук, ассистент каф. факультетской терапии ПСПбГМУ, ст. науч. сотр. НИЛ ОКС СЗФМИЦ, e-mail: berezovgel@mail.ru

Лазовская Татьяна Валерьевна, ст. преподаватель каф. высшей математики СПбПУ, e-mail: tatianala@list.ru