

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ ФЕДЕРАЛЬНОГО
МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО АГЕНТСТВА»

На правах рукописи

Гельцер Ирина Валерьевна

**ОСОБЕННОСТИ АНТИКОАГУЛЯНТНОГО ДЕЙСТВИЯ
РИВАРОКСАБАНА И ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ
ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТИ**

14.01.21 – гематология и переливание крови

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук, профессор
Папаян Людмила Петровна

Санкт-Петербург – 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Современное представление о процессе тромбообразования.....	9
1.2 Антагонисты витамина К. Варфарин.....	14
1.3 Новые оральные антикоагулянты.....	16
1.3.1 Прямые ингибиторы тромбина. Дабигатран.....	18
1.3.2 Прямые ингибиторы активированного фактора X. Ривароксабан.....	23
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	31
2.1 Материалы исследования.....	31
2.2 Методы исследования системы гемостаза.....	32
ГЛАВА 3 СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА У ПАЦИЕНТОВ, ПРИНИМАЮЩИХ РИВАРОКСАБАН.....	35
3.1 Характеристика группы пациентов.....	35
3.2 Сравнительный анализ коагуляционных параметров пациентов в зависимости от времени приема препарата.....	35
3.3 Оценка состояния гемостаза у пациентов, получающих ривароксабан, на основании показателей тромбограммы.....	38
3.4 Изменение антикоагулянтного действия ривароксабана на протяжении суток.....	42
ГЛАВА 4 ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПЕРОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ.....	46
ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ РИВАРОКСАБАНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ.....	51
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	54
ВЫВОДЫ.....	73
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	74
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	75
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	77

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Тромбоэмболические заболевания и осложнения (ТЭЗО) по-прежнему занимают лидирующую позицию в заболеваемости и смертности во всем мире. Вероятность рецидива тромбоэмболических заболеваний (ТЭЗ) в течение первых 3 месяцев при достижении адекватного ответа на антикоагулянтную терапию составляет менее 2%, а при неадекватной терапии проксимального тромбоза глубоких вен (ТГВ) – до 47% [4, 20, 112]. По результатам регистра GARFIELD – AF [137] у пациентов с впервые выявленной неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП) адекватная антитромботическая терапия позволяет снизить риск ишемического инсульта и смертности на 38%.

Учитывая важную патогенетическую роль тромбина в развитии тромбоза, пациентам назначают антикоагулянтные препараты, действие которых направлено на снижение генерации тромбина. Общие клинические показания для назначения антикоагулянтных препаратов включают как лечение рецидивирующих тромбозов поверхностных вен (ТПВ), тромбозов глубоких вен и тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА) [7, 52, 84, 113], так и тромбопрофилактику при эндопротезировании тазобедренных (ТБС) и коленных суставов [58, 142], а также инсульта при неклапанной фибрилляции предсердий.

Группа новых оральных антикоагулянтов (НОАК), представленная прямыми ингибиторами тромбина и ингибиторами активированного фактора X (фХа), показала высокую эффективность в терапии и профилактике ТЭЗО [179]. Расширяется спектр клинических показаний для назначения НОАК, ведутся исследования по внедрению препаратов данной группы для лечения тромботических проявлений у детей. Однако на современном этапе остается открытым вопрос о необходимости лабораторного контроля эффективности терапии новыми оральными антикоагулянтами, что определено случаями тромботических и геморрагических осложнений на фоне антикоагулянтной терапии. Многочисленные работы [55, 102, 149, 150, 153, 159, 160, 161]

свидетельствуют о широком использовании ривароксабана, но не объясняют особенности его действия, обеспечивающие высокую эффективность терапии именно прямым ингибитором активированного фактора X. Неоднозначные сведения о влиянии ривароксабана на систему гемостаза в целом и на отдельные ее составляющие, нерешенные вопросы лабораторного контроля его эффективности определяют актуальность настоящей работы.

Степень разработанности темы

Своеобразным прорывом в лечении и профилактике ТЭЗО было появление на фармацевтическом рынке новых оральных антикоагулянтов, действующих на отдельные энзимы коагуляционного каскада. Значительное количество работ последнего десятилетия посвящено исследованию влияния прямых ингибиторов фХа на общепринятые коагуляционные тесты. Однако до сих пор остается открытым вопрос о выборе наиболее информативного теста для оценки уровня антикоагуляции при лечении ривароксабаном. Несмотря на наличие достаточной информации о механизме действия и фармакодинамических свойствах ривароксабана, особенность его действия на систему естественных антикоагулянтов и лабораторные критерии эффективности терапии данным препаратом не выявлены.

Цель исследования

Изучить особенности антикоагулянтного действия ривароксабана и лабораторного контроля его эффективности.

Задачи исследования

1. Исследовать состояние плазменного звена гемостаза у пациентов, принимающих ривароксабан.
2. Определить изменение показателей теста генерации тромбина при лечении прямым ингибитором активированного фактора X.

3. Оценить работу системы протеина С у пациентов на фоне лечения ривароксабаном.
4. Сравнить влияние различных пероральных антикоагулянтов на работу системы протеина С.
5. Изучить характер изменений функциональной активности тромбоцитов у пациентов на фоне лечения ривароксабаном.

Научная новизна исследования

Впервые в России для оценки уровня антикоагуляции и эффективности терапии ривароксабаном применен тест генерации тромбина.

Впервые показано, что прием ривароксабана 1 раз в сутки вызывает значимое снижение количественных параметров генерации тромбина: эндогенного потенциала тромбина и его максимальной концентрации (ETP и Peak thrombin) и пролонгацию временного показателя (Lag Time, LT), которое сохраняется не менее суток. Наиболее чувствительным критерием для оценки антикоагулянтного действия ривароксабана является Peak thrombin.

Впервые обнаружено усиление эффективности работы системы протеина С у пациентов, принимающих ривароксабан, что обеспечивает оптимальный уровень антикоагуляции не менее 24 часов.

Впервые в России проведено сравнительное исследование антитромботического действия прямых ингибиторов активированного фактора X, ингибиторов тромбина и варфарина с использованием теста генерации тромбина. Установлено снижение эффективности работы системы протеина С на фоне лечения варфарином и дабигатраном в отличие от ривароксабана.

Впервые установлено, что снижение уровня тромбинемии на фоне монотерапии ривароксабаном не сопровождается нормализацией функциональной активности тромбоцитов, что следует рассматривать, как дополнительный фактор риска развития тромботических проявлений.

Показано, что общие коагуляционные параметры (протромбиновый тест по Квику, активированное парциальное тромбопластиновое время) не могут быть

использованы для оценки эффективности антикоагулянтного действия ривароксабана.

Практическая значимость исследования

Показано, что на фоне лечения ривароксабаном у пациентов могут быть как сниженные, так и нормальные показатели протромбинового теста по Квику. Это подтверждает существующее мнение о неспецифичности данного показателя для контроля терапии прямым ингибитором фактора Ха.

Тест генерации тромбина позволяет оценить эффективность терапии ривароксабаном по степени снижения количества образованного тромбина. Выявленная особенность действия ривароксабана в виде усиления работы системы протеина С может являться обоснованием для применения его у пациентов с нарушениями в системе протеина С, в том числе с резистентностью к активированному протеину С.

У пациентов, получающих ривароксабан, может отмечаться повышенная функциональная активность тромбоцитов, что обосновывает необходимость дополнительного назначения антиагрегантных препаратов и требует контроля за агрегационной способностью кровяных пластинок.

Методология и методы исследования

В работе использованы клиничко-лабораторные, биохимические и статистические методы исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Общие коагуляционные параметры, такие как показатель протромбинового теста по Квику, активированное парциальное тромбопластиновое время не могут быть использованы для оценки эффективности терапии ривароксабаном, поскольку не отражают степени снижения генерации тромбина.

2. Тест генерации тромбина объективно отражает ингибиторный эффект ривароксабана, что проявляется значимым снижением количественных характеристик генерации тромбина: эндогенного потенциала тромбина и его максимальной концентрации (ETP и Peak thrombin) и увеличением времени до начала его образования (Lag Time, LT). Ингибиторный эффект наблюдается не менее 24 часов при приеме ривароксабана 1 раз в сутки.

3. Прием ривароксабана усиливает эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С. Варфарин и дабигатран подобного эффекта не вызывают.

4. Снижение уровня тромбинемии под влиянием ривароксабана не сопровождается нормализацией функциональной активности тромбоцитов.

Степень достоверности, публикации и апробация диссертации

Степень достоверности обусловлена проведением исследования параметров гемостаза у большой группы пациентов (216 пациентов с различными тромбоэмболическими заболеваниями и осложнениями), использованием качественных методов проведения лабораторных анализов и статистической обработкой полученных результатов.

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них – 3 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для опубликования научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и доктора медицинских наук.

Материалы диссертации представлены на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ГЕМАТОЛОГИИ И ТРАНСФУЗИОЛОГИИ» (Санкт-Петербург, 2014), шестой Всероссийской конференции с международным участием «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2015), XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Торонто, 2015), 3-м ВСЕМИРНОМ КОНГРЕССЕ "CONTROVERSIES IN THROMBOSIS AND HEMOSTASIS (Москва, 2016),

Всероссийской научно-практической Конференции с международным участием «1-й Всероссийский Форум АнтиКоагулянтной Терапии» ФАКТ-2016 (Москва, 2016), Международной конференции «Кардиоваскулярная фармакотерапия: от теории к практике» (Москва, 2016), XI международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 2016), 8-й Всероссийской Конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии (Москва, 2016), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии» (Киров, 2017).

Личный вклад автора

Автором выполнялись: планирование исследования; ведение первичной документации; координирование пациентов для своевременного взятия образцов крови и проведения лабораторных исследований; исследование функциональной активности тромбоцитов; анализ полученных данных – результатов коагуляционных и интегральных тестов, статистическая обработка и обобщение результатов.

Структура и объем работы

Диссертационная работа изложена на 96 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав с изложением собственных результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 182 источника (23 отечественных и 159 зарубежных). Работа содержит 13 рисунков и 9 таблиц.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современное представление о процессе тромбообразования

Тромбоз является результатом повышенного образования тромбина, как чрезмерный ответ системы гемостаза на повреждение сосудистой стенки или какой-либо другой патологический процесс в организме [16, 122]. В настоящее время процесс образования тромбина – ключевого энзима активации гемостатических реакций – представляют в виде трех перекрывающихся друг друга фаз (рисунок 1) [93, 124].

Первая фаза – формирование стартового сигнала к активации процесса коагуляции, развивается в тот момент, когда при повреждении целостности сосудистой стенки происходит экспозиция и контакт с кровью специфического интегрального белка – тканевого фактора (TF) на субэндотелиальных клетках. Главным свойством TF является его способность связываться с фактором VII с образованием комплекса TF:VII [119]. Первоначально образующийся комплекс TF:VIIa трансформирует фактор X в активную форму – Xa, а также путем ограниченного протеолиза активирует и фактор IX, который, взаимодействуя со специфическим рецептором на активированных тромбоцитах, участвует в последующих реакциях активации коагуляционного гемостаза. Первые количества фактора Xa на поверхности субэндотелиальных клеток со своим кофактором Va образует протромбиназу. Протромбиназа протеолитически расщепляет протромбин, в результате чего образуется очень небольшое количество тромбина. Эта способность системы гемостаза к ограничению образования тромбина на начальном этапе активации процесса свертывания крови важна для предотвращения развития тромбоза. Ограничение образования тромбина на поверхности субэндотелиальных клеток, несущих TF, контролируется несколькими путями: специфическим ингибитором пути тканевого фактора (TFPI), антитромбином (АТ) [121].

Вторая фаза – усиление процесса свертывания крови. Минимальное количество тромбина, которое образуется на стадии инициации свертывания крови, является основополагающим событием для последующего процесса активации факторов свертывания и тромбоцитов [23]. Существенно, что неактивированные и активированные тромбоциты имеют несколько рецепторов или мест связывания для тромбина. Это рецептор, активируемый протеазой 1 (PAR1), гликопротеин Ib-V-IX (GPIb-V-IX), но, возможно, и другие [141, 172]. Включение различных сигнальных путей при тромбиновой активации приводит к перестройке структуры фосфолипидной плазматической мембраны тромбоцитов с экспозицией фосфатидилсерина, стимуляции ее коагуляционной активности и в конечном итоге к развитию процесса секреции. Вследствие индуцированного процесса секреции из гранул хранения кровяных пластинок высвобождаются гемостатически активные субстанции, в том числе и те, которые содействуют распространению процесса свертывания крови. Тромбин, связанный с рецептором GPIb-V-IX, активирует ряд прокоагулянтов, в том числе фактор V, который выделяется в процессе секреции из альфа-гранул тромбоцитов и остается на их поверхности [87]. GPIb-V-IX служит рецептором не только для тромбина, но и является местом связывания для фактора Виллебранда, который обеспечивает адгезию тромбоцитов к месту повреждения сосудистой стенки и частичную их активацию. Поскольку фактор Виллебранда циркулирует в плазме в виде комплекса с фактором VIII, то, связываясь со своим специфическим рецептором GPIb-V-IX, он локализует и фактор VIII на тромбоцитарной поверхности. Под воздействием рядом расположенного тромбина происходит диссоциация комплекса, состоящего из фактора Виллебранда и фактора VIII. При этом фактор VIII остается локализованным на поверхности кровяных пластинок и активируется тромбином. Тромбин, образующийся под воздействием комплекса TF:VIIa, в свою очередь активирует и фактор XI, который связывается с поверхностью активированных тромбоцитов через цепь GP1ba комплекса GP1b-V-IX.

Таким образом, микромолярные количества тромбина, которые образуются на клетках, несущих тканевой фактор, обеспечивают в течение второй фазы свертывания крови распространение процесса активации свертывания крови на тромбоцитарную поверхность с одновременной трансформацией в активную форму факторов XI, VIII и V.

Третья фаза – распространение процесса свертывания крови. С момента, когда достигается оптимальная активация тромбоцитов, процесс коагуляции переходит в свою конечную фазу – распространение процесса свертывания крови. Этому способствует наличие на поверхности тромбоцитов высокоаффинных рецепторов для факторов XI, XIa, IX, IXa, VIII, VIIIa, V, Va, X, Xa, протромбина и тромбина. Во время этой фазы на поверхности уже активированных тромбоцитов происходит формирование теназного (VIIIa/IXa) и протромбиназного комплексов (Xa/Va) [6, 87]. Протромбиназный комплекс, который формируется на поверхности активированных тромбоцитов, инициирует протеолиз протромбина с образованием большого количества тромбина [25]. Тромбин расщепляет фибриноген и активирует фактор XIII (фибринстабилизирующий фактор), что приводит к образованию нерастворимого фибрина, необходимого для образования гемостатически эффективного сгустка. Скорость образования тромбина во время этой фазы зависит от количества фактора Xa, который образуется на фосфолипидной поверхности активированных тромбоцитов под действием теназного комплекса – VIIIa/IXa. В свою очередь, одна молекула фXa приводит к образованию 1000 молекул тромбина [18, 117].

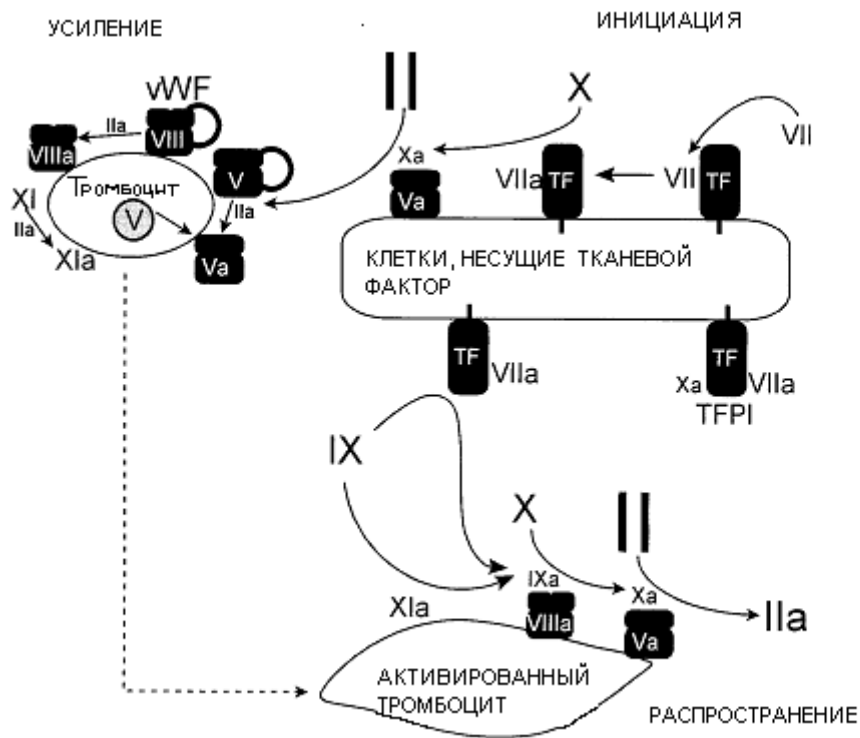


Рисунок 1 – Современная схема свертывания крови [93]

Установлено, что при свертывании 1 мл крови образуется тромбин в количестве, достаточном для коагуляции всего фибриногена (ФГ) в 3 литрах крови. Этого фатального эффекта в организме не происходит благодаря действию противосвертывающих компонентов (клеточных и гуморальных) [124]. Гуморальный компонент состоит из нескольких белков, которые ингибируют активные факторы свертывания крови. К этим белкам относятся антитромбин [106], кофактор гепарин II и альфа-2-макроглобулин [8], инактивирующие сериновые протеазы, а именно тромбин и все предшествующие его образованию факторы (за исключением факторов VIIIa и Va), путем образования с ними неактивных комплексов. Инактивация факторов VIIIa и Va – сильнейших катализаторов образования тромбина – осуществляется другими белками, так называемой системой протеинов C и S (PC, PS), которая инициируется комплексом тромбина с тромбомодулином (ТМ) [16, 124]. Тромбин, который образуется в зоне активации коагуляционных реакций, связывается с тромбомодулином на интактных эндотелиальных клетках. ТМ является

рецептором для тромбина. Он в большом количестве экспрессируется эндотелиальными клетками, особенно в зоне микроциркуляции. При взаимодействии с ТМ тромбин теряет свои коагуляционные свойства, перестает активировать тромбоциты и превращать фибриноген в фибрин. В результате тромбин приобретает антикоагулянтные свойства, которые заключаются в способности активировать протеин С – один из важнейших естественных антикоагулянтов. Активация протеина С под действием комплекса тромбин/ТМ происходит на поверхности эндотелиальных клеток, с которыми протеин С связывается с помощью специфического эндотелиального рецептора протеина С (EPCR-1) [109], облегчающего его активацию. Активированный протеин С (APC) образует комплекс с протеином S, который расщепляет и инактивирует факторы Va и VIIIa. Это предотвращает образование коагуляционных энзимов в месте, где присутствует здоровый неповрежденный слой эндотелия. Любые нарушения, приводящие к снижению антикоагулянтной защиты, являются серьезной причиной увеличения генерации тромбина и, соответственно, развития тромбоэмболических заболеваний и осложнений.

Учитывая важную патогенетическую роль тромбина в развитии тромбоза, пациентам с ТЭЗО назначают антикоагулянтные препараты, действие которых направлено на снижение генерации тромбина.

Несмотря на то, что действие назначаемых антикоагулянтов в терапии и профилактике ТЭЗО направлено на снижение общего гемостатического потенциала плазмы крови, механизм действия их различен (таблица 1). Выделяют группу непрямых антикоагулянтов, одним из представителей которых является варфарин, блокирующий синтез витамин К-зависимых факторов свертывания – II, VII, IX и X и естественных антикоагулянтов – протеинов С и S. Группа прямых пероральных антикоагулянтов представлена ингибиторами тромбина и ингибиторами активированного фактора X [179].

Таблица 1 – Антикоагулянтные препараты: пути введения и механизм действия [34]

Антикоагулянты			
	Непрямые	Прямые	
		Ингибиторы тромбина	Ингибиторы Ха фактора
Парентеральные	Гепарин	Гирудин	Отамиксабан
	НМГ	Аргатробан	
	Фондапаринукс	Бивалирудин	
Пероральные	АВК	Дабигатран	Ривароксабан
			Апиксабан
			Эдоксабан

НМГ – низкомолекулярные гепарины, АВК – антагонисты витамина К

1.2 Антагонисты витамина К. Варфарин

Многие годы золотым стандартом для лечения и профилактики тромбоэмболических заболеваний и осложнений считается варфарин – оральный антикоагулянт из группы препаратов кумаринового ряда. Основным механизмом антитромботического действия варфарина заключается в его способности блокировать синтез витамин К-зависимых факторов свертывания крови (II, VII, IX, X) [135, 165], в результате чего развивается гипокоагуляция, препятствующая появлению и прогрессированию тромбозов. Однако, одновременно с этим варфарин уже в первые дни от начала терапии оказывает и негативное воздействие, которое заключается в снижении активности важных физиологических антикоагулянтов – протеинов С и S, которые также являются витамин К-зависимыми. Нарушения баланса между прокоагулянтами и антикоагулянтами при приеме варфарина может стать причиной развития ретромбозов, «рикошетных» тромбозов, а также опасных осложнений, таких как

обширные некрозы кожи и подкожной клетчатки, злокачественная пурпура новорожденных [2, 156, 180]. Поэтому инициация противотромботической терапии первоначально осуществляется гепаринами, на фоне которых назначается варфарин для того, чтобы достичь равновесия между антикоагулянтами и прокоагулянтами.

С момента введения в клиническую практику антагонистов витамина К (АВК) в 1950-е годы определение их антикоагулянтного эффекта осуществлялось с помощью протромбинового времени (ПВ), позже выраженное как международное нормализованное отношение (МНО). Для большинства показаний, включая ФП, терапевтический диапазон МНО был установлен на уровне 2,0-3,0 [32, 34]. Однако, как показали исследования, дозировка варфарина не всегда поддается предварительным расчетам [63]. Индивидуальная реакция варьирует в очень больших пределах, из-за чего одни и те же дозы у одних пациентов могут быть недостаточными, а у других – чрезмерными [2]. Среди прочих особенностей, осложняющих применение АВК, выделяют также узкое терапевтическое окно, необходимость соблюдения диеты с ограничением продуктов с высоким содержанием витамина К, несовместимость со многими лекарственными средствами, необходимость постоянного лабораторного контроля [135], наличие фоновых заболеваний печени, желудка и кишечника [2]. Несмотря на указанные недостатки, антагонисты витамина К в настоящее время являются единственным методом лечения с доказанной безопасностью у пациентов с ФП, имеющих ревматический митральный порок сердца и/или протез сердечного клапана [61]. Известно, что у пациентов с большим количеством сопутствующих заболеваний возникают значительные сложности в плане удержания МНО в пределах терапевтического диапазона [5]. В особенности это касается пациентов с нарушением функции почек. Отмечено, что терапия варфарином у пациентов с фибрилляцией предсердий и хронической болезнью почек (ХБП) имеет ряд существенных трудностей и недостатков. Это подтверждают данные регистра ORBIT-AF, показавшие, что, чем более выражена степень снижения функции почек у пациентов, тем в меньшем проценте случаев

удается удерживать МНО в необходимых пределах [129, 144]. В свою очередь, недостаточный контроль за антикоагулянтной терапией приводит к увеличению риска возникновения острого нарушения мозгового кровообращения (ОНМК) – чем меньше времени у пациента МНО находится в пределах целевых значений (2,0-3,0), тем больше вероятность развития у него ишемического инсульта [176]. Кроме того, Böhm M. et al. [51] показали, что длительное превышение или, наоборот, недостижение целевых показателей МНО связано с более выраженным падением почечной функции по сравнению с пациентами, достигшими целевых значений МНО. Другой негативный момент терапии варфарином связан с кальцификацией сосудов микроциркуляторного русла почек, приводящей в итоге к снижению скорости клубочковой фильтрации (СКФ) [174, 175, 182].

Осложнено определение волчаночного антикоагулянта (ВА) у пациентов, получающих АВК [17], из-за искажения коагуляционных тестов, индуцируемых антикоагулянтом, что ведет к удлинению всех фосфолипидзависимых клоттинговых тестов и получению ложноположительных результатов [127].

Трудности подбора индивидуальной дозы варфарина, необходимость постоянного лабораторного контроля [30, 135], выраженная кумулятивность, способность вызывать депрессию не только факторов свертывания, но и противосвертывающего потенциала крови с развитием «рикошетных» тромбозов – все это послужило поводом для разработки других эффективных и безопасных антикоагулянтов.

1.3 Новые оральные антикоагулянты

В последние годы получили признание новые оральные антикоагулянты, действующие на отдельные энзимы коагуляционного каскада, такие как прямой ингибитор тромбина или активированного фактора X (рисунок 2) [179].

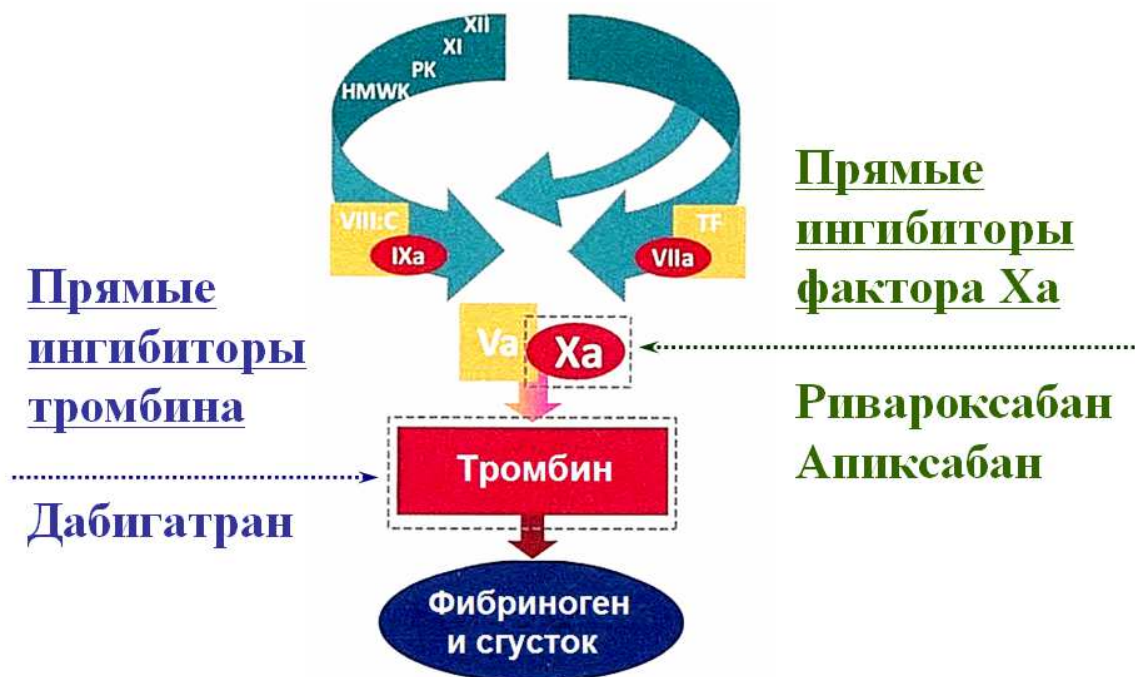


Рисунок 2 – Принцип ингибиторного действия новых оральных антикоагулянтов [179]

Целью разработки новых оральных антикоагулянтов был поиск «идеального антикоагулянта» [92], имеющего высокую комплаентность пациентов и обеспечивающего высокую эффективность и безопасность терапии. В отличие от варфарина НОАК ингибируют какой-либо один конкретный фактор в коагуляционном каскаде. В настоящее время выделяют 2 мишени ингибиции: тромбин или активированный фактор X [178]. После апробации НОАК для профилактики тромбозных осложнений (ТЭО) при ортопедических операциях по замене тазобедренного или коленного суставов [56, 167] была доказана их эффективность для лечения венозного тромбоза и для профилактики инсультов при неклапанной фибрилляции предсердий. По результатам исследований НОАК также эффективны в терапии ТЭО, как и антагонисты витамина К, но имеют сниженный риск возникновения геморрагических осложнений [161]. Прямые ингибиторы тромбина и фXa имеют определенное преимущество перед препаратами гепарина, которые, как известно,

широко используются для лечения и профилактики ТЭЗО [114]. В отличие от препаратов гепарина НОАК не связывают тромбоцитарный фактор 4 [179].

НОАК назначаются в фиксированных дозах и не требуют лабораторного контроля системы гемостаза [41]. Оценка отдельных параметров гемостаза может быть необходима в случае большого кровотечения или неотложных операций. Однако прием прямых антикоагулянтов может значительно изменять результаты общепринятых коагуляционных тестов, приводя к некорректной их интерпретации, особенно при применении в высоких дозах или при исследовании образца крови с пиковой концентрацией препарата. В связи с этим рекомендуется, чтобы лаборатории учитывали чувствительность тестов для каждого НОАК [40, 120]. Учитывая предсказуемую фармакодинамику и фармакокинетику новых антикоагулянтов, производители указывают, что лабораторный мониторинг терапии с использованием НОАК не требуется [90]. Однако случаи тромботических и геморрагических осложнений у пациентов, принимающих НОАК, могут свидетельствовать о необходимости оценки антикоагулянтного действия данных препаратов.

1.3.1 Прямые ингибиторы тромбина. Дабигатран

Действие прямых ингибиторов тромбина, одним из которых является дабигатран, направлено на связывание активного каталитического участка тромбина как в свободном, так и в связанном состоянии.

Как указывалось выше, тромбин играет центральную роль в системе гемостаза: активирует факторы свертывания V, VIII и XI, переводит растворимый фибриноген в фибрин, стимулирует тромбоциты и стабилизирует фибриновый сгусток за счет активации фактора XIII [6]. В комплексе с тромбомодулином тромбин участвует как в активации протеина C [8], способствуя работе системы физиологических антикоагулянтов, так и в угнетении фибринолиза за счет действия активируемого тромбином ингибитора фибринолиза (TAFI) [66]. Тромбин потенцирует эффект эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) [8]

– специфического эндотелиального митогена, инициирующего ангиогенез, медиатора эндотелиальной клеточной пролиферации и миграции. Связанный тромбин, который резистентен к ингибции антитромбином, способствует ангиогенезу и заживлению тканей в месте повреждения. Действие тромбина на сосудистую проницаемость содействует отеку, ассоциированному с воспалением [111].

Таким образом, с одной стороны, тромбин усиливает гемостатические реакции путем активации факторов свертывания крови и тромбоцитов, а с другой – способствует работе системы естественных антикоагулянтов. Нарушение существующего в физиологическом состоянии баланса между про- и антикоагулянтами с увеличением генерации тромбина создает условие для развития тромбоза. Инактивация избыточного количества тромбина путем назначения прямых его ингибиторов, таких как дабигатран, патофизиологически обосновано.

Дабигатран поступает в организм в виде пролекарства – дабигатрана этексилата, который, гидролизуясь *in vivo*, превращается в активный метаболит с помощью цитохромов (СYP). Ферменты P450 или другие оксидоредуктазы не участвуют в протеолитических реакциях, которые превращают двойное пролекарство дабигатран этексилат в активный лекарственный дабигатран [162]. Следовательно, взаимодействие дабигатрана с препаратами, метаболизируемыми системой цитохромов, будет низким. Активная форма начинает действовать сразу с достижением пика концентрации в плазме и максимального антикоагулянтного эффекта через 2-3 часа. $T_{1/2}$ составляет 12-14 часов у здоровых субъектов. Обследование пациентов, получавших дабигатран для профилактики ТЭО при эндопротезировании тазобедренного сустава или ФП, показывает прямую корреляцию между концентрацией препарата в плазме и степенью антикоагулянтного эффекта [65, 73, 134]. Препарат принимается в фиксированных дозах, около 80% выводится неизмененным почками, остаток элиминируется с желчью [162]. В коррекции дозы нуждаются пациенты с нарушением функции почек. У пациентов с умеренным (клиренс креатинина (CL_{CR}) менее 50 мл/мин) или

тяжелым ($CL_{CR} < 30$ мл/мин) снижением фильтрационной функции почек процесс выведения замедляется и повышается концентрация дабигатрана в плазме. Прямой ингибитор тромбина противопоказан пациентам с тяжелой почечной недостаточностью ($CL_{CR} < 30$ мл/мин) [80, 97]. Повышение концентрации препарата в сыворотке крови в 3 раза отмечают при CL_{CR} в пределах 30 – 50 мл/мин по сравнению с лицами с неизменной функцией почек, а также у лиц с сопутствующей терапией амиодороном и верапамилом [5]. Так как дабигатрана этексилат является субстратом для транспортной молекулы Р-гликопротеина, одновременное применение ингибиторов Р-гликопротеина (амиодарона, верапамила, хинидина, кетоконазола для системного применения или кларитромицина) приводит к увеличению концентрации дабигатрана в плазме крови [137]. При использовании дабигатрана этексилата с дигоксином, являющимся субстратом Р-гликопротеина, фармакокинетического взаимодействия не наблюдалось [125]. Ни дабигатран, ни его пролекарство не являются клинически значимыми ингибиторами Р-гликопротеина. Предупреждают о необходимости избегать одновременного применения дабигатрана этексилата и индукторов Р-гликопротеина (рифампицина, зверобоя продырявленного, карбамазепина) [46, 62], поскольку сочетание этих препаратов приводит к снижению концентрации дабигатрана в плазме крови, что способствует уменьшению эффективности терапии. На действие препарата практически не влияет прием пищи [132]. Продукты питания увеличивают время возникновения пиковых уровней препарата примерно на 2 часа без влияния на максимальную концентрацию антикоагулянта в плазме. Одним из важных вопросов при лечении дабигатраном является опасность развития кровотечений при проведении оперативного вмешательства или инвазивной процедуры. Оперативное вмешательство требует временного прекращения приема препарата [59].

Лабораторный контроль дабигатрана достаточно сложен из-за отсутствия специфичных тестов для оценки антикоагулянтного действия препарата. Дабигатран пролонгирует активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ) больше, чем протромбиновое время. Изменение АПТВ под действием

дабигатрана коррелирует с концентрацией препарата, плато АПТВ начинается при концентрации выше 200 нг/мл [57, 59, 64, 74, 94]. Значение АПТВ может варьировать в зависимости от типа коагулометра и чувствительности используемых реагентов. В зависимости от реагентов, от 15% до 35% пациентов с уровнем дабигатрана в плазме выше 100 нг/мл имеют нормальное значение АПТВ, что расходится с руководством Британского Комитета по стандартам в гематологии, где указано, что при концентрации дабигатрана в плазме выше 100 нг/мл АПТВ неизменно удлиняется [40, 120]. Изменение АПТВ может обеспечивать определение антикоагулянтной активности дабигатрана, но непригодно для точной количественной оценки антикоагулянтного эффекта, особенно при высокой концентрации препарата [133]. АПТВ не позволяет надежно отличить терапевтический уровень дабигатрана от субтерапевтического [130]. Несмотря на эти ограничения, АПТВ может быть полезным в определении избыточной антикоагулянтной активности, хотя изменение АПТВ в течение контролируемой терапии должно быть интерпретировано с осторожностью. Очень высокое значение АПТВ должно повторяться или подтверждаться другими тестами, такими как экариновое или эхитоксовое (при использовании отечественных реагентов) [10] время свертывания (ЭВС), разведенное тромбиновое время (рТВ) – Hemosclot. Значение ЭВС линейно коррелирует с уровнем дабигатрана в плазме в широком диапазоне концентраций [110]. Точность показаний теста может быть снижена при уровне препарата ниже 50 ng/ml и выше 500 ng/ml. Использование ЭВС в клинической практике затруднено из-за отсутствия стандартизации, ограниченной доступности теста и изменений чувствительности дабигатрана в зависимости от партии экарина [31]. Тромбиновое время (ТВ) является достаточно чувствительным к действию дабигатрана [118]. Даже низкие концентрации препарата (от 25 ng/ml) пролонгируют его [94]. При выполнении теста Hemosclot плазма пациентов разводится нормальной плазмой в 8 раз до определения ТВ [157]. Разведенное ТВ демонстрирует высокую степень линейности с уровнем дабигатрана в плазме в широком диапазоне концентраций [110]. Точность теста снижается при

концентрации менее 50-100 ng/ml. Отсутствие удлинения ТВ исключает прием прямого ингибитора тромбина [40]. Оба теста – рТВ и ЭВС – высокочувствительны для измерения антикоагулянтного эффекта прямого ингибитора тромбина, но малодоступны [75].

В исследовании 18113 пациентов с ФП, принимавших фиксированные дозы (220 или 300 мг/сутки) дабигатрана в комбинации с аспирином или без него, риск больших кровотечений, ассоциированный с дозой 300 мг/сут, был сопоставим с варфарином (3,1% против 3,4%, $p=0,31$), и был значительно ниже при дозе 220 мг/сут (2,7%, $p=0,003$). Однако для обеих доз дабигатрана число случаев интракраниального кровотечения было ниже, чем на терапии варфарином [60]. У пациентов, получающих двойную антитромбоцитарную терапию клопидогрелем и аспирином, дополнительный прием дабигатрана не влиял на реактивность тромбоцитов [71]. В исследовании REMEDY была проведена оценка антикоагулянтного действия дабигатрана при длительном его использовании (в течение 36 месяцев) у пациентов с венозным тромбозом. Это исследование показало, что дабигатран в дозе 300 мг/сут эффективен, как и варфарин. Однако у пациентов на фоне терапии дабигатраном, отмечалась большая частота коронарных случаев по сравнению с пациентами, получавшими варфарин (0,9% против 0,2%, $p=0,02$) [143], что может быть обусловлено способностью прямых ингибиторов тромбина вызывать парадоксальное усиление коагуляции, предположительно, за счет нарушения активации протеина С и, как следствие, несостоятельности действия этой антикоагулянтной системы. Развитие данного осложнения связывают с различными концентрациями ингибитора тромбина в плазме. Установлено, что в присутствии низких концентраций препарата, степень ингибиции свободного тромбина, который является активатором нескольких факторов свертывания, относительно невелика, в то время как ингибиция тромбина, связанного с ТМ, достаточно выражена. Последнее ограничивает активацию РС и еще больше смещает баланс системы свертывания крови в сторону гиперкоагуляции [29]. Оценивая эффективность тромбопрофилактики НОАК при эндопротезировании ТБС, отмечено, что в

отдаленный период наблюдения (на 30-е сутки) у пациентов, принимавших дабигатран и обследованных через 1-2 дня после отмены антикоагулянта, обнаружена высокая склонность к внутрисосудистому свертыванию крови [4].

Таким образом, дабигатран имеет очевидные преимущества по сравнению с АВК, избирательно ингибируя тромбин, с меньшим числом геморрагических осложнений и отсутствием необходимости рутинного лабораторного мониторинга. Несмотря на это, имеющиеся сведения о повышенной частоте коронарных случаев, вероятно, обусловленных способностью прямых ингибиторов тромбина вызывать парадоксальное усиление образования тромбина за счет нарушения активации протеина С, и противопоказания для назначения препарата пациентам с хронической болезнью почек, ограничивают спектр показаний для его применения в клинике. В этой связи представляет интерес другая группа прямых антикоагулянтов – ингибиторов активированного фактора X.

1.3.1 Прямые ингибиторы активированного фактора X. Ривароксабан

Прямые ингибиторы фХа нейтрализуют как свободный, так и связанный фактор Ха [38]. Известно, что одна молекула фХа в протромбиназном комплексе способствует образованию 1000 молекул тромбина [28, 117], следовательно, ингибитор фактора Ха обладает более физиологичным ингибирующим действием по сравнению с прямыми ингибиторами тромбина. В результате, действие ингибиторов проявляется в виде снижения уровня генерации тромбина, что ограничивает образование сгустка. В данной группе в России зарегистрированы 2 пероральных препарата: ривароксабан и апиксабан. Более ранние сроки проведения и окончания основных клинических исследований и регистрации в РФ, а также расширенный спектр показаний у ривароксабана позволили провести наиболее полную оценку действия данного препарата.

Ривароксабан быстро и конкурентоспособно связывает фактор Ха через S1 и S4 зоны, таким образом прерывается генерация тромбина [67, 102, 138, 158].

Этот процесс обратимый и высокоселективный. Наряду с этим, прямой ингибитор фХа снижает прокоагулянтную способность активированных моноцитов и макрофагов, оказывает противовоспалительную активность, блокируя секрецию воспалительных хемокинов [27, 78]. Этот эффект обусловлен ингибцией генерации тромбина [83, 115]. Ривароксабан – прямой ингибитор фактора Ха – имеет широкое терапевтическое окно, высокую приверженность пациентов, минимальное взаимодействие с продуктами питания и очень ограниченное взаимодействие с другими лекарственными препаратами [117]. Особенности фармакокинетики ингибиторов фХа является то, что препарат обладает высокой биодоступностью (до 80%), быстро абсорбируется и достигает максимальной концентрации через 1,5-4 часа после приема, 90% ривароксабана связывается с белками плазмы. $T_{1/2}$ составляет 12-13 часов у здоровых лиц. Выведение 2/3 ривароксабана осуществляется посредством метаболизма в печени, опосредованного системой цитохрома P450 (CYP3A4, CYP2J2) [123]. Только треть препарата (33%) элиминируется путем почечной экскреции неизмененного лекарственного вещества с использованием систем переносчиков P-гликопротеина – белка устойчивости к раку молочной железы. Ингибитор фХа не подавляет и не индуцирует изофермент CYP3A4 и другие важные изоферменты цитохрома. Одновременное применение ривароксабана и мощных ингибиторов изофермента CYP3A4 и P-гликопротеина, таких как азоловые противогрибковые средства – кетоконазол [86], ингибиторы протеазы вируса иммунодефицита человека – ритонавира [118], а также кларитромицина [68], эритромицина [101] и флуконазола [86] может привести к снижению почечного и печеночного клиренса [47].

В 2010 году Kubitza et al [72] оценили влияние нарушений почечной функции на фармакокинетику, фармакодинамику и безопасность применения ривароксабана в дозе 10 мг. Авторы показали, что с нарастанием почечной недостаточности клиренс ривароксабана снижался, а концентрация препарата в плазме соответственно увеличивалась: в 1,44 раза при легкой степени почечной недостаточности, в 1,52 раза – на фоне умеренной и в 1,64 раза при тяжелых

нарушениях почек по сравнению с содержанием ривароксабана в крови здоровых лиц [72]. При изучении популяций пациентов с ФП и ХБП оказалось, что в исследовании ROCKET AF, в котором сравнивались эффективность и безопасность ривароксабана и варфарина, было включено наибольшее число пациентов с ХБП с CL_{CR} менее 50 мл/мин (20,9%). Рекомендуемую низкую дозу препарата в связи со сниженной СКФ получали пациенты только в данном исследовании, в исследованиях ARISTOTLE и RE-LY низкую дозу получали многие пациенты и с нормальной функцией почек, что, несомненно, снижает доказательную базу данных исследований [5, 14]. При использовании ривароксабана у пациентов с ХБП частота больших и клинически значимых небольших кровотечений была сопоставима с частотой аналогичных кровотечений при приеме варфарина. При этом в сравнении с приемом варфарина частота смертельных кровотечений была ниже на 61%, кровотечений в жизненно важные органы – на 45% [139]. На фоне терапии ингибитором фХа отмечено более медленное ухудшение фильтрационной функции почек (УФФП) [126], снижение относительного риска инсульта и системных эмболий на 50% при отсутствии различий в частоте больших и небольших клинически значимых кровотечений в сравнении с варфарином. Примечательно, что преимущества ривароксабана были наиболее выражены у пациентов с максимальным УФФП. При сравнении критериев выбора доз препаратов, отраженных в инструкциях, наиболее простым считается назначение ривароксабана, учитывающего только клиренс креатинина, который является надежным маркером состояния функции почек [5]. Отмечают, что в коррекции дозировки нуждаются пациенты с тяжелой почечной недостаточностью, у которых CL_{CR} менее 30 мл/мин, и пациенты со сниженной функцией печени [47]. Как правило, назначение препаратов пациентам с крайне низкой или, наоборот, избыточной массой тела может требовать изменения дозы. Однако, согласно полученным данным, эффект ривароксабана в дозе 10 мг у здоровых мужчин и женщин с массой тела менее 50 и более 120 кг, при сравнении с результатами у людей с массой тела 70-80 кг, не зависел от веса и пола [45]. Напротив, отмечена зависимость между антикоагулянтным действием

препарата и его дозой. Так, прием 5 или 30 мг ривароксабана у 12 здоровых мужчин – волонтеров приводил к снижению эндогенного тромбинового потенциала (ЕТР), индуцируемого коллагеном, в богатой тромбоцитами плазме от базовой линии на 80% и 90%, соответственно, через 2 часа после приема препарата. Значение отклонения от базовой линии показателя ЕТР, индуцированного тканевым фактором, было около 40 и 65%, соответственно. Генерация тромбина оставалась сниженной более чем на 24 часа после приема 30 мг препарата [69].

Тромбин, как известно, является сильнейшим индуктором активации тромбоцитов [117]. В связи с этим не исключена вероятность угнетения функциональной активности кровяных пластинок при лечении ингибитором фХа. При исследовании действия ривароксабана *in vitro* было показано снижение степени агрегации тромбоцитов по мере ингибиции тромбина [70, 148]. Однако проведенное исследование фармакодинамических особенностей препарата не выявило прямого действия ривароксабана на кровяные пластинки [42]. В частности, он не влиял на активацию и агрегацию тромбоцитов в присутствии антител *in vitro* при гепарин-индуцированной тромбоцитопении и не стимулировал высвобождение тромбоцитарного фактора 4 из кровяных пластинок или связывание тромбоцитарного фактора 4 [147]. Чрезмерная активации тромбоцитов является неблагоприятным фактором, повышающим опасность тромбообразования [1, 13, 22,]. Для вторичной профилактики атеросклеротических случаев у пациентов после острого коронарного синдрома (ОКС) с повышенными сердечными маркерами ривароксабан назначают в комбинации с ацетилсалициловой кислотой (АСК) и/или тенопиридинами, такими как клопидогрел или тиклопидин [42, 105]. Имеющиеся неоднозначные данные об изменении функциональной активности тромбоцитов (ФАТ) при снижении генерации тромбина под влиянием ривароксабана определяют целесообразность проведения комплексной оценки гемостаза у данной категории больных для обоснования дополнительного назначения им антиагрегантных препаратов.

Эффективность и безопасность ривароксабана была оценена в рандомизированном EINSTEIN исследовании: в EINSTEIN – DVT и EINSTEIN – PE исследованиях, которые охватывали около 8000 пациентов с тромбозом глубоких вен и/или ТЭЛА. При монотерапии ривароксабаном была показана эффективность не ниже стандартной терапии, состоящей из подкожного введения эноксапарина с последующим приемом антагониста витамина К (эноксапарин – АВК), в отношении случаев рецидива венозного тромбоэмболизма через 3, 6 или 12 месяцев лечения [48]. Доказано, что ривароксабан может быть «препаратом выбора» для диагностированных ТГВ и ТЭЛА без начальной терапии низкомолекулярными гепаринами. В этих случаях ривароксабан назначают первоначально по 15 мг 2 раза в день в течение 3-х недель с последующим переводом на 20 мг 1 раз в сутки [76, 77]. Увеличения частоты кровотечений на первичном этапе так же, как и при продленном лечении, не отмечали. В исследовании X – VERT [152] частота ТЭО и различных кровотечений была сопоставима в группах варфарина и ривароксабана. В данной работе, одной из немногих, показана эффективность и безопасность НОАК при коротких схемах подготовки к электрической кардиоверсии [12].

Согласно данным пострегистрационного обсервационного исследования безопасности ривароксабана у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий, проведенного Sally Tamayo et al. [136], частота больших кровотечений соответствовала той, которая наблюдалась в исследовании ROCKET AF. Среди 39 тысяч пациентов, принимавших ривароксабан для профилактики инсульта при ФП, за период наблюдения в 24 месяца было зарегистрировано 970 случаев массивных кровотечений, что соответствует частоте 2,89 на 100 пациенто-лет (95% ДИ: 2,71-3,08) и подтверждает хороший профиль безопасности препарата. В исследовании REAFFIRM подтверждено снижение риска повторного инсульта и внутричерепных кровотечений у пациентов с ФП, принимавших ривароксабан, в сравнении с варфарином [54]. Во II фазе рандомизированного дозозависимого исследования [170] оценивали безопасность ривароксабана у пациентов, перенесших ТГВ, при приеме 10 мг

(n=119), 20 мг (n=117), 30 мг (n=121) 2 раза в день или 40 мг (n=121) 1 раз в сутки. Частота больших кровотечений в исследовании была 1,7%, 1,7%, 3,3% и 1,7%, соответственно. Обращает на себя внимание двукратное превышение частоты больших кровотечений при приеме 30 мг 2 раза в день, что соответствует максимальной суточной дозировке (60 мг), исследуемой в данной работе, но не применяемой в клинической практике.

Немаловажным аспектом в назначении НОАК является кратность приема. В исследовании Zamorano J.L. [5] было показано, что в среднем 80% пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями предпочитают однократный прием препарата в сутки, что нашло подтверждение и в других работах [24, 44]. Показано также, что пациенты, принимавшие ривароксабан по поводу неклапанной ФП, были более привержены к терапии, чем пациенты, которые получали лечение дабигатраном или апиксабаном. По результатам мета-анализа клинических исследований НОАК (дабигатран, ривароксабан, апиксабан) только для ривароксабана получены данные о снижении относительного риска коронарных событий на 22% [116], что является весомым фактором при выборе терапии для пациентов с ХБП как с наличием, так и с отсутствием ишемической болезни сердца (ИБС).

По результатам многочисленных исследований [55, 102, 149, 150, 153, 159, 160, 161] в группе прямых ингибиторов фактора Ха отмечается снижение частоты геморрагических и тромботических осложнений на фоне антикоагулянтной терапии, что обуславливает предпочтение в назначении клиницистами препаратов именно данной группы, в частности – ривароксабана.

Среди рутинных тестов для оценки действия ривароксабана наиболее чувствительным является протромбиновое время [110]. Ривароксабан пролонгирует его. Отмечается линейная зависимость между ПВ и концентрацией ривароксабана, но это не позволяет оценить уровень антикоагуляции. Точность оценки протромбинового времени у пациентов, принимающих ривароксабан, зависит от типа тромбопластина [37]. Чувствительность к ривароксабану для тромбопластина Neoplastin установлена 97,5%, для реактива Innovin – только

67,7% [89]. АПТВ на фоне терапии ривароксабаном может удлиняться, однако, менее выражено, чем ПВ. [53]. Хромогенный метод определения анти-Ха активности чувствителен и специфичен для оценки антикоагулянтного действия ингибитора активированного фактора X, но при условии использования калибровочной кривой по разведению ривароксабана. [81]. Низкие и высокие уровни антикоагулянта в плазме с использованием данной калибровочной кривой могут быть измерены с приемлемой точностью [79]. Однако этот метод определяет исключительно активность анти-Ха, но не учитывает изменение общего гемостатического потенциала крови под воздействием ингибитора фХа. Присутствие ингибитора Ха в плазме обследуемого оказывает целый ряд негативных влияний на определяемые параметры гемокоагуляции, что следует учитывать при трактовке результатов лабораторного исследования. Следует отметить, что у пациентов, принимающих ривароксабан, могут быть ложноположительные результаты при определении волчаночного антикоагулянта [108, 145]. В этом случае неправильная трактовка может стать причиной кровотечения из-за выраженной гипокоагуляции, вызванной антикоагулянтом. У пациентов, принимающих ривароксабан, активность фактора VIII, определяемая в обычных условиях может быть ложносниженной [82, 100]. Этого можно избежать, используя разведение образцов плазмы для определения активности фактора VIII, поскольку влияние препарата нивелируется с повышением разведения [82, 127].

Для широкой клинической практики наряду с общепринятыми методами исследования коагуляционного звена гемостаза важными представляются данные интегральных тестов, которые отражают функциональное состояние системы гемостаза в целом с учетом взаимодействия всех ее составляющих.

Одним из таких методов, является тест генерации тромбина (ТГТ), разработанный Nemker Н.С [11], который позволяет оценить динамику образования и инактивации ключевого энзима гемостаза – тромбина. Показатели ТГТ отражают взаимодействие между собой как про-, так и антикоагулянтных механизмов [88, 168, 173].

Стандартная постановка ТГТ без добавления рекомбинантного человеческого тромбомодулина (rh-ТМ) характеризует гемостаз с учетом влияния только антитромбина, но не оценивает вклад второго по значимости антикоагулянта – системы протеина С. В связи с этим для оценки системы гемостаза в целом используют модифицированную постановку ТГТ, которая, наряду с определением стандартных показателей генерации тромбина, предусматривает определение чувствительности к тромбомодулину по степени снижения ЕТР и Peak thrombin в плазме без и с добавлением rh-ТМ. В исследовании *in vitro* в бедной тромбоцитами [131] и богатой тромбоцитами плазме [103] показано, что влияние ривароксабана на показатели ТГТ зависит от концентрации препарата. В целом отмечается удлинение фазы инициации и уменьшение количественных показателей генерации тромбина [131]. Несмотря на большое число исследований по оценке влияния прямых ингибиторов фактора Ха на процесс генерации тромбина, до сих пор недостаточно изучены особенности их антикоагулянтного действия.

Следует отметить, что появление НОАК расширило терапевтический спектр антикоагулянтных препаратов и тем самым увеличило возможности для индивидуализации антикоагулянтной терапии. Изучение особенностей антикоагулянтного действия различных препаратов, в том числе ингибиторов активированного фактора X, может стать основой для дифференцированного подхода к назначению антикоагулянтов.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

В рамках данной работы было проведено исследование образцов плазмы крови 216 пациентов с различными тромбозными заболеваниями и осложнениями. Основную группу составили пациенты с тромбозами глубоких вен и/или тромбозом легочной артерии, рецидивирующими тромбозами поверхностных вен (156 человек), фибрилляцией предсердий (39 человек), артериальными тромбозами (21 человек). 127 пациентов получали терапию ривароксабаном, 17 пациентов – дабигатраном, 24 пациента – варфарином, 48 пациентов – антиагрегантными препаратами. В качестве контрольной группы (КГ) для теста генерации тромбина были обследованы 30 практически здоровых лиц в возрасте от 20 до 60 лет. Пациентам, принимающим ривароксабан, взятие крови проводилось через 1,5-4 часа после приема препарата (максимальная концентрация) (n=93) и через 11-15 часов (концентрация, соответствующая $T_{1/2}$) (n=34). 35 пациентам из 93 обследуемых на пиковой концентрации препарата дополнительно проводили взятие крови через 19-39 часов (на фоне минимального содержания препарата); принимающим дабигатран – через 2-4 часа после приема препарата. Пациентам, получающим варфарин и антиагрегантную терапию, взятие крови проводили независимо от времени приема препаратов.

Материалом для исследования являлась венозная кровь, образцы которой получали путем пункции локтевой вены иглой диаметром 0,9 мм, самотеком.

Для оценки коагуляционного звена гемостаза кровь стабилизировали 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. При взятии образцов крови, предназначенных для проведения теста генерации тромбина и определения активности протеина С, в качестве антикоагулянта использовали 3,2% раствор цитрата натрия в том же соотношении – 9:1. Исследования генерации тромбина, активности РС проводили в бедной тромбоцитами плазме (PPP). Образцы PPP получали путем двойного центрифугирования при 22°C: на первом этапе – в

течение 10 мин при ускорении 120g, на втором – 30 мин при 2500g. Образцы плазмы хранили в пластиковых пробирках «Эппендорф» при температуре - 70⁰С до момента проведения исследования. Для записи процесса агрегации тромбоцитов взятие крови осуществляли в полипропиленовые пробирки также через иглу с широким просветом, для стабилизации использовали 3,8% раствор (129 mM) цитрата Na с pH 7,4 в соотношении 1:4 (1 часть 3,8% раствора цитрата натрия и 4 части крови). Образцы богатой тромбоцитами плазмы (PRP) получали методом центрифугирования при 22⁰С в течение 8 минут при ускорении 150g. PRP готовили центрифугированием в течение 30 минут при 2500g. Аутологичную PRP использовали для установки 100% светопропускания на агрегометре.

2.2 Методы исследования системы гемостаза

Для характеристики коагуляционного звена гемостаза определяли общепринятые показатели коагулограммы. Часть скрининговых тестов (протромбиновый тест по Квику (ПТ по Квику), тромбиновое время, концентрация фибриногена по Клауссу) определяли на автоматическом коагулометре ACL TOP 300 (Instrumentation Laboratory, США). Индекс АПТВ, активность фактора VIII, активность АТ и РС – на автоматическом коагулометре ACL Elite Pro (Instrumentation Laboratory, США). Активность фактора VIII на фоне приема антикоагулянта определяли в плазме, разведенной 1:8 [82, 100]. Ристомицин-кофакторную активность фактора Виллебранда исследовали с помощью анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 (Solar, Беларусь) с использованием реагента “Тромбоциты человека” (“Технология стандарт” РФ). Постановка и анализ результатов ТГТ выполнялись согласно методике, предложенной Н. Hemker [49], с помощью калиброванной автоматизированной тромбинографии - САТ (Calibrated Automated Thrombinography) в бедной тромбоцитами плазме с использованием реактивов производства Thrombinoscope bv (Netherlands) в стандартной постановке – без добавления рекомбинантного ТМ (-rh-ТМ) – и в модифицированной постановке – с добавлением рекомбинантного

человеческого тромбомодулина (+rh-TM) для оценки антикоагулянтного действия системы протеина С. В обоих случаях конечная концентрация тканевого фактора [39, 166] составляла 5 пМоль, фосфолипидов – 4 мкмоль [11]. С помощью программного обеспечения Thrombinoscope^R версия 3.0.0.26 производилось построение и расчет показателей кривых генерации тромбина, включая следующие параметры тромбограмм (рисунок 3):

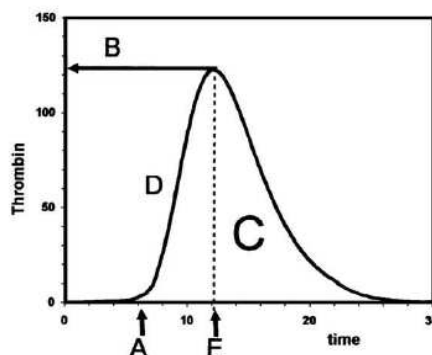


Рисунок 3 – Показатели кривой генерации тромбина

- Lag Time (LT) (мин) – lag-фаза, фаза инициации свертывания, которая отражает время, необходимое для образования стартового количества тромбина и первых нитей фибрина (A).
- ETP (нМ·мин) – эндогенный потенциал тромбина, характеризуется площадью под кривой, отражает как процесс образования тромбина, так и его инактивацию. Оценивает все количество тромбина, образованного за время наблюдения процесса свертывания (C).
- Peak thrombin (нМ) – максимальная концентрация тромбина, достигнутая в процессе его генерации (B).

Также рассчитывали чувствительность к ТМ (%), отражающую процент падения ETP или Peak thrombin после добавления в реакцию смесь rh-TM.

Оценку функциональной активности тромбоцитов проводили с помощью индуцированной агрегации по методу Борна на анализаторе АТ – 02. Метод основан на непрерывной регистрации изменений коэффициента светопропускания перемешиваемой и термостатируемой суспензии тромбоцитов,

происходящих под действием агрегирующих агентов. Использовали следующие индукторы агрегации: АДФ (5 мкМоль), ристомидин (1,0 мг/мл) и коллаген (2 мг/мл).

Для количественной оценки агрегации тромбоцитов определяли значение максимальной амплитуды (МА, %) каждой волны.

Статистическая обработка результатов, полученных в ходе исследования, проводилась с помощью программ «STATISTICA 6.0» и Microsoft Excel в среде Windows. Для описания полученных данных определяли значение медианы (Me) и 95%^{ого} доверительного интервала (ДИ). Сравнение результатов, полученных в исследуемых группах, проводили с использованием критерия Манна–Уитни для двух независимых групп. Различия считали достоверными при значении $p < 0,05$.

ГЛАВА 3 СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПАЦИЕНТОВ, ПРИНИМАЮЩИХ РИВАРОКСАБАН

3.1 Характеристика группы пациентов

Всего обследовано 127 пациентов (77 женщин и 50 мужчин) в возрасте от 16 до 83 лет (Me – 55,0, 95% ДИ: 20,3-79,9), принимающих ривароксабан по поводу рецидивирующих ТПВ, перенесенных ТГВ, сочетанных с ТЭЛА или без нее, неклапанной ФП и ФП, осложненной ишемическим инсультом. На момент обследования все пациенты получали ривароксабан 1 раз в сутки: 119 человек (93,7%) в дозе 20 мг, 8 человек (6,3%) в дозе 15 мг. Длительность терапии ривароксабаном на момент обследования у 80 пациентов (63%) составила от 2-х недель до 1 месяца, у 20 (15,7%) – 1-3 мес., у 27 (21,3%) – более 3 мес.

127 пациентов были разделены на 2 группы в зависимости от времени, прошедшего от приема препарата до момента взятия крови. Первую группу составили 93 пациента (73,7%) в возрасте от 16 до 83 лет (Me – 58,0, 95% ДИ: 22,9-81,1), обследованных через 1,5-4 часа после приема ривароксабана (на максимальной концентрации препарата в крови); вторую группу – 34 пациента (26,7%) в возрасте от 19 до 80 лет (Me – 53,0, 95% ДИ: 19,0-79,2), обследованных через 11-15 часов после приема ривароксабана (концентрация, соответствующая $T_{1/2}$).

3.2 Сравнительный анализ коагуляционных параметров пациентов в зависимости от времени приема ривароксабана

Результаты анализа коагуляционных показателей представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели коагуляционных параметров у пациентов, получающих ривароксабан, и у здоровых лиц (Me, 95% ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Показатели	Контрольная группа	Пациенты (n=127)	
		1-я группа (n=93)	2-я группа (n=34)
Индекс АПТВ	1,02 (0,91-1,10) (n=30)	1,18 ^{**◇} (0,89-1,68) (n=92)	1,02 (0,83-1,32) (n=33)
ПТ по Квику (%)	93,40 (86,09-113,97) (n=30)	30,50 ^{**◇◇} (9,73-64,49) (n=91)	54,00 ^{**} (25,50-88,50) (n=32)
Концентрация фибриногена (г/л)	2,73 2,54-2,93 (n=33)	3,28 [*] (1,91-4,46) (n=92)	2,76 (1,99-4,23)
Активность ф. VIII (%)	104,00 72,90-163,10 (n=37)	165,00 ^{**} (102,00-328,90) (n=79)	189,00 ^{**} (117,15-246,35) (n=29)
Активность ф.Виллебранда (%)	97,00 84,75-110,00 (n=68)	145,00 ^{**} (103,65-283,00) (n=79)	140,00 ^{**} (103,38-233,25) (n=29)
Активность АТ (%)	91,00 (81,05-115,95) (n=43)	107,00 ^{**◇} (82,43-123,96) (n=83)	95,00 (81,40-114,5) (n=29)
Активность РС (%)	102,00 (76,68-145,00) (n=32)	114,5 [*] (88,99-161,30) (n=48)	109,00 (79,95-141,85) (n=19)

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

◇ - $p < 0,001$, ◇◇ - $p < 0,0001$, ◇◇◇ - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей 1-й группы пациентов относительно показателей 2-й группы)

Как видно из представленной таблицы, у пациентов 1-й группы по сравнению с контрольной группой имелось значимое увеличение индекса АПТВ и снижение показателя протромбинового теста по Квику, что является лабораторным отражением эффекта ингибиции образования тромбина под действием ривароксабана. Напротив, концентрация фибриногена, а также активность факторов VIII и Виллебранда были достоверно повышены, несмотря на постоянный прием антикоагулянтного препарата. Наряду с этим отмечались

более высокие параметры активности естественных антикоагулянтов, антитромбина и протеина С, относительно показателей группы здоровых лиц, что некоторые авторы объясняют влиянием максимальных доз ривароксабана *in vitro* [108].

При анализе показателей 2-й группы пациентов, обследованных через более продолжительное время после приема антикоагулянта, увеличения индекса АПТВ не наблюдалось. При этом показатель протромбинового теста по Квику, как и в 1-й группе, был достоверно снижен по сравнению с контрольной группой, но значимо превышал таковой в 1-й группе. Активность фактора VIII и фактора Виллебранда были увеличены в равной степени в обеих группах пациентов. Концентрация фибриногена, активность естественных антикоагулянтов во 2-й группе обследованных за пределы нормальных колебаний достоверно не выходили. Однако активность антитромбина, все же, была достоверно ниже во 2-й группе, чем в 1-й, в то время как показатели активности протеина С практически не различались. Отмеченные изменения показателей гемостаза в обследуемых группах пациентов, наиболее выраженные в группе на пике концентрации препарата в плазме крови, можно объяснить действием ривароксабана.

Клинический интерес представляет индивидуальный анализ коагуляционных параметров, так как не у всех пациентов выявлены отклонения по исследуемым показателям: у 2-х пациентов из 1-й группы и 3-х из 2-й группы были нормальные показатели как ПТ по Квику, так и индекса АПТВ. Еще у 2-х пациентов имелось выраженное удлинение АПТВ, несоизмеримое с другими показателями коагулограммы. Данная особенность позволила «заподозрить» наличие волчаночного антикоагулянта, что и было подтверждено непосредственным его обнаружением при двукратном ретроспективном обследовании на фоне отмены препарата [145], и послужило основанием для исключения данных пациентов из основной выборки.

3.3 Оценка состояния гемостаза у пациентов, получающих ривароксабан, на основании показателей тромбограммы

Наряду с определением отдельных гемокоагуляционных показателей для оценки коагуляционного звена у пациентов, принимающих ривароксабан, были исследованы параметры интегрального теста, отражающего динамику генерации тромбина в целом с учетом взаимодействия коагуляционных и антикоагулянтных факторов.

Результаты анализа показателей тромбограмм пациентов с тромбоемболическими заболеваниями и осложнениями на фоне лечения ривароксабаном представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели тромбограмм пациентов, получающих терапию ривароксабаном, и здоровых лиц (Me, 95%^{ый} ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Показатели	Контрольная группа (n=30)	Пациенты (n=127)	
		1-я группа (n=93)	2-я группа (n=34)
ETP (нМ·мин)	1756,00 (1220,55-2159,85)	861,44 ^{***} ^{◇◇} (375,49-1558,80) (n=93)	1298,40 ^{***} (897,40-1801,62) (n=33)
Peak thrombin (нМ)	293,00 (198,70-376,17)	42,33 ^{***} ^{◇◇} (14,29-92,14) (n=90)	84,50 ^{***} (49,11-167,25) (n=30)
LT (мин)	3,00 (2,00-3,88)	5,05 ^{***} [◇] (3,51-7,23) (n=91)	4,30 ^{***} (2,86-6,02) (n=32)

Обозначения параметров тромбограмм приведены в главе «Методы исследования» (глава 2.2)

*** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

◇◇ - $p < 0,0001$, ◇ - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей 1-й группы пациентов относительно показателей 2-й группы)

Как видно из данных, представленных в таблице 3, прием ингибитора фХа сопровождался выраженными гипокоагуляционными изменениями в обеих обследуемых группах пациентов, что подтверждалось пролонгацией образования тромбина и снижением его количественных характеристик.

Наибольшие изменения исследуемых параметров характеризовали пациентов 1-й группы, обследованных на фоне максимальной концентрации антикоагулянта в кровотоке. Количественные показатели генерации тромбина – эндогенный потенциал тромбина и его максимальная концентрация (ETP и Peak thrombin) – были снижены, а время до начала генерации тромбина (Lag Time, LT) увеличено относительно значений контрольной группы с высокой достоверностью.

Для пациентов 2-й группы также было характерно значимое по сравнению с группой здоровых лиц изменение параметров тромбограммы (ETP, Peak thrombin, LT). Однако сравнение показателей тромбограмм пациентов, обследованных на пике концентрации ривароксабана в плазме крови, и пациентов, обследованных через 11-15 часов после приема препарата, выявило выраженную разницу между ними. Как видно из таблицы 3, 1-я группа пациентов характеризовалась более значимыми гипокоагуляционными изменениями: достоверно более низкие значения количественных параметров генерации тромбина (ETP и Peak thrombin), и замедление начала его образования (LT) по сравнению со значениями 2-й группы.

Несмотря на выраженные гипокоагуляционные изменения, установленные для каждой группы обследованных пациентов, индивидуальный анализ выявил некоторые особенности. Оказалось, что далеко не у всех пациентов в обеих группах одновременно значимо снижались количественные параметры генерации тромбина. Проведенный индивидуальный анализ параметров ТГТ показал, что у 13 пациентов из 1-й группы (14%) и у 16 – из 2-й (47%) значения ETP не выходили за пределы нормальных колебаний. Результаты показателей тромбограмм у пациентов с нормальными значениями ETP представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Показатели тромбограмм пациентов с нормальными значениями ЕТР на фоне терапии ривароксабаном и здоровых лиц (Me, 95%^{ый} ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Показатели	Здоровые лица (n=30)	Пациенты (n=29)	
		1-я группа (n=13)	2-я группа (n=16)
ЕТР (нМ·мин)	1756,00 (1220,55-2159,85)	1362,59* (1233,04-1880,22)	1451,36* (1247,99-1767,70)
Peak thrombin (нМ)	293,00 (198,70-376,17)	78,20*** (65,68-122,40)	87,95*** (67,58-158,47)

Обозначения параметров тромбограмм приведены в главе «Методы исследования» (глава 2.2)

* - $p < 0,01$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Несмотря на то, что у каждого из пациентов рассматриваемых групп индивидуальные значения ЕТР укладывались в пределы нормальных колебаний, значения этого параметра в обеих группах были достоверно ниже, чем в группе здоровых лиц. Степень значимости различия, однако, была меньшей, чем при сравнении обеих групп в целом. Наряду с этим, показатели Peak thrombin по-прежнему оставались значительно сниженными относительно значений здоровых лиц, что подтверждает отмеченную большую чувствительность параметра Peak thrombin для количественной характеристики генерации тромбина [37]. Оценивая генерацию тромбина у пациентов, получающих терапию ривароксабаном, некоторые авторы также показали, что препарат значительно снижает генерацию тромбина и антикоагулянтный эффект отражается на всех параметрах тромбограммы. Однако в ряде случаев было отмечено, что показатель ЕТР может значимо не меняться, что объясняют удлинением процесса генерации тромбина [37, 104].

Особый интерес с точки зрения диагностической значимости показателей тромбограммы для характеристики состояния системы гемостаза представлял индивидуальный анализ результатов обследования пациентов, имевших нормальные значения индекса АПТВ и ПТ по Квику (таблица 5).

Таблица 5 – Индивидуальный анализ показателей ЕТР и Peak thrombin пациентов, имеющих нормальные значения индекса АПТВ и ПТ по Квику

Показатели	Здоровые лица (n=30)	Пациенты (n=5)				
		1-й пац-т	2-й пац-т	3-й пац-т	4-й пац-т	5-й пац-т
Индекс АПТВ	1,02 (0,91-1,10)	1,00	0,95	0,84	0,96	0,98
ПТ по Квику (%)	93,40 (86,09-113,97)	88,50	87,00	86,00	86,00	96,00
ЕТР (нМ·мин)	1756,00 (1220,55-2159,85)	1231,60	1864,27	896,59	1611,36	931,60
Peak thrombin (нМ)	293,00 (198,70-376,17)	78,70	134,35	96,85	111,86	81,60

Как видно из представленных в таблице 5 данных, у 1-го и 2-го пациентов, обследованных через 1,5-4 часа после приема ривароксабана, на фоне нормальных показателей общепринятых коагуляционных тестов (индекса АПТВ и ПТ по Квику) значения ЕТР не выходили за пределы нормы. Наряду с этим, показатель Peak thrombin был значительно снижен относительно значений контрольной группы. У 3-го, 4-го и 5-го пациентов, которые обследовались через 11-15 часов после приема антикоагулянтного препарата, общепринятые коагуляционные параметры также не отличались от нормы, в то время как показатели ЕТР и Peak thrombin у 3-го и 5-го пациентов были значительно угнетены. Лишь у 4-го пациента показатель ЕТР не выходил за границы нормы, но Peak thrombin, также как у всех предыдущих пациентов, был значительно ниже значений здоровых лиц.

Полученные результаты подтверждают отмеченный ранее факт, что показатели общепринятых коагуляционных тестов, в отличие от теста генерации тромбина, не всегда отражают не только склонность к гиперкоагуляции, но и степень угнетения генерации тромбина под действием ривароксабана [53, 104, 110].

3.4 Изменение антикоагулянтного действия ривароксабана на протяжении суток

Практические рекомендации включают назначение ривароксабана при продленной терапии ТЭЗО один раз в сутки. С учетом фармакокинетических особенностей препарата ($T_{1/2}$) возникает вопрос: обеспечивает ли однократный прием ривароксабана стабильную гипокоагуляцию в течение суток? Каков уровень снижения генерации тромбина на пике концентрации препарата в крови, и нет ли всплеска тромбинемии через сутки после последнего приема? За счет каких механизмов обеспечивается достаточный антикоагулянтный эффект на протяжении суток?

Для решения данных вопросов нами была исследована динамика ингибиции генерации тромбина на протяжении суток на фоне приема ривароксабана у 35 пациентов (37,6%) из 93, 16 женщин и 19 мужчин в возрасте от 25 до 79 лет (Me – 57,00, 95% ДИ: 28,60-77,20). Взятие крови осуществлялось двукратно: на пиковой концентрации препарата в плазме крови – через 1,5-4 часа после приема, и на минимальной концентрации препарата – через 19-28 часов у 27 пациентов и через 30-39 часов у 8 пациентов после последнего приема ривароксабана.

В таблице 6 представлены показатели тромбограмм на фоне максимальной концентрации препарата (при обследовании пациентов через 1,5-4 часа после приема ривароксабана) и при минимальном содержании ингибитора фХа в плазме крови (при обследовании пациентов через 19-28 и 30-39 часов после приема препарата).

Таблица 6 – Показатели тромбограмм пациентов через 1,5-4, 19-28 и 30-39 часов после приема ривароксабана и здоровых лиц (Me, 95% ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Показатели	Контрольная группа (n=30)	Пациенты после приема ривароксабана		
		через 1,5-4 часа (n=35)	через 19-28 часов (n=27)	через 30-39 часов (n=8)
ETP-rh-ТМ (нМоль*мин)	1756,00 (1220,55-2159,85)	861,75 ^{***} (486,70-1433,65)	1528,44 (1241,81-2137,34)	2003,39 [◇] (1473,49-2441,58)
ETP+ rh-ТМ (нМоль*мин)	878,00 (538,75-1381,00)	173,22 ^{***} (75,46-363,94)	525,60 ^{**} (257,00-969,92)	1000,70 [◇] (433,08-1323,40)
Реак thrombin-rh-ТМ (нМ)	293,00 (198,70-376,17)	42,75 ^{***} (23,86-80,06)	159,83 ^{***} (99,72-257,21)	243,56 ^{◇◇} (167,73-356,52)
Реак thrombin+rh-ТМ (нМ)	174,49 (113,81-310,00)	21,97 ^{***} (7,32-52,38)	90,23 ^{***} (41,56-164,36)	174,50 ^{◇◇} (84,76-239,81)
Чувствительность к ТМ по ETP (%)	51,53 (22,93-64,40)	81,45 ^{***} (62,16-88,69)	67,15 ^{**} (41,74-81,98)	50,75 (33,80-72,36)
Чувствительность к ТМ по Реак thrombin (%)	35,78 (14,77-53,10)	50,80 ^{**} (30,58-75,80)	38,30 (15,79-66,65)	30,65 (6,55-52,51)

Обозначения параметров тромбограмм приведены в главе «Методы исследования» (глава 2.2)

“-rh-ТМ” – постановка ТГТ без добавления ТМ, “+ rh-ТМ” – постановка ТГТ с добавлением ТМ

** - $p < 0,00005$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

◇ - $p < 0,05$, ◇◇ - $p < 0,005$ (при сравнении показателей пациентов, обследованных через 30-39 часов, относительно показателей пациентов, обследованных через 19-28 часов после приема ривароксабана)

Как видно из представленной таблицы 6, на фоне максимальной концентрации ривароксабана в плазме крови (через 1,5-4 часа после приема

препарата) у пациентов имело место значимое изменение всех исследуемых показателей по сравнению со значениями контрольной группы. Показатели ЕТР и Реак thrombin в постановке ТГТ как без добавления rh-ТМ, так и в присутствии rh-ТМ, в одинаковой мере значительно снижены относительно показателей здоровых лиц. Эти данные свидетельствуют о выраженном антикоагулянтном действии препарата. В свою очередь чувствительность к ТМ, отражающая работу системы протеина С, была значительно повышена и по показателю ЕТР, и несколько в меньшей степени по показателю Реак thrombin, что указывает на повышение эффективности действия системы РС на фоне терапии ривароксабаном.

На фоне минимального содержания антикоагулянта в плазме крови, при обследовании через 19-28 часов после приема препарата, действие ингибитора фХа сохранялось, но было менее выраженным. Показатель ЕТР оставался достоверно ниже нормы только в постановке с добавлением rh-ТМ. Показатель Реак thrombin, отражающий максимальный уровень генерации тромбина, был достоверно снижен в обеих постановках при сравнении с контрольной группой. Чувствительность к ТМ, рассчитанная по показателю ЕТР, превышала значения контрольной группы, в отличие от показателей чувствительности, рассчитанной по Реак thrombin, где достоверных различий при сравнении с показателями здоровых лиц не выявлено. При обследовании пациентов через 30-39 часов после приема ривароксабана различий со значениями контрольной группы по показателям ЕТР и Реак thrombin без добавления и в присутствии rh-ТМ не получено, что говорит об отсутствии всплеска тромбинемии. Сравнение результатов тромбограмм, полученных через 30-39 часов, с данными пациентов, обследованных через 19-28 часов, выявило достоверное превышение значений по показателю ЕТР и, несколько в большей степени, по показателю Реак thrombin в обеих постановках. При этом чувствительность к ТМ по обоим показателям не отличалась между 2 группами, обследуемыми на фоне минимальной концентрации препарата. Полученные данные свидетельствуют о достаточной гипокоагуляции, обеспечиваемой ингибитором фХа не менее 24 часов в результате потенцированного действия системы протеина С. Однако, несмотря на

факт длительной сохранности ингибиторного действия препарата, степень выраженности его антикоагулянтного действия снижалась в течение суток. Доказательством этому служат более высокие показатели ETP+ rh-TM, а также Реак thrombin в обеих постановках через 19-39 часов после приема препарата. В свою очередь чувствительность к ТМ по показателям ETP и Реак thrombin в группах, обследованных через 19-39 часов, была ниже, чем на фоне максимального содержания ингибитора фХа в кровотоке, но достоверно превышала значения контрольной группы.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о сохраняющемся не менее суток антикоагулянтном действии ривароксабана и подтверждают обоснованность его приема 1 раз в сутки в продленной терапии и профилактике ТЭО.

ГЛАВА 4 ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПЕРОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ

В ходе работы было обследовано 3 группы пациентов (168 человек) с тромбоэмболическими заболеваниями и осложнениями, получающих терапию варфарином (24 человека), дабигатраном (17) и ривароксабаном (127 человек). Варфарин принимали 8 мужчин и 16 женщин в возрасте от 21 до 75 лет, (Me – 42,50, 95% ДИ: 22,72-71,00). МНО находилось в пределах терапевтического интервала (2,0-3,0). Дабигатран принимали 8 мужчин и 9 женщин в возрасте от 22 до 79 лет, (Me – 61,00, 95% ДИ: 23,70-77,30) в дозировке 220 или 300 мг/сутки. Терапия ривароксабаном проводилась 127 пациентам (77 женщин и 50 мужчин) в возрасте от 16 до 83 лет (Me – 55,0, 95% ДИ: 20,3-79,9) в дозах 20 мг или 15 мг 1 раз в сутки. Все пациенты, принимающие прямой ингибитор фХа, были разделены на две группы в зависимости от времени приема препарата (описание групп дано в главе 3.1). Активность протеина С определялась у 67 (52,8%) из 127 пациентов, принимавших ривароксабан, и у всех пациентов в данном обследовании, принимавших варфарин и дабигатран. Разделения на группы при оценке результатов определения активности РС в зависимости от времени приема ривароксабана не осуществлялось, так как сравнение результатов групп пациентов между собой статистической разницы не выявило.

Оценка антикоагулянтного действия различных препаратов проводилась с помощью интегрального теста в классической постановке без добавления рекомбинантного тромбомодулина и в модифицированной с добавлением rh-TM. Как известно, оценка генерации тромбина без добавления в исследуемую систему rh-TM учитывает взаимодействие факторов прокоагулянтной и антикоагулянтной направленности [21]. В последнем случае оценивается только вклад антитромбина без учета влияния антикоагулянтной системы протеина С [26, 96, 98, 169]. Объясняется это тем, что в стандартной постановке ТГТ не чувствителен к действию системы протеина С, поскольку в исследуемой системе отсутствует эндотелиальный рецептор тромбомодулин, необходимый для активации протеина С.

Модифицированная постановка ТГТ с добавлением в реакционную смесь рекомбинантного человеческого ТМ [11] позволяет оценить работу системы гемостаза с учетом взаимодействия прокоагулянтов и основных антикоагулянтов – антитромбина и системы протеина С. Результаты оценки действия различных антикоагулянтных препаратов с помощью калиброванной тромбограммы в классической и модифицированной постановках представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Показатели тромбограмм пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, и здоровых лиц (Ме, 95% ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Показатели ТГТ	Здоровые лица (n=30)	Пациенты (n=168) на фоне приема			
		варфари на (n=24)	дабигатра на (n=17)	ривароксабана (n=127)	
				1-я группа (n=93)	2-я группа (n=34)
ЕТР–rh-ТМ (нМоль*мин)	1756,00 (1220,55-2159,85)	688,00** (324,47-1048,43)	1617,99 (978,36-2099,01)	861,44*** (375,49-1558,80)	1298,40*** (897,40-1801,62) (n=33)
ЕТР+rh-ТМ (нМоль*мин)	878,00 (538,75-1381,00)	492,00** (263,13-728,05)	1166,83* (825,58-1599,97)	160,66*** (47,32-494,05)	342,69*** (216,33-806,11) (n=31)
Реак thrombin–rh-ТМ (нМ)	293,00 (198,70-376,17)	122,30** (56,82-192,74)	268,56 (224,02-355,03)	42,33*** (14,29-92,14) (n=90)	84,50*** (49,11-167,25) (n=30)
Реак thrombin+rh-ТМ (нМ)	174,49 (113,81-310,00)	108,68** (55,36-165,66)	228,66* (191,67-298,98)	21,66*** (4,30-69,83) (n=91)	50,10*** (26,00-124,30) (n=31)
Чувствительность к ТМ по ЕТР (%)	51,53 (22,93-64,40)	20,64** (12,19-40,00)	22,30** (9,20-39,28)	81,70*** (60,23-89,77)	75,15*** (55,65-81,92) (n=32)
Чувствительность к ТМ по Реак thrombin (%)	35,78 (14,77-53,10)	9,50** (2,90-19,60)	10,00** (2,71-24,28)	53,10*** (20,65-79,08) (n=91)	40,05 (21,06-55,53) (n=32)

Обозначения параметров тромбограмм приведены в главе «Методы исследования» (глава 2.2)

“-rh-TM” – постановка ТГТ без добавления ТМ, “+ rh-TM” – постановка ТГТ с добавлением ТМ

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,0001$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Как видно из представленных в таблице 7 данных, в группе пациентов, получающих варфарин, имелось значительное падение показателей ЕТР и Реак thrombin в обеих постановках ТГТ, как без добавления rh-TM, так и с добавлением rh-TM, а также выраженное снижение чувствительности к ТМ по сравнению с контрольной группой. Полученные результаты отражают механизм действия данного препарата, в основе которого лежит снижение синтеза как про-, так и антикоагулянтных факторов свертывания [9]. Отмеченное снижение чувствительности к ТМ свидетельствует об угнетении работы системы РС у пациентов, принимающих непрямой антикоагулянт, что может быть связано со снижением продукции протеинов С и S, синтез которых зависит от витамина К. В этом случае не исключается возможность уменьшения антитромботического эффекта варфарина, в частности у больных с изначально низкой активностью указанных антикоагулянтов.

У пациентов на фоне приема дабигатрана значения ЕТР и Реак thrombin без добавления rh-TM не отклонялись от нормальных значений. В то же время, такие показатели тромбограммы, как ЕТР, и Реак thrombin, в модифицированной постановке (“+ rh-TM”) достоверно превышали значения контрольной группы наряду с резко сниженной чувствительностью к ТМ по этим показателям. Эти результаты соответствуют выводам других авторов о нарушении активации системы РС под действием прямых ингибиторов тромбина [29].

Результаты обследования группы пациентов, получающих ривароксабан, значительно отличались от таковых у пациентов двух других групп, у которых в качестве антикоагулянтов использовали варфарин и дабигатран. У пациентов, обследованных на пике концентрации ривароксабана в плазме крови, показатели ЕТР и Реак thrombin были значительно ниже относительно значений контрольной

группы, как в постановке ТГТ без добавления rh-ТМ, так и в присутствии rh-ТМ. Показатель чувствительности к ТМ значимо превышал соответствующие значения не только в группах, получающих терапию другими антикоагулянтами, но и у здоровых людей. При оценке показателей тромбограмм пациентов из 2-й группы, обследованных через 11-15 часов после приема ингибитора фХа, также выявлено значительное падение ETP и Peak thrombin и в классической постановке, и при добавлении rh-ТМ относительно значений контрольной группы. Чувствительность к ТМ по показателю ETP в этой группе, как и в 1-й на пике концентрации ривароксабана, достоверно превышала пределы нормальных колебаний, в отличие от чувствительности по параметру Peak thrombin, где статистической разницы относительно показателей контрольной группы не было получено. Однако тенденция в сторону превалирования повышенных значений чувствительности к ТМ по Peak thrombin у пациентов по сравнению со значениями здоровых лиц все же отмечалась ($p=0,058$).

Таким образом, несмотря на различный принцип действия, и варфарин, и дабигатран способствовали выраженному падению чувствительности к ТМ у пациентов, что свидетельствует об уменьшении эффективности работы системы РС. Прием ривароксабана, напротив, сопровождался значимым повышением этого показателя относительно значений здоровых лиц на фоне угнетения показателей ETP и Peak thrombin. Эта особенность может говорить не только о сохранности функции системы РС при терапии ривароксабаном, но и об усилении ее конечного эффекта [15, 19]. Можно предположить, что выявленные особенности действия системы протеина С у пациентов, получающих ривароксабан, связаны с изменением активности данного естественного антикоагулянта. В связи с этим было проведено сравнительное исследование активности протеина С у пациентов, принимающих различные антикоагулянты.

Результаты оценки активности протеина С у пациентов с ТЭЗО на фоне лечения различными антикоагулянтами представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Активность протеина С у пациентов, получающих различную антикоагулянтную терапию, и здоровых лиц (Ме, 95% ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

	Здоровые лица (n=32)	Пациенты, принимающие		
		варфарин (n=24)	дабигатран (n=17)	ривароксабан (n=67)
Активность РС (%)	102,00 (76,68-145,00)	56,40** (31,56-88,68)	109,00 (70,86-135,29)	114,00* (82,56-159,40)

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,0001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Определение уровня протеина С у пациентов, получающих варфарин, показало значительное снижение активности РС относительно группы здоровых лиц, что, как известно, обусловлено нарушением синтеза этого антикоагулянта [2, 156, 180]. При определении активности протеина С у пациентов, принимающих дабигатран, различий показателей со значениями КГ не выявлено. В группе, получающих ривароксабан, отмечено значимое повышение активности естественного антикоагулянта протеина С по сравнению с нормальными значениями, что, по-видимому, и может являться одной из составляющих, способствующих усилению работы системы протеина С на фоне терапии ривароксабаном. Выявленное потенцирование работы системы протеина С у пациентов на фоне терапии ривароксабаном может свидетельствовать о целесообразности применения данного антикоагулянта для лечения ТЭЗО у пациентов с дефицитом РС и/или при наличии других особенностей, обуславливающих резистентность к активированному РС.

ГЛАВА 5 ВЛИЯНИЕ РИВАРОКСАБАНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ

Антикоагулянтное действие прямых ингибиторов фХа обусловлено нейтрализацией как свободного, так и связанного фХа, что в конечном итоге приводит к ограничению генерации тромбина [117]. Тромбин, как известно, является сильнейшим индуктором активации тромбоцитов [8]. В связи с этим не исключена вероятность угнетения функциональной активности кровяных пластинок при лечении ингибитором фХа.

Функциональная активность кровяных пластинок исследована у 169 пациентов в возрасте от 16 до 82 лет (Me – 56,7, 95% ДИ: 21,1-79,0), получающих антитромботическую терапию. Из них 89 человек (36 мужчин и 53 женщины) получали только ривароксабан, 48 (19 мужчин и 29 женщин) – антиагрегантные препараты (ацетилсалициловая кислота, клопидогрел) и 32 человека (15 мужчин и 17 женщин) принимали ривароксабан в комбинации с антиагрегантной терапией. Показатели максимальной амплитуды агрегации тромбоцитов при воздействии различных индукторов на фоне проводимой антитромботической терапии представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Показатели функциональной активности тромбоцитов пациентов (МА, %), получающих различную антитромботическую терапию, и здоровых лиц (Me, 95% ДИ: 2,5^{ый} и 97,5^{ый} процентиля)

Индукторы агрегации	Контрольная группа (n=30)	Показатели МА (%) на фоне приема:		
		ривароксабана (n=89)	антиагрегантной терапии (n=48)	ривароксабана и антиагрегантной терапии (n=32)
АДФ 5 мкМоль	31,1 (22,1 – 41,1)	28,6 (23,5 – 40,0)	30,1 (19,5 – 39,9)	27,2* (21,1 – 35,3)
Ристомицин 1,0 мг/мл	30,9 (23,4 – 39,6)	31,9 (23,7 – 41,9)	34,8* (27,0 – 39,8)	32,2 (19,5 – 49,7)
Коллаген 2,0 мг/мл	44,6 (32,7 – 53,7)	59,7* (22,0– 90,1)	6,0** (2,4 – 20,7)	6,6** (2,4 – 25,0)

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,0001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Как видно из данных, приведенных в таблице 9, в группе пациентов, получающих только ривароксабан, реакция тромбоцитов на добавление АДФ и ристомицина соответствует таковой в контрольной группе. При этом максимальная амплитуда агрегации при использовании в качестве индуктора коллагена значимо повышена относительно нормы. Отсутствие исходных сведений об активности тромбоцитов у пациентов до начала антикоагулянтной терапии (обследование проходило на фоне лечения) не позволяет сделать однозначного заключения о влиянии ривароксабана на кровяные пластинки. Несмотря на отмеченный нами факт угнетения генерации тромбина на фоне терапии ингибитором фХа, нормализации агрегации тромбоцитов не происходило. В группе пациентов, находящихся на антиагрегантной терапии, как и ожидалось, установлено значительное падение МА при индукции коллагеном. Агрегация под действием АДФ не отличалась от показателей КГ. Значения МА при записи процесса агрегации с ристомицином несколько превышали нормальные, не выходя при этом за рамки референтного интервала. Аналогичные изменения активности тромбоцитов выявлены и при обследовании пациентов, получающих антикоагулянтную терапию в сочетании с антиагрегантной: выраженное угнетение агрегации под действием коллагена и практически нормальные значения при записи с АДФ и ристомицином. Сравнение результатов максимальной амплитуды двух последних групп не выявило статистически значимых различий при записи ни с одним из индукторов, что может говорить об отсутствии влияния ингибитора фХа на функциональную активность тромбоцитов.

Целесообразность назначения антикоагулянтной терапии варфарином в сочетании с антиагрегантной (АСК) была показана в исследовании WARIS-2 у пациентов, перенесших ОКС. Риск развития сосудистых событий при комбинированной терапии снизился на 29% ($p < 0,0001$). Эти данные позволили сделать вывод о том, что сочетание АСК с непрямым антикоагулянтом (варфарином) оправдано у пациентов высокого риска сосудистых осложнений [36, 177]. О преимуществе назначения антиагрегантной терапии одновременно с

антикоагулянтной, в частности с ривароксабаном, у пациентов с аналогичной патологией, свидетельствуют и данные Mega JL et al. [150]. На фоне сочетанной терапии авторы наблюдали значительное снижение риска и смертности от кардиоваскулярных случаев, инфаркта миокарда и инсультов, но при этом отметили повышение риска и частоты интракраниальных кровоизлияний и больших, но не фатальных кровотечений.

Таким образом, исследование функциональной активности тромбоцитов показало, что ривароксабан не оказывает значимого влияния на функциональное состояние кровяных пластинок, но может сочетаться с гиперагрегацией, что является показанием для назначения антиагрегантной терапии. Назначение антиагрегантных препаратов в дополнение к антикоагулянтной терапии пациентам, у которых обнаружена высокая функциональная активность тромбоцитов в совокупности с клиническими показаниями, позволит поддерживать тромбоцитарную активность на оптимальном уровне и, тем самым, снизить опасность развития тромботических осложнений. Однако, учитывая имеющиеся сведения о повышенном риске геморрагических осложнений на фоне комбинированной терапии, необходим контроль показателей индуцированной агрегации тромбоцитов для определения функционального состояния кровяных пластинок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тромбоэмболические заболевания и осложнения – главная причина смертности во всем мире [171]. Хорошо известно, что патогенез артериальных и венозных тромбозов различный, однако оба включают в себя активацию свертывающей системы. [35, 107, 140]. Также известно, что риск прогрессирования и рецидивирования тромбоэмболических заболеваний и осложнений повышается, когда у пациента отмечается высокий уровень тромбинемии [3].

Антикоагулянты используются при широком спектре показаний для профилактики и лечения артериальных и венозных тромбозов [31, 33, 107, 140]. Более 60 лет варфарин был препаратом выбора для профилактики тромбоза у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий и искусственным клапаном сердца, для лечения рецидивирующих тромбозов у пациентов с венозным тромбоэмболизмом [89, 95, 155]. Несмотря на доказанную эффективность в терапии и профилактике ТЭЗО [30], варфарин имеет определенные ограничения [91], связанные с подбором дозы препарата, узким терапевтическим окном, кумулятивностью, необходимостью постоянного лабораторного контроля, сложностью достижения и нахождения в пределах целевых значений МНО, множественными пищевыми и лекарственными взаимодействиями [164]. Негативное влияние, оказываемое при приеме варфарина на систему естественных антикоагулянтов, которое отражается в снижении активности важных физиологических витамин К-зависимых протеинов С и S, может проявляться возникновением «рикошетных» тромбозов, ретромбозов и других тромботических осложнений [2, 156, 180], что также ограничивает спектр применения АВК.

На смену АВК пришло поколение антикоагулянтных таргет-специфических препаратов – новых оральных антикоагулянтов [85, 179], действие которых направлено на отдельные ферменты коагуляционного каскада. Выделяют группу прямых ингибиторов тромбина, к которой относится дабигатран [133], и группу прямых ингибиторов активированного фактора X, среди которых наиболее

широкое применение в клинической практике получил ривароксабан [102, 154]. Все НОАК ассоциированы с быстрым ответом и предсказуемой фармакокинетикой и фармакодинамикой [43], указанием на отсутствие необходимости лабораторного контроля [41]. Прямой ингибитор тромбина дабигатран положительно зарекомендовал себя в профилактике ТЭО при эндопротезировании тазобедренных и коленных суставов [128] и при неклапанной ФП [65, 134], снижая риск тромботических осложнений. Доказана сниженная частота геморрагических осложнений на фоне приема дабигатрана [50, 60], но при этом в некоторых исследованиях отмечено повышение коронарных случаев относительно терапии препаратами АВК [143]. Учитывая, что 80% препарата выводится почками, при установленной хронической болезни почек, когда CL_{CR} менее 30 мл/мин, назначение прямого ингибитора тромбина противопоказано [80, 97]. Имеющиеся нежелательные эффекты, обусловленные приемом дабигатрана, сузили спектр клинических показаний.

Особенностями фармакокинетики другой группы антикоагулянтов – ингибиторов фХа, а именно ривароксабана, в отличие от прямых ингибиторов тромбина, является то, что только треть препарата выводится почками [72]. В связи с этим, пациентам с тяжелой почечной недостаточностью, у которых клиренс креатинина менее 30 мл/мин, данный антикоагулянт не противопоказан. Но назначение ривароксабана такой категории пациентов должно сопровождаться коррекцией дозировки [47]. При длительном лечении и профилактике ТЭЗО ривароксабан назначают 1 раз в сутки. Однако, учитывая период его полураспада ($T_{1/2}$), равный 12-13 часам у здоровых людей, возникает вопрос, за счет каких особенностей антикоагулянтного действия однократный прием ривароксабана обеспечивает стабильную гипокоагуляцию и снижение частоты тромботических осложнений, например, по сравнению с дабигатраном [116]. Решение данного вопроса во многом зависит от разработки информативного и специфического теста для оценки гипокоагуляции, вызываемой прямым ингибитором активированного фактора X.

В ходе выполнения работы было обследовано 216 пациентов, принимающих антитромботическую терапию по поводу различных ТЭЗО. Из всего числа обследованных 168 пациентов находились на антикоагулянтной терапии, из них 127 (75,6%) принимали ривароксабан, 24 (14,3%) – варфарин, 17 (10,1%) – дабигатран. 48 пациентов получали антиагрегантные препараты (АСК, клопидогрел). Влияние прямого ингибитора активированного фактора X на состояние системы гемостаза исследовано у 127 пациентов, из которых 119 человек (93,7%) получали ривароксабан в дозе 20 мг в сутки, 8 человек (6,3%) – в дозе 15 мг в сутки. Длительность терапии у 80 пациентов (63%) составила от 2-х недель до 1 месяца, у 20 (15,7%) – 1-3 мес., у 27 (21,3%) – более 3 месяцев. Обследованные были разделены по времени, прошедшего от момента последнего приема ривароксабана, на 2 группы. Первую группу составили пациенты (n=93), обследованные через 1,5-4 часа после приема ривароксабана, то есть при максимальном содержании ингибитора в плазме крови. Во вторую группу вошли пациенты (n=34), у которых взятие крови осуществлялось через 11-15 часов после последнего приема препарата (на фоне концентрации, соответствующей $T_{1/2}$).

Анализ коагуляционных параметров в 1-й группе выявил значимые гипокоагуляционные изменения в виде увеличения индекса АПТВ, снижения протромбинового теста по Квику. Отмеченные изменения объясняются замедлением образования протромбиназы и последующей генерации тромбина под действием ингибитора активированной формы фактора X. Установлено, что наиболее чувствительным из рутинных тестов к действию ривароксабана является протромбиновый тест или протромбиновое время [110]. При этом, как показали исследования, точность определения протромбинового времени зависит от типа используемого тромбопластина [37]. Наибольшей чувствительностью к действию ривароксабана обладают Recombiplastin и Neoplastin – Plus [37], наименьшей – Innovin [89]. Однако даже использование чувствительного тромбопластина не позволяет определить степень антикоагуляции. В работе Cuker A et al. [110], описывающей измерения антикоагулянтного эффекта новых оральных антикоагулянтов, в том числе ривароксабана, отмечено, что нормальное

протромбиновое время не исключает прием ривароксабана. Однако в докладе Британского комитета по стандартам в гематологии, напротив, заявлено, что нормальное значение ПВ с большинством реагентов исключает присутствие ривароксабана в крови [40]. При оценке результатов лабораторного исследования пациентов, получающих прямой ингибитор фХа, необходимо учитывать влияние данного антикоагулянта и на другие параметры гемостаза. В частности, это касается определения активности фактора VIII, как одного из маркеров гиперкоагуляции [82, 100]. В основе определения активности фактора VIII лежит принцип АПТВ. При стандартной постановке метода увеличение показателя АПТВ у пациентов на терапии ривароксабаном может сопровождаться ложносниженными показателями прокоагулянта [82, 100]. Поэтому для нивелирования влияния антикоагулянта и получения истинного значения активности рекомендуется проводить исследование фактора VIII в разведенной плазме [82, 127]. У пациентов, обследованных нами при максимальном содержании препарата в плазме, активность фактора VIII превышала нормальные значения. Характерным для данной группы было также увеличение активности фактора Виллебранда и концентрации фибриногена. Это может свидетельствовать об имеющейся гиперкоагуляции. Активность физиологических антикоагулянтов, определяемых в данной работе, – антитромбина и протеина С – со статистической достоверностью превышала границы референтных колебаний ($p < 0,000001$ и $p < 0,01$, соответственно), что согласуется с выводами некоторых авторов [108] о влиянии максимальной концентрации ривароксабана *in vitro* на исследуемые параметры. В то же время в работе Asmis LM et al. [151] показано, что препарат не влияет на измерение активности протеина С.

В группе, обследованной через 11-15 часов после приема ривароксабана, сохранялось значимое снижение ПТ по Квику, как наиболее чувствительного из рутинных тестов к действию прямых ингибиторов активированного фактора X [53, 102]. Активность факторов VIII и Виллебранда оставались на высоком уровне, как и в 1-й группе. При этом индекс АПТВ, концентрация фибриногена, активность АТ и РС не превышали нормальные значения.

Таким образом, в 1-й группе пациентов отмечены наиболее выраженные изменения, обусловленные терапией ривароксабаном (рисунок 4). Показано снижение ПТ по Квику с высокой достоверностью не только относительно показателей здоровых лиц, но и показателей 2-й группы обследуемых ($p < 0,000001$). Сравнение показателей АТ и РС между значениями пациентов и здоровых лиц выявило превышение активности естественных антикоагулянтов только в группе с максимальным содержанием ингибитора в кровотоке. При этом имело место статистически значимое повышение активности АТ также в 1-й группе пациентов относительно значений 2-й ($p < 0,001$). В то же время, различий по показателю РС между пациентами выявлено не было ($p = 0,3$).

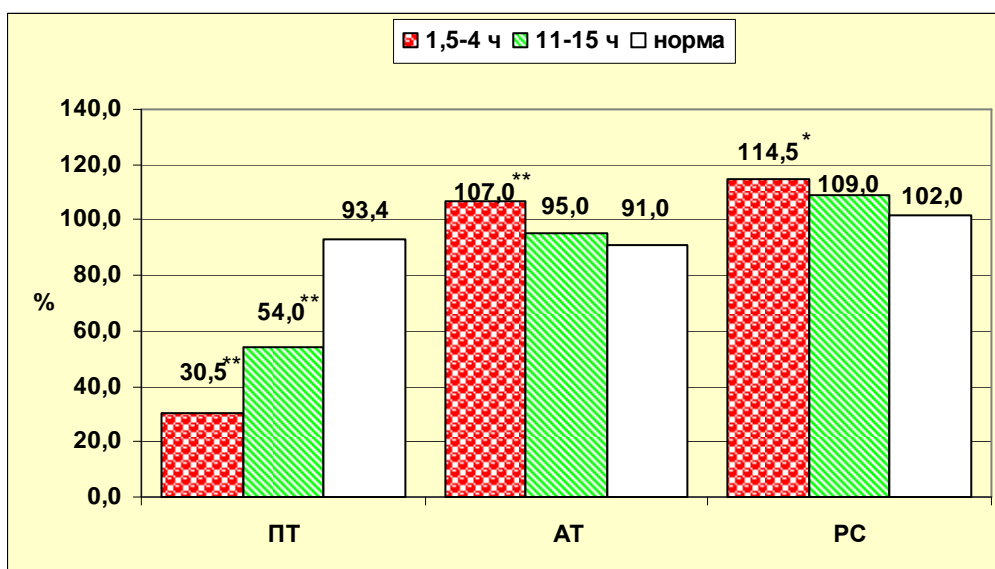


Рисунок 4 – Параметры коагулограммы пациентов, обследованных через 1,5-4 и 11-15 часов после приема ривароксабана, и здоровых лиц

ПТ – протромбиновый тест по Квику, АТ – активность антитромбина, РС – активность протеина С

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

При оценке коагуляционного звена гемостаза мы отметили, что не все обследуемые имели отклонения отдельных параметров, выявляемые при приеме ривароксабана. 5 человек имели нормальные значения индекса АПТВ и ПТ по Квику, что подтверждает сведения Cuker A et al. [110] о неспецифичности данных

тестов для оценки эффективности антикоагулянта, но может говорить о сохранной комплаентности пациентов.

Учитывая столь неоднозначные результаты общих коагуляционных параметров у пациентов на фоне лечения ривароксабаном, для оценки влияния данного препарата был использован интегральный метод, позволяющий определить уровень генерации тромбина в целом с учетом взаимодействия про- и антикоагулянтов, – тест генерации тромбина. Отдельные показатели тромбограмм, характеризующие процесс ингибции генерации тромбина, обусловленной антикоагулянтной терапией ривароксабаном у пациентов, обследованных через 1,5-4 и 11-15 часов, приведены на рисунках 5-7.

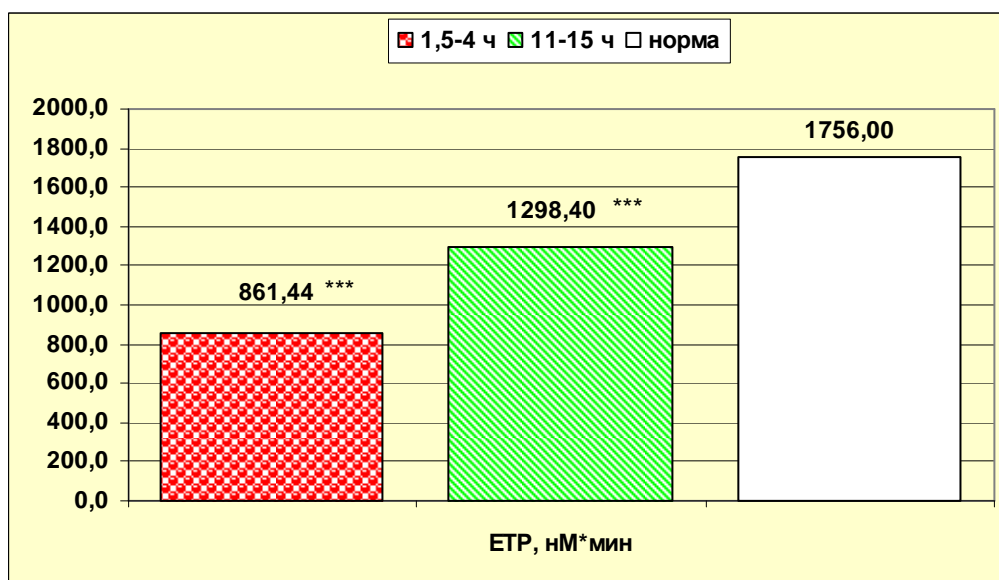


Рисунок 5 – Показатели ETP тромбограмм пациентов, получающих терапию ривароксабаном, и здоровых лиц

*** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

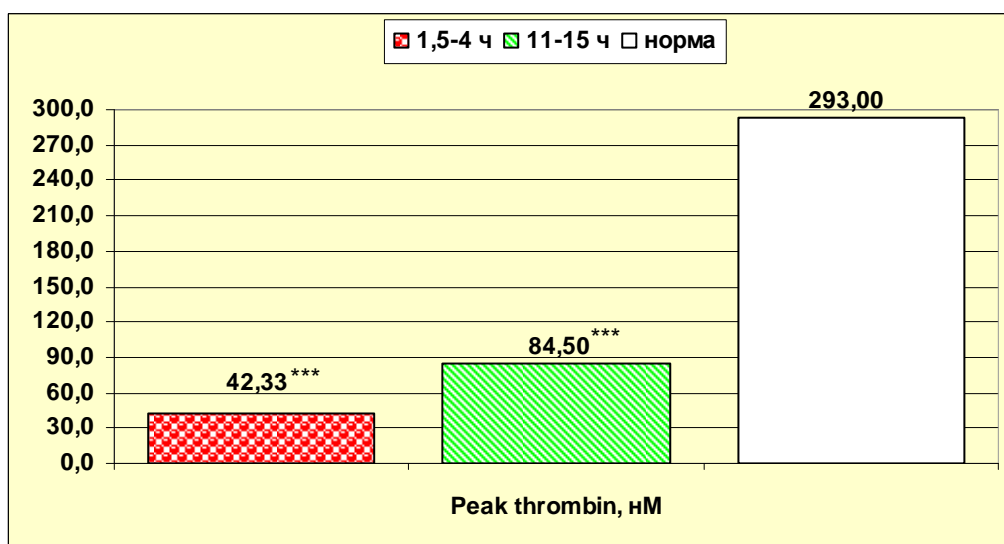


Рисунок 6 – Показатели Peak thrombin тромбogramм пациентов, получающих терапию ривароксабаном, и здоровых лиц

*** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

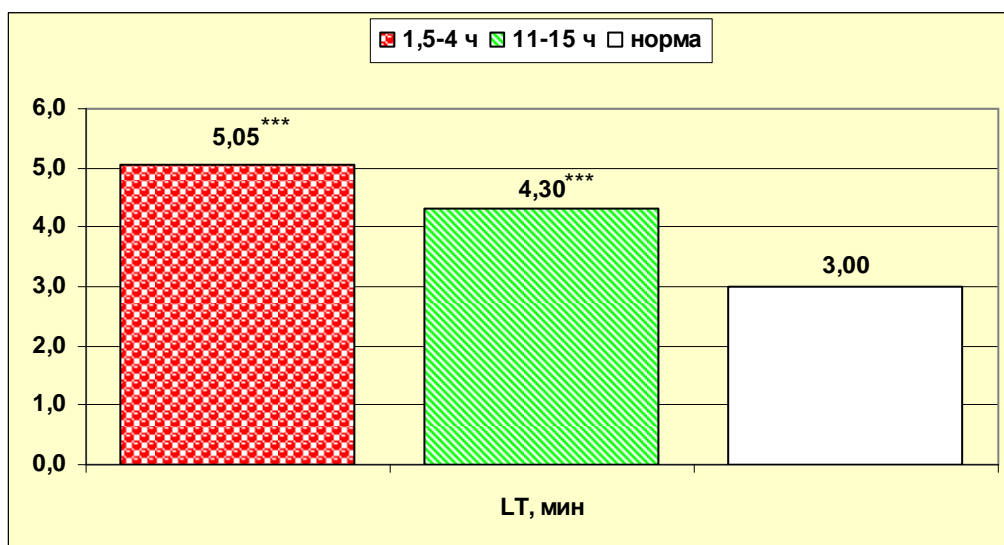


Рисунок 7 – Показатели LT тромбogramм пациентов, получающих терапию ривароксабаном, и здоровых лиц

*** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Как видно из рисунков 5-7, показатели глобального теста в классической постановке без ТМ значимо изменены: замедлена фаза инициации свертывания и

снижено количество образованного тромбина. Об этом свидетельствуют пролонгация временного показателя (LT) и выраженное снижение параметров ETP и Peak thrombin в 1-й группе пациентов относительно нормальных значений ($p < 0,000001$). Наряду с этим, для обследуемых 2-й группы также было характерно существенное падение количественных показателей (ETP, Peak thrombin) и увеличение времени, необходимого до начала генерации тромбина (LT), по сравнению со значениями контрольной группы ($p < 0,000001$). Однако выраженность гипокоагуляционных изменений преобладала у пациентов, обследуемых на максимальной концентрации препарата в плазме крови: показатель LT был повышен, а ETP и Peak thrombin – снижены с высокой достоверностью относительно значений 2-й группы ($p < 0,0001$ и $p < 0,000001$, соответственно).

Несмотря на большую информативность ТГТ по сравнению с общепринятыми лабораторными тестами, индивидуальный анализ параметров тромбограмм показал, что не у всех пациентов на терапии ривароксабаном имелись изменения, характерные для всей группы в целом. У 29 обследуемых (22,8%) (13 – из 1-й группы, 16 – из 2-й) значения ETP, несмотря на имеющееся достоверное различие со значениями КГ, не выходили за пределы референтных колебаний (Ме – 1431,97, ДИ: 1234,96-1871,12 против Ме – 1756,00, ДИ: 1220,55-2159,85) (рисунок 8).

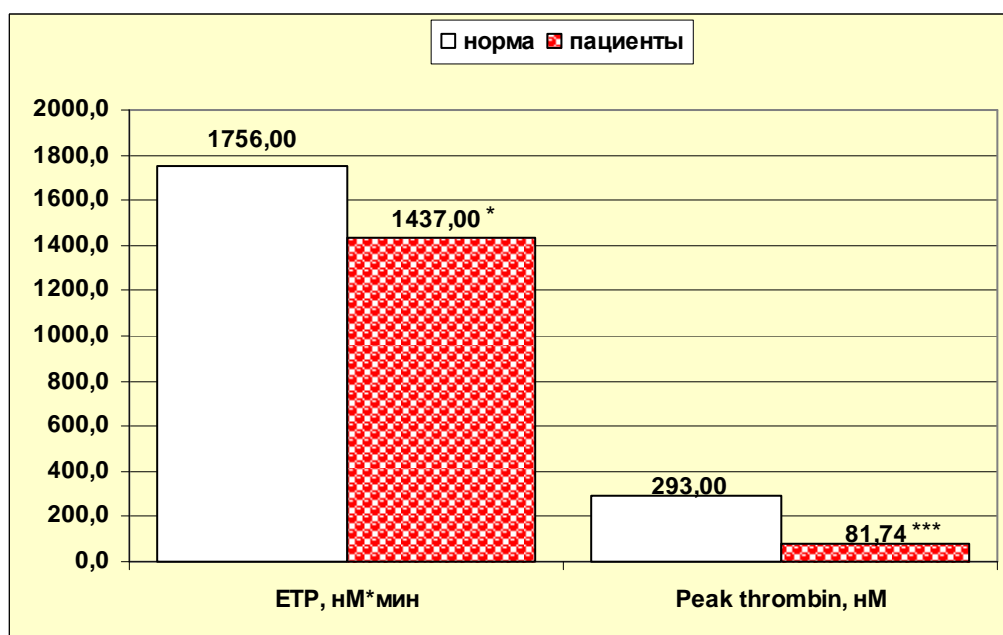


Рисунок 8 – Показатели тромбogramм пациентов с нормальными значениями ETP на фоне терапии ривароксабаном и здоровых лиц

* - $p < 0,01$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

При этом, как видно из данных, представленных на рисунке 8, показатель Peak thrombin был значительно ниже значений контрольной группы ($p < 0,000001$). Данный факт описан и другими авторами [37, 104], что подтверждает большую чувствительность показателя Peak thrombin среди количественных характеристик интегрального теста.

Более высокая чувствительность параметра Peak thrombin показана и при индивидуальном анализе результатов 5 пациентов, получающих ривароксабан, с нормальными значениями индекса АПТВ и ПТ по Квику. У 3-х пациентов из 5 значения ETP не выходили за пределы нормальных колебаний. Однако у всех 5-ти обследуемых параметр Peak thrombin был значимо снижен. Полученные результаты свидетельствуют о том, что с наибольшей информативностью действие прямого ингибитора фХа может быть оценено с помощью теста генерации тромбина [104, 131] по изменению параметра Peak thrombin [37, 104].

Как известно, в лечении и профилактике ТЭЗО ривароксабан назначается 1 раз в сутки, не учитывая 3-хнедельный курс двукратного приема в острый период,

что противоречит фармакокинетическим особенностям препарата, в частности $T_{1/2}$. Для подтверждения правомочности однократного приема ривароксабана было проведено 2-кратное обследование 35 пациентов в динамике: через 1,5-4 часа и 19-39 часов после последнего приема препарата, что соответствовало максимальному и минимальному содержанию ингибитора в плазме крови. На фоне минимальной концентрации препарата 27 пациентов были обследованы через 19-28 часов и 8 пациентов через 30-39 часов. Для решения этой задачи, помимо классической, нами была применена модифицированная постановка ТГТ – в присутствии ТМ (+rh-ТМ), учитывая нечувствительность ТГТ в стандартной постановке к действию системы протеина С. Добавление в реакционную смесь rh-ТМ, необходимого для активации протеина С [11], позволяет оценить работу системы гемостаза с учетом взаимодействия прокоагулянтов, антитромбина и системы протеина С.

Анализ параметров тромбограмм пациентов, обследованных через 1,5-4 часа, показал выраженные отклонения от значений контрольной группы (рисунок 9). Наблюдалось выраженное угнетение количественных характеристик генерации тромбина (ЕТР и Peak thrombin) как в постановке без rh-ТМ, так и в его присутствии. Чувствительность к ТМ по обоим параметрам превышала границы нормы с высокой степенью достоверности (по ЕТР $p < 0,000001$, по Peak thrombin $p < 0,00005$) (рисунок 10), что говорит о повышении эффективности действия системы РС на фоне терапии ривароксабаном [19].

Показатели, исследуемые через 19-28 часов, также отличались от нормальных значений. Параметр ЕТР был снижен исключительно при добавлении rh-ТМ ($p < 0,00005$), тогда как показатель Peak thrombin продолжал оставаться сниженным в обеих постановках теста ($p < 0,000001$), но в меньшей степени, по сравнению с группой, обследованной на пике концентрации ривароксабана (рисунок 9). Чувствительность к ТМ была достоверно повышена при расчете только по показателю ЕТР относительно значений здоровых лиц ($p < 0,00005$) (рисунок 10).

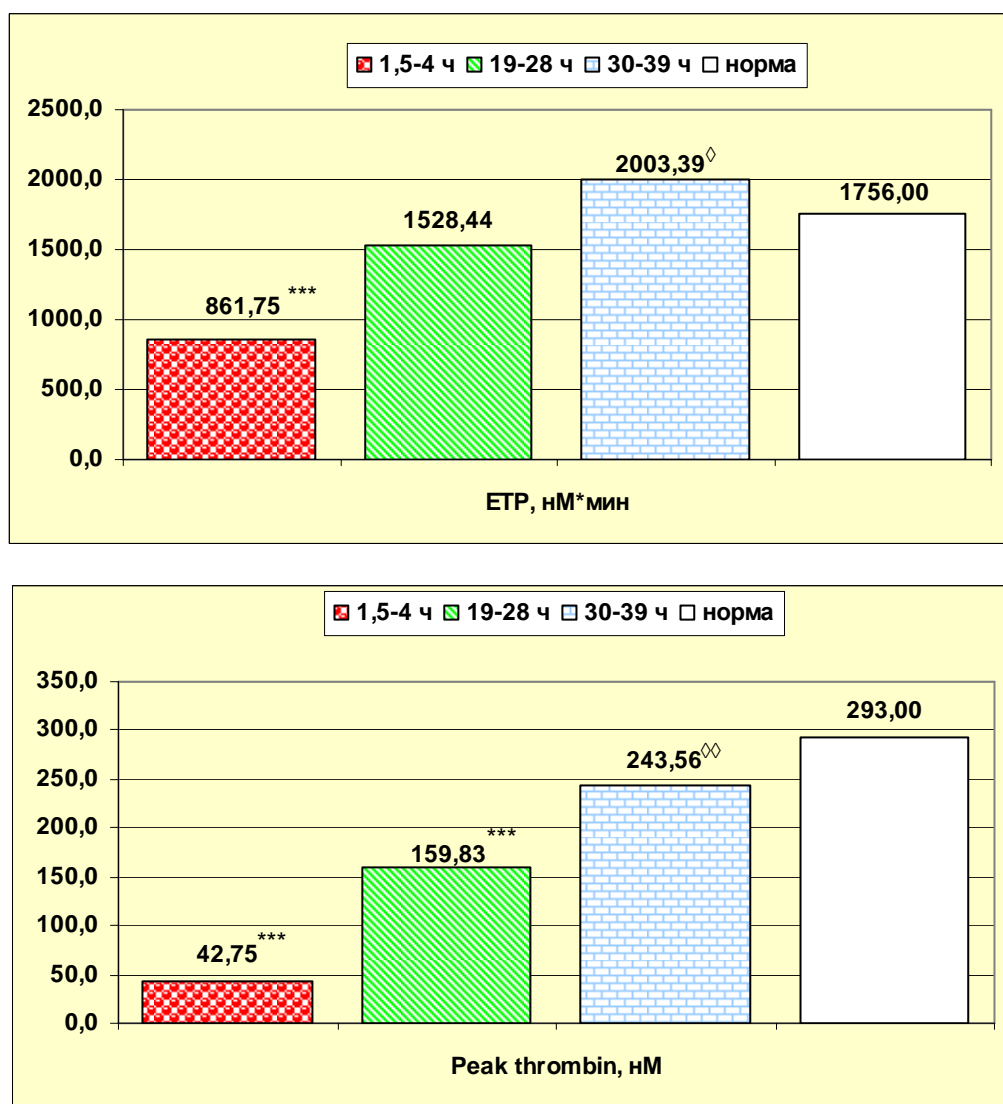


Рисунок 9 – Показатели тромбogramм пациентов через 1,5-4, 19-28 и 30-39 часов после приема ривароксабана и здоровых лиц

*** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

\diamond - $p < 0,05$, $\diamond\diamond$ - $p < 0,005$ (при сравнении показателей пациентов, обследованных через 30-39 часов, относительно показателей пациентов, обследованных через 19-28 часов после приема ривароксабана)

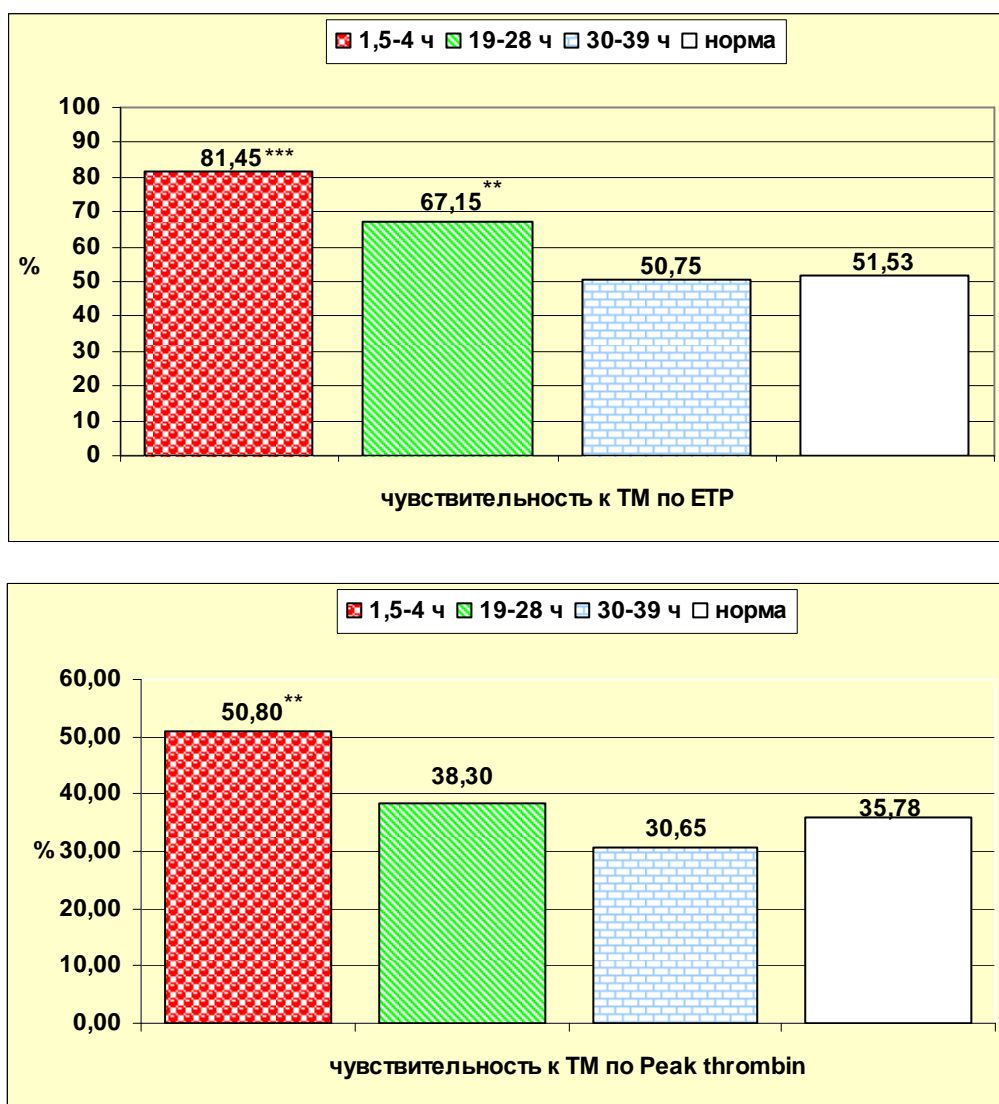


Рисунок 10 – Показатели чувствительности к ТМ пациентов через 1,5-4, 19-28 и 30-39 часов после приема ривароксабана и здоровых лиц
 ** - $p < 0,00005$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

На фоне минимального содержания ривароксабана в кровотоке, при обследовании через 30-39 часов, различий со значениями контрольной группы ни по одному из показателей, ни по ETP, ни по Peak thrombin, получено не было ($p > 0,05$), что свидетельствует об отсутствии всплеска тромбинемии. При этом выявлено достоверное различие по показателям ETP и Peak thrombin ($p < 0,05$ и $p < 0,005$, соответственно) в стандартной и модифицированной постановках, полученное в результате сравнения групп, обследованных через 30-39 и 19-28

часов (рисунок 9). Таким образом, несмотря на длительно сохраняющееся ингибиторное действие препарата, степень выраженности его антикоагулянтного действия закономерно снижалась с течением времени.

Тест генерации тромбина в стандартной и модифицированной постановках позволил выявить особенность действия ривароксабана, проявляющуюся в высокой чувствительности к ТМ, что свидетельствует об усилении работы системы протеина С. Эта исключительность, отмеченная у пациентов на фоне терапии ривароксабаном, обеспечивает оптимальный уровень антикоагуляции на протяжении не менее 24 часов и подтверждает обоснованность однократного приема препарата. В исследованиях Arachchilage DRJ et al. [146] и Graff J et al. [69] получены аналогичные результаты о поддержании антикоагулянтного действия препарата в течение 24 часов при приеме 1 раз в сутки и, соответственно, о снижении тромботического риска.

Для нас представляло интерес выявление особенностей механизма антикоагулянтного действия с помощью теста генерации тромбина не только прямого ингибитора активированного фактора X, но и антагониста витамина К – варфарина и прямого ингибитора тромбина – дабигатрана. Чтобы понять, какой из антикоагулянтных препаратов обладает преимуществом при назначении пациентам с нарушением в системе протеина С, точкой приложения настоящего исследования послужила оценка работы системы данного естественного антикоагулянта. С этой целью было обследовано 168 пациентов, получающих антикоагулянтную терапию по поводу рецидивирующих тромбозов поверхностных вен, ТГВ, ТЭЛА, для профилактики инсульта при неклапанной фибрилляции предсердий. Ривароксабан принимали 127 пациентов (75,6%), варфарин – 24 пациента (14,3%), дабигатран – 17 пациентов (10,1%).

Анализ данных тромбограмм пациентов, получающих различную антикоагулянтную терапию, выявил, что прием варфарина сопровождался выраженным падением параметров ETP и Peak thrombin без добавления и в присутствии rh-ТМ относительно значений контрольной группы ($p < 0,0001$). При этом чувствительность к ТМ, рассчитанная по обоим показателям, была

значительно снижена ($p < 0,0001$) (рисунок 11), что отражает механизм действия данного антикоагулянта в виде угнетения синтеза не только витамин К-зависимых факторов свертывания, но и протеинов С и S [2, 9, 156, 180]. Выявленные изменения свидетельствуют о нарушении работы системы протеина С при лечении варфарином.

Прием прямого ингибитора тромбина дабигатрана не вызывал ожидаемого падения количественных характеристик генерации тромбина. Значения ETP и Peak thrombin в классической постановке не отличались от референтных колебаний. Добавление rh-TM в реакционную смесь в модифицированной постановке не только не вызвало угнетения соответствующих показателей, но даже способствовало их увеличению относительно здоровых лиц ($p < 0,01$). Аналогичные данные описаны также в работе Wagenvoord et al. [163]. При этом чувствительность к ТМ, рассчитанная по ETP и Peak thrombin, была резко снижена, как и при приеме варфарина ($p < 0,0001$) (рисунок 11). Полученные результаты подтверждают выводы зарубежных авторов [29] о нарушении активации системы протеина С под действием прямых ингибиторов тромбина, способствующем возможному уменьшению антитромботического эффекта.

По результатам обследования пациентов на фоне приема ривароксабана, параметры тромбограмм значительно отличались от таковых у пациентов двух других проанализированных групп. Показатели ETP и Peak thrombin были существенно ниже относительно значений контрольной группы, как в стандартной, так и в модифицированной постановке ТГТ ($p < 0,000001$). При этом показатель чувствительности к ТМ по обоим параметрам (по ETP и по Peak thrombin) резко превышал значения здоровых лиц ($p < 0,000001$ и $p < 0,00001$, соответственно) (рисунок 11).

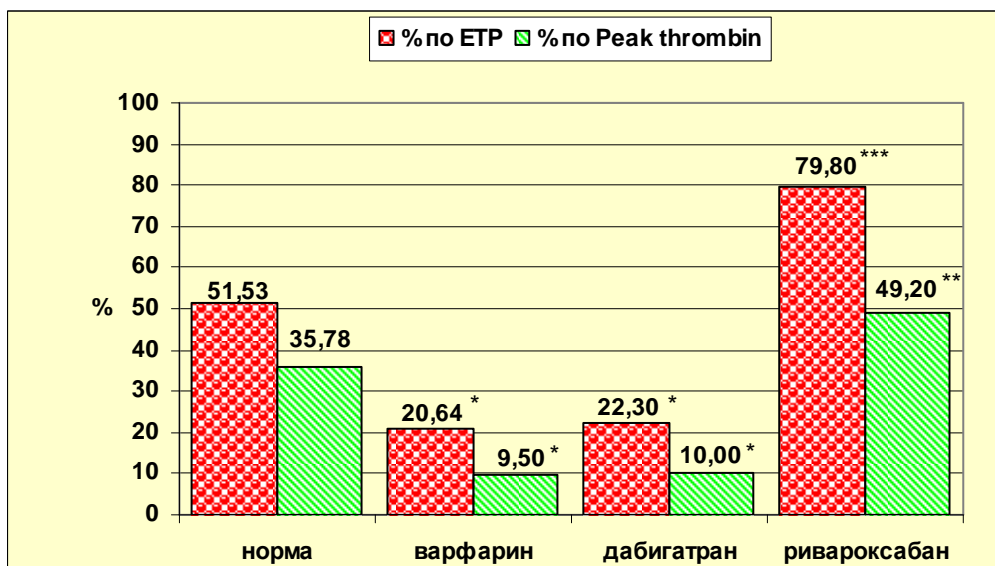


Рисунок 11 – Показатели чувствительности к ТМ пациентов, принимающих различную антикоагулянтную терапию, и здоровых лиц

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,0001$, *** - $p < 0,000001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Таким образом, несмотря на различный механизм действия описанных в работе антикоагулянтов, и антагонист витамина К, и прямой ингибитор тромбина вызывали выраженное угнетение чувствительности к ТМ у пациентов, что говорит об уменьшении эффективности работы системы РС. В отличие от варфарина и дабигатрана, ривароксабан, напротив, способствовал значимому повышению этого показателя относительно значений здоровых лиц (рисунок 11). Эта особенность свидетельствует не только о сохранности функции системы РС при терапии ривароксабаном, но и об усилении ее конечного эффекта [15, 19].

Выявленные особенности действия системы протеина С у пациентов, получающих различные антикоагулянты, могут быть связаны с изменением активности данного естественного антикоагулянта. С этой целью было проведено сравнительное исследование активности протеина С у 108 пациентов, принимающих различные антикоагулянты. Активность протеина С определялась у 67 пациентов на фоне терапии ривароксабаном, у 24 – при лечении варфарином и у 17 пациентов, получающих дабигатран.

Согласно результатам проведенного в настоящей работе сравнительного исследования уровня PC в группах, получающих антикоагулянтную терапию, относительно здоровых лиц отмечались разнонаправленные изменения (рисунок 12). У пациентов на фоне лечения варфарином выявлено значительное снижение активности PC ($p < 0,0001$), что закономерно при приеме антагонистов витамина К за счет угнетения синтеза данного естественного антикоагулянта [2, 9, 156, 180]. При этом, определение активности протеина С в группе, принимающей дабигатран, различий со значениями контрольной группы не показало ($p = 0,57$). В свою очередь у пациентов, получающих ривароксабан, отмечено достоверное превышение активности естественного антикоагулянта протеина С по сравнению с нормальными значениями ($p < 0,01$). Нельзя исключить, что повышение активности протеина С являлось одной из причин, способствующей усилению работы системы протеина С при лечении ривароксабаном.

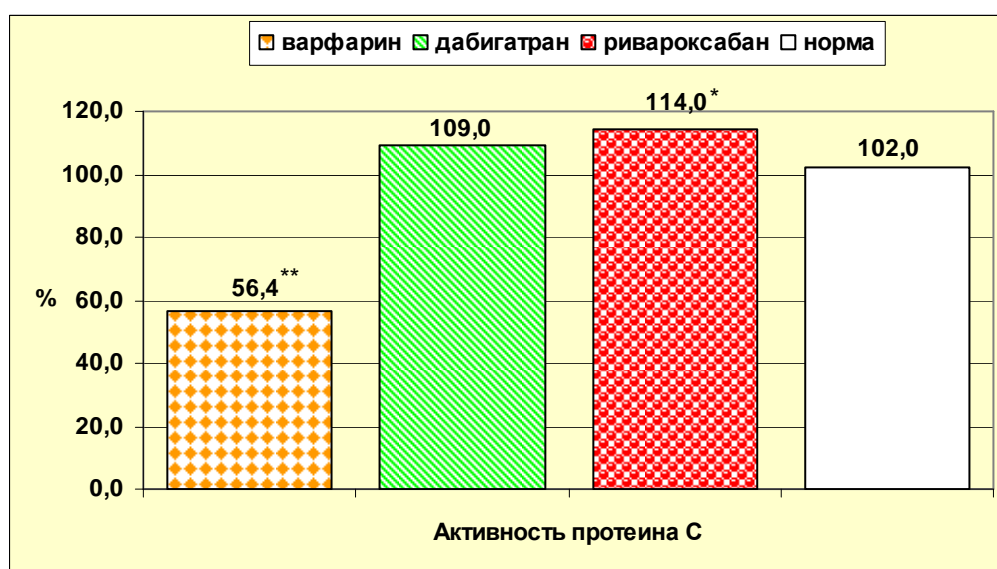


Рисунок 12 – Показатели активности протеина С пациентов, принимающих различную антикоагулянтную терапию, и здоровых лиц

* - $p < 0,01$, ** - $p < 0,0001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

Как известно, тромбин является сильнейшим индуктором активации тромбоцитов [117]. Учитывая данный факт, снижение функциональной активности тромбоцитов на фоне терапии прямым ингибитором фХа было бы

ожидаемо. Однако это не нашло подтверждения в работах ряда авторов [70, 148], которые не отметили угнетения агрегации тромбоцитов *in vitro* под действием антикоагулянта. Исследование фармакодинамических особенностей препарата также не выявило прямого действия ривароксабана на кровяные пластинки [42]. Неоднозначные сведения о влиянии ривароксабана на функциональную активность тромбоцитов привели к более детальному изучению агрегационной способности кровяных пластинок на фоне приема данного препарата. Определение функциональной активности тромбоцитов было проведено нами у 169 пациентов, получающих различную антитромботическую терапию. Из них 89 человек (52,7%) получали только ривароксабан, 48 (28,4%) – АСК, клопидогрел, 32 человека (18,9%) принимали ривароксабан в комбинации с антиагрегантной терапией.

У пациентов, получающих в качестве антикоагулянтной терапии ривароксабан, в целом по группе функциональная активность тромбоцитов была повышенной. Об этом свидетельствовало значимое по сравнению с нормой увеличение максимальной амплитуды агрегации кровяных пластинок под влиянием коллагена (рисунок 13). Таким образом, ингибция генерации тромбина, отмеченная нами у пациентов на фоне терапии ривароксабаном, не сопровождалась нормализацией функциональной активности тромбоцитов, что согласуется с данными других авторов [146]. Однако сделать однозначный вывод о влиянии прямого ингибитора фХа на тромбоциты не представляется возможным из-за отсутствия сведений об активности кровяных пластинок у обследуемых пациентов до начала антикоагулянтной терапии. Значимое снижение функциональной активности тромбоцитов относительно здоровых лиц ($p < 0,0001$) имело место в исследуемой группе, получающей исключительно антиагрегантные препараты. Аналогичные изменения активности кровяных пластинок были выявлены и при обследовании пациентов, получающих комбинированную терапию (антикоагулянтную в сочетании с антиагрегантной). В этой группе также отмечалось значимое угнетение агрегации тромбоцитов, индуцированной коллагеном (рисунок 13), на фоне нормальных значений при записи с АДФ и ристомицином.

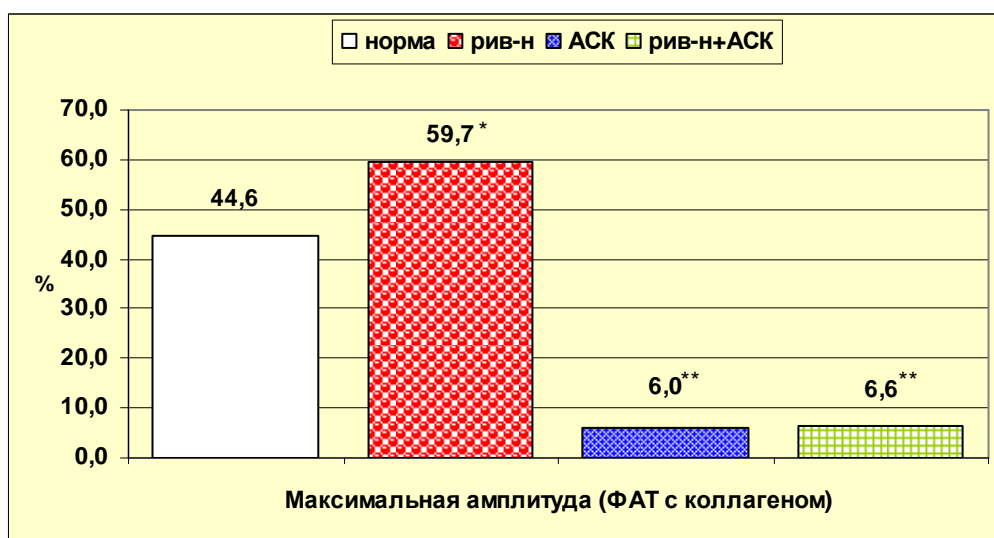


Рисунок 13 – Показатели функциональной активности тромбоцитов пациентов (МА, %), получающих различную антитромботическую терапию, и здоровых лиц при записи с коллагеном

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,0001$ (при сравнении показателей пациентов относительно показателей здоровых лиц)

При сравнении результатов исследования функциональной активности тромбоцитов у пациентов, принимающих антиагрегантные препараты и комбинированную антитромботическую терапию, значимых различий при записи ни с одним из индукторов агрегации отмечено не было. Полученные данные позволяют сделать вывод об отсутствии влияния ривароксабана на функциональное состояние кровяных пластинок [70, 148]. Выявленный нами факт чрезмерной активации тромбоцитов у пациентов, принимающих ривароксабан, согласуется с данными других авторов [150, 177]. В совокупности с клиническими проявлениями высокую активность кровяных пластинок в данном случае следует рассматривать, как неблагоприятный фактор риска развития тромботических проявлений, и не исключает возможность назначения антиагрегантной терапии. В свою очередь, необходимо помнить о повышении частоты геморрагических осложнений на фоне сочетанного применения антиагрегантной и антикоагулянтной терапии, что, прежде всего, требует тщательного контроля функционального состояния тромбоцитов.

Таким образом, прямой ингибитор активированного фактора X – ривароксабан – оказывает выраженное антикоагулянтное действие, которое характеризуется снижением количественных характеристик генерации тромбина и замедлением времени, необходимого для начала его образования. Снижение уровня тромбинемии при этом не отражается на функциональной активности тромбоцитов. Антикоагулянтный эффект препарата с достаточной долей чувствительности определяется с помощью интегрального метода оценки гемостаза – калиброванной тромбинографии – в отличие от общепринятых коагуляционных методов. Ингибция генерации тромбина сохраняется не менее 24 часов, что подтверждает обоснованность однократного назначения ривароксабана. В отличие от дабигатрана, прямого ингибитора тромбина, и варфарина, ривароксабан способствует усилению эффективности работы системы протеина С. Данный факт, впервые отмеченный при проведении настоящего исследования, может быть весомым преимуществом для выбора ривароксабана при лечении и профилактике ТЭЗО у пациентов с дефицитом РС и/или при наличии резистентности к активированному протеину С.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов на фоне приема ривароксабана выявлены значимые гипокоагуляционные изменения, наиболее выраженные при максимальной концентрации препарата в крови. У большинства пациентов отмечается снижение показателя протромбинового теста по Квику, у отдельных наблюдается увеличение индекса АПТВ, изменение обоих показателей или сохранение нормальных значений общих коагуляционных тестов.

2. У пациентов, принимающих ривароксабан, выявлено значимое снижение количественных характеристик генерации тромбина: эндогенного потенциала тромбина и его максимальной концентрации (ETP и Peak thrombin) и увеличение времени до начала его образования (Lag Time, LT) по сравнению со значениями контрольной группы, наиболее выраженное на фоне максимального содержания препарата в крови. Наиболее чувствительным к антикоагулянтному действию ривароксабана является показатель Peak thrombin.

3. У пациентов, принимающих ривароксабан, с высокой степенью достоверности по сравнению с контрольной группой повышен показатель чувствительности к ТМ, что характеризует усиление эффективности работы антикоагулянтной системы протеина С и обеспечивает оптимальный уровень антикоагуляции не менее 24 часов.

4. Варфарин и дабигатран, прямой ингибитор тромбина, в отличие от ривароксабана вызывают уменьшение эффективности работы системы протеина С, что проявляется снижением чувствительности к ТМ, рассчитанной по показателям ETP и Peak thrombin.

5. У пациентов, получающих ривароксабан, снижение уровня тромбинемии не способствует нормализации функции тромбоцитов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения эффективности антикоагулянтной терапии ривароксабаном рекомендуется использовать интегральный метод оценки гемостаза – тест генерации тромбина в постановке без добавления и с добавлением тромбомодулина.
2. Учитывая способность ривароксабана усиливать эффективность работы системы протеина С, рекомендуется назначение этого препарата пациентам с различными нарушениями в данной антикоагулянтной системе.
3. Пациентам, получающим ривароксабан, рекомендуется определение функциональной активности тромбоцитов. Значимое повышение активности кровяных пластинок следует рассматривать как фактор риска развития тромботических проявлений, требующий назначения антиагрегантной терапии.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АВК – антагонисты витамина К

АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время

АСК – ацетилсалициловая кислота

АТ – антитромбин

ВА – волчаночный антикоагулянт

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

КГ – контрольная группа

МА – максимальная амплитуда

Me – медиана

МНО – международное нормализованное отношение

НМК – низкомолекулярные гепарины

НОАК – новые оральные антикоагулянты

ОКС – острый коронарный синдром

ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения

ПВ – протромбиновое время

ПТ – протромбиновый тест

pТВ – разведенное тромбиновое время

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ТБС – тазобедренный сустав

ТВ – тромбиновое время

ТГВ – тромбоз глубоких вен

ТГТ – тест генерации тромбина

ТПВ – тромбоз поверхностных вен

ТЭЗ – тромбоэмболические заболевания

ТЭЗО – тромбоэмболические заболевания и осложнения

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ТЭО – тромбоэмболические осложнения

УФФП – ухудшение фильтрационной функции почек

ФАТ – функциональная активность тромбоцитов

ФГ – фибриноген

ФП – фибрилляция предсердий

фХа – активированный фактор X

ХБП – хроническая болезнь почек

ЭВС – экариновое время свертывания

АРС – активированный протеин С

САТ – калиброванная автоматизированная тромбинография

CL_{CR} – клиренс креатинина

СУР – цитохром

ЕРСR – эндотелиальный рецептор протеина С

ЕТР – эндогенный потенциал тромбина

GP – гликопротеин

LT – фаза инициации свертывания крови

PAR – рецептор, активируемый протеазой

PC – протеин С

Peak thrombin– максимальная концентрация тромбина

PPP – плазма бедная тромбоцитами

PRP – плазма богатая тромбоцитами

PS – протеин S

rh-TM – рекомбинантный человеческий тромбомодулин

TAFI – активируемый тромбином ингибитор фибринолиза

TM – тромбомодулин

TF – тканевой фактор

TFPI – ингибитор пути тканевого фактора

VEGF – эндотелиальный фактор роста сосудов

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активация системы гемостаза у больных с хронической сердечной недостаточностью / В.М. Шмелева, Л.П. Папаян, Н.Н. Силина и др. // Трансфузиология. – 2009. – Т. 10. – № 1-2. – С. 71-72.
2. Баркаган, З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии / З.С. Баркаган. – М: Ньюдиамед, 2000. – 148 с.
3. Баркаган, З.С. Ошибки, просчеты и пути совершенствования клинического применения низкомолекулярных гепаринов / З.С. Баркаган, Л.П. Цывкина, А.П. Момот // Клиническая фармакология и терапия. – 2002. – № 11. – С. 1-5.
4. Бережняк, И.В. Сравнительная оценка эффективности тромбопрофилактики новыми оральными антикоагулянтами при эндопротезировании тазобедренного сустава / И.В. Бережняк, А.П. Момот, И.В. Меркулов // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2017. – № 3. – С. 32-40.
5. Есаян, А.М. Антикоагулянтная терапия у пациента с хронической болезнью почек и фибрилляции предсердий / А.М. Есаян // Журнал Сердечная Недостаточность. – 2017. – Т. 18. – № 4. – С. 243-252.
6. Зубаиров, Д.М. Молекулярные основы свертывания крови и тромбообразования / Д.М. Зубаиров. – Казань: ФЭН, 2000. – 367 с.
7. Зубаиров, Д.М. Что такое гиперкоагулемия и каков ее механизм? / Д.М. Зубаиров // Тромбы, кровоточивость и болезни сосудов. – 2008. – № 7. – С. 16-30.
8. Кузник, Б.И. Физиология и патология системы крови / Б.И. Кузник // Руководство для студентов лечебного, педиатрического и стоматологического факультетов. – 3-е изд., испр. и доп. – М: Вузовская книга, 2004. – 238 с.
9. Летаген, С. Гемостаз и геморрагические заболевания / С. Летаген. – Пер. с англ. – М: Аир – Арт, 2004. – С. 21, 58.
10. Мониторинг использования дабигатрана в качестве средства профилактики тромбоэмболических осложнений после артропластики

тазобедренного сустава./ А.П. Момот, Е.В. Григорьева, Л.П. Цывкина и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 5. – С. 40-42.

11. Наместников, Ю.А. Диагностика гиперкоагуляции с помощью теста генерации тромбина: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб., 2012. – С. 30, 52-53.

12. Новикова, Н.А. Использование прямых пероральных антикоагулянтов при подготовке к электрической кардиоверсии / Н.А. Новикова, А.Н. Воловченко // Вестник аритмологии. – 2017 – № 88. – С. 18-24.

13. Новые лабораторные возможности мониторинга противотромботической терапии / В.М. Шмелева, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко и др. // Трансфузиология. – 2014. – Т. 15. – № 4. – С. 29-34.

14. Обрезан, А.Г. Трудные вопросы пероральной антикоагулянтной терапии у пациентов с фибрилляцией предсердий / А.Г. Обрезан // Вестник аритмологии. – 2017. – № 88. – С. 68-72.

15. Особенности действия пероральных антикоагулянтов / И.В. Гельцер, О.А. Смирнова, О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, О.Г. Головина, Л.П. Папаян // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2015. – Т. 14. – № 3. – С. 153-157.

16. Папаян, Л.П. Нормальный гемостаз // Гематология. Национальное руководство по гематологии. / Под ред. проф. О.А. Рукавицина. – М: ГЭОТАР – Медиа, 2015. – С. 90-100.

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

18. Папаян, Л.П. Современное представление о механизме регуляции свертывания крови / Л.П. Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2003. – Т. 2. – № 14. – С. 7-11.

19. Показатели системы протеина С на фоне приема различных пероральных антикоагулянтов / О.А. Смирнова, И.В. Гельцер, О.Г. Головина, В.А. Кобилянская, Л.П. Папаян // Сборник тезисов Всероссийской научно-практической Конференции с международным участием «1-й Всероссийский

Форум АнтиКоагулянтной Терапии» ФАКТ-2016, Москва, 23 – 24 марта 2016. – С. 29.

20. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбоемболических осложнений / В.С. Савельев, Е.И. Чазов, Е.И. Гусев и др. // Флебология. – 2010. – Т. 4. – № 1. – С. 3-37.

21. Условия постановки теста генерации тромбина для выявления состояний гиперкоагуляции / Ю.А. Наместников, О.Г. Головина, О.Ю. Матвиенко и др. // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 7. – С. 35-38.

22. Функциональная активность тромбоцитов у пациентов, принимающих «Ксарелто» (ривароксабан) / И.В. Гребенникова, О.Ю. Матвиенко, Л.Р. Тарковская и др. // Кровь. – 2014. – Т. 2. – № 18. – С. 86.

23. Шитикова, А.С. Тромбоцитарный гемостаз / А.С. Шитикова. – СПб: Изд-во СПбГМУ, 2000. – 227 с.

24. Adherence to non-vitamin-K-antagonist oral anticoagulant medications based on the Pharmacy Quality Alliance measure / C.A. McHorney, C. Crivera, F. Laliberté et al. // Current Medical Research and Opinion. – 2015. – Vol. 31. – № 12. – P. 2167-2173.

25. Ahmad, S.S. The assembly of the factor X-activating complex on activated human platelets / S.S. Ahmad, F.S. London, P.N. Walsh // J. of Thromb. Haemost. – 2003. – Vol. 1. – P. 48-59.

26. A natural anticoagulant pathway: proteins C, S, C4b-binding protein and thrombomodulin / B. Dahlback, J. Stenflo, A.L. Bloom // Haemostasis and Thrombosis. – 1994. – P. 671-679.

27. A novel mechanism of action of rivaroxaban: inhibition of monocyte and macrophage procoagulant activity and consequence on inflammatory process / M. Laurent, R. Varin, U. Joimel et al. // Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). – 2009. – Vol. 114. – Abstract 3124.

28. Ansell, J. Factor Xa or thrombin: is factor Xa a better target? / J. Ansell // J. Thromb. Haemost. – 2007. – Vol. 5 (Suppl. 1). – P. 60-64.

29. Antithrombin-independent thrombin inhibitors, but not direct factor Xa inhibitors, enhance thrombin generation in plasma through inhibition of thrombin-thrombomodulin-protein C system / T. Furugohri, N. Sugiyama, Y. Morishima et al. // *Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 106. – P. 1076-1083.

30. Antithrombotic and thrombolytic therapy: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / J. Hirsh, G. Guyatt, G.W. Albers et al. // *Chest.* – 2008. – Vol. 133. – P. 110- 112.

31. Antithrombotic and thrombolytic therapy for ischemic stroke: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / G.W. Albers, P. Amarenco, J.D. Easton et al. // *Chest.* – 2008. – Vol. 133. – P. 630-669.

32. Antithrombotic Therapy for Atrial Fibrillation: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines / J.J. You, D.E. Singer, P.A. Howard et al. // *Chest.* – 2012. – Vol. 141 (Suppl. 2). – P. 531-575.

33. Antithrombotic therapy for non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / R.A. Harrington, R.C. Becker, C.P. Cannon et al. // *Chest.* – 2008. – Vol. 133. – P. 670-707.

34. Antithrombotic Therapy for VTE Disease: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines / C. Kearon, E.A. Akl, A.J. Comerota et al. // *Chest.* – 2012. – Vol. 141 (Suppl. 2). – P. 4191-4194.

35. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / D.E. Singer, G.W. Albers, J.E. Dalen et al. // *Chest.* – 2008. – Vol. 133. – P. 546-592.

36. Aspirin and coumadin after acute coronary syndromes (the ASPECT-2 study): a randomized controlled trial / R.F. Van Es, J.J.C. Jonker, F.W.A. Verheugt et al. // *Lancet.* – 2002. – Vol. 360. – P. 109-114.

37. Assessment of laboratory assays to measure rivaroxaban – an oral, direct factor Xa inhibitor / M.M. Samama, J.L. Martinoli, L. LeFlem et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol. 103. – P. 815-825.
38. Assessment of the impact of rivaroxaban on coagulation assays. Laboratory recommendations for the monitoring of rivaroxaban and review of the literature / J. Douxfils, F. Mullier, C. Loosen et al. // *Thrombosis Research*. – 2012. – Vol. 130. – № 6. – P. 956-966.
39. Bach, R.R. Initiation of coagulation by tissue factor / R.R. Bach // *CRC Crit. Rev. Biochem*. – 1988. – Vol. 23. – P. 339-368.
40. Baglin, T. Effects on routine coagulation screens and assessment of anticoagulant intensity in patients taking oral dabigatran or rivaroxaban: Guidance from the British Committee for Standards in Haematology / T. Baglin, D. Keeling, S. Kitchen // *Br. J. Haematol*. – 2012. – Vol. 159. – № 4. – P. 427-429.
41. Baglin, T. The role of the laboratory in treatment with new oral anticoagulants / T. Baglin // *J. Thrombosis Haemostasis*. – 2013. – Vol. 11 (Suppl. 1). – P. 122-128.
42. Bayer. Xarelto^R: EU summary of product characteristics. 2013. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000944/WC500057108.pdf. [Accessed 2013, Dec 13].
43. Beyer-Westendorf, J. Benefit-risk profile of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in the management of venous thromboembolism / J. Beyer-Westendorf, W. Ageno // *Thromb. Haemost.* – 2015. – Vol. 113. – P. 231-246.
44. Beyer-Westendorf, J. Real-world persistence and adherence to oral anticoagulation for stroke risk reduction in patients with atrial fibrillation / J. Beyer-Westendorf, B. Ehlken, T. Evers // *Europace*. – 2016. – Vol. 18. – № 8. – P. 1150-1157.
45. Body weight has limited influence on the safety, tolerability, pharmacokinetics or pharmacodynamics of rivaroxaban (BAY 59-7939) in healthy subjects / D. Kubitzka, M. Becka, M. Zuehlsdorf et al. // *J. Clin. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 47. – P. 218-226.

46. Boehringer Ingelheim, Ingelheim. Pradaxa® summary of product characteristics [Internet]. 2011. Available at <http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/20760/SPC/Pradaxa+110+mg+hard+capsules> [Accessed 2012, Feb 28].

47. Brodmann, M. Do novel oral anticoagulants do better than standard therapy in the treatment of deep vein thrombosis? / M. Brodmann // *Haemostaseologie*. – 2013. – Vol. 33. – P. 218-224.

48. Burness, C.B. Rivaroxaban: A review of its use in the treatment of deep vein thrombosis or pulmonary embolism and the prevention of recurrent venous thromboembolism / C.B. Burness, C.M. Perry // *Drugs*. – 2014. – Vol. 74. – P. 243-262.

49. Calibrated automated thrombin generation measurement in clotting plasma / H.C. Hemker, P. Giesen, R. Al Dieri et al. // *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* – 2003. – Vol. 33. – № 1. – P. 4-15.

50. Cardiovascular, bleeding, and mortality risks in elderly medicare patients treated with dabigatran or warfarin for nonvalvular atrial fibrillation / D.J. Graham, M.E. Reichman, M. Wernecke et al. // *Circulation*. – 2015. – Vol. 131. – P. 157-164.

51. Changes in Renal Function in Patients With Atrial Fibrillation / M. Böhm, M.D. Ezekowitz, S.J. Connolly et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2015 – Vol. 65. – № 23. – P. 2481-2493.

52. Chirinos, J.A. Elevation of endothelial microparticles, platelets, and leucocyte activation in patients with venous thromboembolism / J.A. Chirinos, G.A. Heresi, H. Velasquez et al. // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2005. – Vol. 45. – № 9. – P. 1467-1471.

53. Clinical laboratory measurement of direct factor Xa inhibitors: Anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay / Y.C. Barrett, Z. Wang, C. Frost et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2010. – Vol. 104. – P. 1263-1271.

54. Coleman, C.I. Effectiveness and Safety of Apixaban, Dabigatran and Rivaroxaban Versus Warfarin in Patients with Nonvalvular Atrial Fibrillation and Previous Stroke or Transient Ischemic Attack: The REAFFIRM Study / C.I. Coleman, T.J. Bunz // *Stroke*. – 2017. – Vol. 48. – № 8. – P. 2142-2149.

55. Coleman, C.I. Effectiveness and safety of rivaroxaban versus warfarin for treatment and prevention of recurrence of venous thromboembolism / C.I.Coleman, T.J. Bunz, A.G.G. Turpie // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2017. – Vol. 117. – P. 1841-1847.
56. Comparative effectiveness of new oral anticoagulants and standart thromboprophylaxis in patients having total hip or knee replacement: a systematic review / S.S. Adam, J.R. McDuffie, P.F. Lachiewicz et al. // *Ann. Intern. Med.* – 2013. – Vol. 159. – № 4. – P. 275-284.
57. Comparison of calibrated dilute thrombin time and aPTT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with dabigatran etexilate / J. Douxfils, J.M. Dogne, F. Mullier et al. // *Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 110. – P. 543-549.
58. Cushman, M. Epidemiology and risk factors for venous thrombosis / M. Cushman // *Semin. Hematol.* – 2007. – Vol. 44. – P. 62-69.
59. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity / J. van Ryn, J. Stangier, S. Haertter et al. // *Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 103. – P. 1116-1127.
60. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. The RE-LY Steering Committee and Investigators / S.J.Connolly, M.D. Ezekowitz, S. Yusuf et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361. – P. 1139-1151.
61. Dabigatran versus warfarin in patients with mechanical heart valves / J.W. Eikelboom, S.J. Connolly, M. Brueckmann et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 369. – P. 1206–1214.
62. Decrease in the oral bioavailability of dabigatran etexilate after co-medication with rifampicin / S. Härtter, M. Koenen-Bergmann, A. Sharma et al. // *Clin. Pharmacol.* – 2012. – Vol. 74. – № 3. – P. 490-500.
63. Descriptive analysis of the process and quality of oral anticoagulation management in real-life practice in patients with chronic non-valvular atrial fibrillation: the international study of anticoagulation management (ISAM) / J. Ansell, J. Hollowell,

V. Pengo et al. // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. – 2007. – Vol. 23. – P. 83-91.

64. Determination of dabigatran in human plasma samples / J. Harenberg, C. Giese, S. Marx et al. // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2012. – Vol. 38. – P. 16-22.

65. Diener, H.C. Pro: “The novel oral anticoagulants should be used as 1st choice for secondary prevention in patients with atrial fibrillation” / H.C. Diener // *Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 110. – P. 493-495.

66. Di Nisio, M. Direct thrombin inhibitors / M. Di Nisio, S. Middeldorp, H.R. Buller // *The New England Journal of Medicine*. – 2005. – Vol. 353. – P. 1028-1040, 2827.

67. Discovery of the novel antithrombotic agent 5-chloro-N-[(5S)-2-oxo-3-[4-(3-oxomorpholin-4-yl)phenyl]-1,3-oxazolidin-5-yl]methylthiophene-2-carboxamide (BAY 59-7939): an oral, direct factor Xa inhibitor / S. Roehrig, A. Straub, J. Pohlmann et al. // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48. – № 19. – P. 5900-5908.

68. Effect of clarithromycin on renal excretion of digoxin: interaction with P-glycoprotein / H. Wakasugi, I. Yano, T. Ito et al. // *Clin. Pharmacol. Ther.* – 1998. – Vol. 64. – P. 123-128.

69. Effect of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on platelet – induced thrombin generation and prothrombinase activity / J. Graff, N. von Hentig, F. Misselwitz et al. // *J. Clin Pharmacol.* – 2007. – Vol. 47. – № 11. – P. 1398-1407.

70. Effect on platelet function of a direct acting antagonist of coagulation factor Xa / S.M. Ringwala, P.M. DiBattiste, D.J. Schneider // *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. – 2012. – Vol. 34. – № 3. – P. 291-296.

71. Effects of dabigatran on the cellular and protein phase of coagulation in patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel. Results from a prospective, randomised, double-blind, placebo – controlled study / F. Franchi, F. Rollini, J.R. Cho et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2016. – Vol. 115. – № 3. – P. 622-631.

72. Effects of renal impairment on the pharmacokinetics, pharmacodynamics and safety of rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor / D. Kubitzka, M. Becka, W. Mueck et al. // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 70. – № 5. – P. 703-712.

73. Effects of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran on ex vivo coagulation time in orthopaedic surgery patients: a population model analysis / K.H. Liesenfeld, H.G. Schaefer, I.F. Troconiz et al. // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 62. – P. 527-537.

74. Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays / T.L. Lindahl, F. Baghaei, I.F. Blixter et al. // *Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 105. – P. 371-378.

75. Eikelboom, J.W. Dabigatran monitoring made simple? / J.W. Eikelboom, J.I. Weitz // *Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 110. – P. 393-395.

76. EINSTEIN Investigators. Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism / R. Bauersachs, S.D. Berkowitz, B. Brenner et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363. – P. 2499-2510.

77. EINSTEIN-PE Investigators. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism / H.R. Buller, M.H. Prins, A.W. Lensin et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 1287-1297.

78. Esmon, C.T. Coagulation inhibitors in inflammation / C.T. Esmon // *Biochem. Soc. Trans.* – 2005. – Vol.33. – P. 401-405.

79. European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation / H. Heidbuchel, P. Verhamme, M. Alings et al. // *Europace.* – 2013. – Vol. 15. – P. 625-651.

80. European Medicines Agency. Pradaxa. Summary of Product Characteristics. Available:

<http://www.emea.europa.eu/humandocs/PDFs/EPAR/pradaxa/H-829-PI-en.pdf>.

[Accessed 2009, Aug 21].

81. Evaluation of the anti-factor Xa chromogenic assay for the measurement of rivaroxaban plasma concentrations using calibrators and controls / M.M. Samama, G.

Contant, T.E. Spiro, E. Perzborn, C. Guinet // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2012. – Vol. 107. – № 2. – P. 379-387.

82. Ex vivo effect of low-dose rivaroxaban on specific coagulation assays and coagulation factor activities in patients under real life conditions / H. Mani, C. Hesse, G. Stratmann et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2013. – Vol. 109. – P. 127-136.

83. Factor Xa and thrombin, but not factor VIIa, elicit specific cellular responses in dermal fibroblasts / E.B. Bachli, C.M. Pech, K.M. Johnson et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 1. – P. 1935-1944.

84. Furie, B. Mechanisms of thrombus formation / B. Furie, B.C. Furie // *N. Engl. J. Med.* – 2008. – Vol. 359. – P. 938-949.

85. Gross, P.L. New anticoagulants for treatment of venous thromboembolism / P.L. Gross, J.I. Weitz // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. – Vol. 28. – № 3. – P. 380-386.

86. Gupta, A. Interactions of azole antifungal agents with the human breast cancer resistance protein (BCRP) / A. Gupta, J.D. Unadkat, Q. Mao // *J. Pharm. Sci.* – 2007. – Vol. 96. – P. 3226-3235.

87. Heemskerk, J.W.M. Platelet activation and blood coagulation / J.W.M. Heemskerk, E.M. Bevers, T. Lindhout // *Thromb. Haemost.* – 2002. – Vol. 88. – P. 186-193.

88. Hemker, H.C. Thrombin generation assays: accruing clinical relevance / H.C. Hemker, R. Al Dieri, S. Béguin // *Curr. Opin. Hematol.* – 2004. – Vol. 11. – P. 170-175.

89. Henskens, Y.M.C. Detecting clinically relevant rivaroxaban or dabigatran levels by routine coagulation tests or thromboelastography in a cohort of patients with atrial fibrillation / Y.M.C. Henskens, A.J.W. Gulpen, R. van Oerle // *Thrombosis Journal*. – 2018. – Vol. 16. – № 3. – P. 1-7.

90. Hirschl, M. New oral anticoagulants in the treatment of acute venous thromboembolism – a systematic review with indirect comparisons / M. Hirschl, M. Kundi // *Vasa*. – 2014. – Vol. 43. – № 5. – P. 353-364.

91. Hirsh, J. Beyond unfractionated heparin and warfarin: current and future advances / J. Hirsh, M. O'Donnell, J.W. Eikelboom // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116. – № 5. – P. 552-560.
92. Hirsh, J. New anticoagulants / J. Hirsh, M. O'Donnell, J.I. Weitz // *Blood*. – 2005. – Vol. 105. – P. 453-463.
93. Hoffman, M. A cell-based model of hemostasis / M. Hoffman, D.M. Monroe // *Thromb. Haemost.* – 2001. – Vol. 85. – P. 958-965.
94. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate / J. Douxfils, F. Mullier, S. Robert et al. // *Thromb. Haemost.* – 2012. – Vol. 107. – P. 985-997.
95. Increased short-term risk of thromboembolism or death after interruption of warfarin treatment in patients with atrial fibrillation / J. Raunso, C. Selmer, J.B. Olesen et al. // *Eur. Heart J.* – 2012. – Vol. 33. – P. 1886-1892.
96. Influence of coagulation factors and tissue factor concentration on the thrombin generation test in plasma / J. Duchemin, B. Pan-Petes, B. Arnaud et al. // *Thromb. Haemost.* – 2008. – Vol. 99. – P. 767-773.
97. Influence of renal impairment on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of oral dabigatran etexilate / J. Stangier, K. Rathgen, H. Staehle et al. // *Clin. Pharmacokinet.* – 2010. – Vol. 49. – P. 259-268.
98. Inherited predisposition to thrombosis / J.P. Miletich, S.M. Prescott, L. White et al. // *Cell*. – 1993. – Vol. 72. – P. 477-480.
99. Inhibition of coagulation and inflammation by a novel factor Xa inhibitor synthesized from the earthworm *Eisenia Andrei* / S.S. Joo, T.J. Won, J.S. Kim et al. // *Biol. Pharm. Bull.* – 2009. – Vol. 32. – P. 253-258.
100. Interference of rivaroxaban in one-stage and chromogenic factor VIII:C assays / V. Tichelaar, H. de Jong, H. Nijland et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2011. – Vol. 106. – № 5. – P. 990-992.

101. Interrelationship between substrates and inhibitors of human CYP3A and P-glycoprotein / R.B. Kim, C. Wandel, B. Leake et al. // *Pharm. Res.* – 1999. – Vol. 16. – P. 408-414.

102. In vitro and in vivo studies of the novel antithrombotic agent BAY 59-7939: an oral, direct factor Xa inhibitor / E. Perzborn, J. Strassburger, A. Wilmen et al. // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2005. – Vol. 3. – № 3. – P. 514-521.

103. In vitro inhibition of thrombin generation, after tissue factor pathway activation, by the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban / G.T. Gerotziakas, I. Elalamy, F. Depasse et al. // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2007. – Vol. 5. – № 4. – P.886-888.

104. In vitro study of the anticoagulant effects of edoxaban and its effect on thrombin generation in comparison to fondaparinux / M.M. Samama, J. Mendell, C. Guinet et al. // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129. – P. 77-82.

105. Janssen Pharmaceuticals Inc. Xarelto^R (rivaroxaban): US prescribing information. 2013.

http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/022406s004lbl.pdf.

[Accessed 2013, Dec 13].

106. Jesty, J. The inhibition of activated bovine coagulation factors X and VII by antithrombin III / J. Jesty // *Arch. Biochem. Biophys.* – 1978. – Vol. 185. – P. 165-173.

107. Kearon, C. Natural history of venous thromboembolism / C. Kearon // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107. – P. 122-130.

108. Konkle, B.A. Monitoring target-specific oral anticoagulants / B.A. Konkle // *Hematology.* – 2014. – Vol. 1. – P. 329-333.

109. Koutsi, A. Thrombomodulin: from haemostasis to inflammation and tumorigenesis / A. Koutsi, A. Papapanagiotou, A.G. Papavassiliou // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2008. – Vol. 40. – P. 1669-1673.

110. Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the non – vitamin K antagonist oral anticoagulants / A. Cuker, D.M. Siegal, M.A. Crowther et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2014. – Vol. 64. – P. 1128-1139.

111. Licari, L.G. Thrombin physiology and pathophysiology / L.G. Licari, J.P. Kovacic // *J. Vet. Emerg. Crit. Care (San Antonio)*. – 2009. – Vol. 19. – P. 11-22.
112. Line, B.R. Pathophysiology and diagnosis of deep vein thrombosis / B.R. Line // *Semin. Nucl. Med.* – 2001. – Vol. 31. – № 2. – P. 90-101.
113. Lopez, J.A. Deep venous thrombosis / J.A. Lopez, C. Kearon, A.Y. Lee // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* – 2004. – P. 439-456.
114. Low molecular weight heparin versus unfractionated heparin in the initial treatment of venous thromboembolism / R.J. Hettiarachchi, M.H. Prins, A.W. Lensing et al. // *Curr. Opin. Pulm. Med.* – 1998. – Vol. 4. – P. 220-225.
115. Macrophage migration inhibitory factor is induced by thrombin and factor Xa in endothelial cells / T. Shimizu, J. Nishihira, H. Watanabe et al. // *J. Biol. Chem.* – 2004. – Vol. 279. – P. 13729-13737.
116. Mak, K-H. Coronary and mortality risk of novel oral antithrombotic agents: a meta-analysis of large randomised trials / K-H Mak // *BMJ Open.* – 2012. – Vol. 2. – № 5: e001592.
117. Mann, K.G. What is all that thrombin for? / K.G. Mann, K. Brummel, S. Butenas // *Thromb. Haemost.* – 2003. – Vol. 7. – P. 1504-1514.
118. Mao, Q. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport / Q. Mao, J.D. Unadkat // *AAPS J.* – 2005. – Vol. 7. – P. 118-133.
119. Martin, D. Tissue factor: Molecular recognition and cofactor function / D. Martin, C. Boys, W. Ruf // *FASEB J.* – 1995. – Vol. 9. – P. 852-859.
120. Measuring Oral Direct Inhibitors (ODIs) of thrombin and factor Xa. A recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis / T. Baglin, A. Hillarp, A. Tripodi et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 11. – P. 756-760.
121. Monroe, D.M. Transmission of a procoagulant signal from tissue factor-bearing cells to platelets / D.M. Monroe, M. Hoffman, H.R. Roberts // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 1996. – Vol. 7. – P. 459-464.

122. Monroe, D.M. What does it take to make the perfect clot? / D.M. Monroe, M. Hoffman // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2006. – Vol. 26. – P. 41-48.
123. Mueck, W. Co-administration of rivaroxaban with drugs that share its elimination pathways: pharmacokinetic effects in healthy subject / W. Mueck, D. Kubitz, M. Bec // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 76. – № 3. – P. 455-466.
124. *New Fundamentals in Hemostasis* / H.H. Versteeg, J.W.M. Heemskerk, M. Levi, P.H. Reitsma // *Physiol. Rev.* – 2013. – Vol. 93. – P. 327-358.
125. No interaction of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate and digoxin / J. Stangier, H. Stähle, K. Rathgen et al. // *Proceedings of the XXIst Congress of the International Society of Thrombosis and Haemostasis. Geneva, Switzerland, 6–12 July 2007.* – P-W-672.
126. On-Treatment Outcomes in Patients With Worsening Renal Function With Rivaroxaban Compared With Warfarin Clinical Perspective: Insights From ROCKET AF / C.B. Fordyce, A.S. Hellkamp, Y. Lokhnygina et al. // *Circulation.* – 2016. – Vol. 134. – № 1. – P. 37-47.
127. Optimisation of the assays for the measurement of clotting factor activity in the presence of rivaroxaban / G.T. Gerotziakas, H. Baccouche, M. Sassi et al. // *Thrombosis Research.* – 2012. – Vol. 129. – P. 101-103.
128. Oral dabigatran versus enoxaparin for thromboprophylaxis after primary total hip arthroplasty (RE-NOVATE II). A randomised, double-blind, non-inferiority trial / B.I. Eriksson, O.E. Dahl, N.H. Huo et al. // *Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 105. – № 4. – P. 721-729.
129. Patients' time in therapeutic range on warfarin among US patients with atrial fibrillation: Results from ORBIT-AF registry / S.D. Pokorney, D.N. Simon, L. Thomas et al. // *American Heart Journal.* – 2015. – Vol. 170. – № 1. – P. 141-148.
130. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: a cross-sectional pharmacodynamics study based on peak and trough levels // E.M. Hawes, A.M. Deal, D. Funk-Adcock et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2013. – Vol. 11. – P. 1493-1502.

131. Perzborn, E. Inhibition of thrombin generation in human plasma by rivaroxaban, an oral, direct factor Xa inhibitor [abstract] / E. Perzborn, M. Harwardt // *J. Thrombosis and Haemostasis*. – 2009. – Vol. 7 (Suppl. 2). – P. 379.

132. Pharmacokinetic profile of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate in healthy volunteers and patients undergoing total hip replacement / J. Stangier, B.I. Eriksson, O.E. Dahl et al. // *J. Clin. Pharmacol.* – 2005. – Vol. 45. – № 5. – P. 555-563.

133. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the direct oral thrombin inhibitor dabigatran in healthy elderly subjects / J. Stangier, H. Staehle, K. Rathgen et al. // *Clin. Pharmacokinet.* – 2008. – Vol. 47. – P. 47-59.

134. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran in a dose finding trial in atrial fibrillation (abstract) / J. Stangier, G. Nehmiz, P. Reilly et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 3 (Suppl. 1). – OR 271.

135. Pharmacology and Management of the Vitamin K Antagonists: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / J. Ansell, E. Hirsh, E. Hylek et al. // *Chest*. – 2008. – Vol. 133 (Suppl. 6). – P. 160-198.

136. Post-Marketing Pharmacovigilance Study Non-Valvular Atrial Fibrillation / S. Tamayo, M. Patel, Y. Zhong et al. // *JACC*. – 2015. – Vol. 65 (Suppl. 10). – A 281.

137. Pradaxa. European Public Assessment Report
www.emea.europa.eu/humandocs/Humans/EPAR/pradaxa/pradaxa.htm

138. Preclinical and clinical characteristics of rivaroxaban: a novel, oral, direct factor Xa inhibitor / V. Laux, E. Perzborn, D. Kubitzka et al. // *Semin. Thrombosis and Haemostasis*. – 2007. – Vol. 33. – № 5. – P. 515-523.

139. Prevention of stroke and systemic embolism with rivaroxaban compared with warfarin in patients with non-valvular atrial fibrillation and moderate renal impairment / K.A.A. Fox, J.P. Piccini, D. Wojdyla et al. // *European Heart Journal*. – 2011. – Vol. 32. – № 19. – P. 2387-2394.

140. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / W.H. Geerts, D. Bergqvist, G.F. Pineo et al. // *Chest*. – 2008. – Vol. 133. – P. 381- 453.

141. Protease-activated receptor 1 is the primary mediator of thrombin-stimulated platelet procoagulant activity / H. Andersen, D.L. Greenberg, K. Fujikawa et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1999. – Vol. 96. – P. 1189-1193.

142. Relation between peri-operative antithrombin activity and deep vein thrombosis after elective hip replacement surgery / D. Urbach, K.A. Matzen, D. Heitmann et al. // *Vasa.* – 2003. – Vol. 32. – P. 14-17.

143. REMEDY Trial Investigators; RESONATE Trial Investigators. Extended use of dabigatran, warfarin, or placebo in venous thromboembolism / S. Schulman, C. Kearon, A.K. Kakkar et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2013. – Vol. 368. – P. 709-718.

144. Risks of stroke and mortality associated with suboptimal anticoagulation in atrial fibrillation patients / A.M. Gallagher, E. Setakis, J.M. Plumb et al. // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2011. – Vol. 106. – № 5. – P. 968-977.

145. Rivaroxaban and false positive lupus anticoagulant testing / E. Merriman, Z. Kaplan, J. Butler et al. // *Thrombosis and Haemostasis.* – 2011. – Vol. 105. – P. 385-386.

146. Rivaroxaban and warfarin achieve effective anticoagulation, as assessed by inhibition of TG and in-vivo markers of coagulation activation, in patients with venous thromboembolism / D.R.J. Arachchillage, M. Efthymiou, I.J. Mackie et al. // *Thromb. Res.* – 2014. – Vol. 11. – P. 1-6.

147. Rivaroxaban - an oral, direct factor Xa inhibitor – has potential for the management of patients with heparin – induced thrombocytopenia / J.M. Walenga, M. Prechel, W.P. Jeske et al. // *Br. J. Haematol.* – 2008. – Vol. 143. – № 1. – P. 92-99.

148. Rivaroxaban: an oral, direct factor Xa inhibitor inhibits tissue factor-mediated platelet aggregation [abstract] / E. Perzborn, U. Lauge // *XXI ISTH Congress, Geneva.* – 2007. – P-W-642.

149. Rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism after hip or knee arthroplasty. Pooled analysis of four studies / A.G.G. Turpie, M.R. Lassen, B.I. Eriksson et al. // *Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 105. – P. 444-453.

150. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome / J.L. Mega, E. Braunwald, S.D. Wiviott et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 9-19.

151. Rivaroxaban: Quantification by anti-Fxa assay and influence of coagulation tests. A study in 9 Swiss laboratories / L.M. Asmis, L. Alberio, A. Angelillo-Scherrer et al. // *Thromb. Res.* – 2012. – Vol. 129. – P. 492-498.
152. Rivaroxaban vs. vitamin K antagonists for cardioversion in atrial fibrillation / R. Cappato, M.D. Ezekowitz, A.L. Klein et al. // *Eur. Heart J.* – 2014. – Vol. 35. – № 47. – P. 3346-3355.
153. ROCKET AF Investigators. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation / M.R. Patel, K.W. Mahaffey, J. Garg et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – Vol. 365. – P. 883-891.
154. Role of orally available antagonists of factor Xa in the treatment and prevention of thromboembolic disease: focus on rivaroxaban / J. Morell, B. Sullivan, M. Khalabuda, B.F. McBride // *J. Clin. Pathol.* – 2010. – Vol. 50. – P. 986-1000.
155. Safety and efficacy of well managed warfarin. A report from the Swedish quality register Auricula / V. Sjogren, B. Grzymala-Lubanski, H. Renlund // *Thromb. Haemost.* – 2015. – Vol. 113. – P. 1370-1377.
156. Stafford, D.W. The vitamin K cycle / D.W. Stafford // *J. Thromb. Haemost.* – 2005. – Vol. 3. – P. 1873-1878.
157. Stangier, J. Using the HEMOCLOT direct thrombin inhibitor assay to determine plasma concentrations of dabigatran / J. Stangier, M. Feuring // *Blood Coagul. Fibrinolysis.* – 2012. – Vol. 23. – P. 138-143.
158. Tersteegen, A. Rivaroxaban an oral, direct factor Xa inhibitor binds rapidly to factor Xa [abstract] / A. Tersteegen, N. Burkhardt // *J. Thrombosis and Haemostasis.* – 2007. – Vol. 5 (Suppl. 2). – P-W-651.
159. The EINSTEIN Investigators / Oral rivaroxaban for symptomatic venous thromboembolism // *N. Engl. J. Med.* – 2010. – Vol. 363. – P. 2499-2510.
160. The EINSTEIN-PE Investigators / Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism // *N. Engl. J. Med.* – 2012. – Vol. 366. – P. 1287-1297.

161. The impact of bleeding complications in patients receiving target-specific oral anticoagulants: a systematic review and meta-analysis / C. Chai-Adisaksopha, M. Crowther, I. Isayama, W. Lim // *Blood*. – 2014. – Vol. 124. – P. 2450-2458.

162. The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans / S. Blech, T. Ebner, E. Ludwig – Schwellinger et al. // *Drug Metab. Dispos.* – 2008. – Vol. 36. – P. 386-399.

163. The paradoxical stimulation by a revers-ible thrombin inhibitor of thrombin generation in plasma measured with thrombinography is caused by alpha-macroglobulin-thrombin / R.J. Wagenvoort, J. Deinum, M. Elg et al. // *J. Thromb. Haemost.* – 2010. – Vol. 8. – P. 1281-1289.

164. The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the seventh ACCP conference on antithrombotic and thrombolytic therapy / J. Ansell, J. Hirsch, L. Poller et al. // *Chest*. – 2004. – Vol. 126 (Suppl 3). – P. 204-233.

165. The relationship between inhibition of vitamin K 1,2,3-epoxide reductase and reduction of clotting factor activity with warfarin / I.A. Ohoonara, R.G. Malia, B.P. Haynes et al. // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 1988. – Vol. 25. – P. 1-7.

166. The structural biology of expression and function of tissue factor / T.S. Edgington, N. Mackman, K. Brand et al. // *Thrombosis and Haemostasis*. – 1991. – Vol. 66. – P. 67-79.

167. The use of novel oral anticoagulants for thromboprophylaxis after elective major orthopedic surgery / S. Rachidi, E.S. Aldin, C. Greenberg et al. // *Expert Rev. Haematol.* – 2013. – Vol. 6. – P. 677-695.

168. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system / H.C. Hemker, R.A. Dieri, E.D. Smedt et al. // *Thromb. Haemost.* – 2006. – Vol. 96. – P. 553-561.

169. Thrombomodulin: an anticoagulant cell surface proteoglycan with physiologically relevant glycosaminoglycan moiety / J.F. Parkinson, T. Koyama, N.U. Bang, K.T. Preissner // *Adv. Ex. Med. Biol.* – 1992. – Vol. 313. – P. 177-188.

170. Treatment of proximal deep- vein thrombosis with the oral direct factor Xa inhibitor rivaroxaban (BAY 59-7939): the ODIXa – DTV (Oral Direct Factor Xa

Inhibitor BAY 59-7939 in Patients with Acute Symptomatic Deep-Vein Thrombosis) study / G. Agnelli, A. Gallus, S.Z. Goldhaber et al. // *Circulation*. – 2007. – Vol. 116. – № 2. – P. 180-187.

171. Turpie, A. Venous and arterial thrombosis – pathogenesis and the rationale for anticoagulation / A. Turpie, C. Esmon // *Thromb. Haemost.* – 2011. – Vol. 105. – P. 586-596.

172. Unique pathway of thrombin-induced platelet aggregation mediated by glycoprotein 1b / G. Soslaw, R. Class, D.A. Morgan et al. // *J. Biol. Chem.* – 2001. – Vol. 276. – P. 21173-21183.

173. Van Veen, J.J. Thrombin generation testing in routine clinical practice: are we there yet? / J.J. Van Veen, A. Gatt, M. Makris // *British Journal of Haematology*. – 2008. – Vol. 142. – P. 889-903.

174. Vascular calcification: The price to pay for anticoagulation therapy with vitamin K-antagonists / M.L.L. Chatrou, K. Winckers, T.M. Hackeng et al. // *Blood Reviews*. – 2012. – Vol. 26. – № 4. – P. 155-166.

175. Warfarin-related nephropathy occurs in patients with and without chronic kidney disease and is associated with an increased mortality rate / S.V. Brodsky, T. Nadasdy, B.H. Rovin et al. // *Kidney International*. – 2011. – Vol. 80. – № 2. – P. 181-189.

176. Warfarin treatment in patients with atrial fibrillation: observing outcomes associated with varying levels of INR control / C.L. Morgan, P. McEwan, A. Tukiendorf et al. // *Thromb. Res.* – 2009. – Vol. 124. – № 1. – P. 37-41.

177. WARIS II (Effects of warfarin, aspirin, and the two combined, on mortality and thromboembolic morbidity after myocardial infarction). The XXIII Congress of the European Society of Cardiology. /Effects of long-term, moderate-intensity oral anticoagulation in addition to aspirin in unstable angina. The Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes (OASIS) Investigators // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2001. – Vol. 37. – № 2. – P. 475-484.

178. Weitz, J.I. Emerging anticoagulants for the treatment venous thromboembolism. L.I. Weitz // *Thrombosis and Haemostasis*. – 2006. – Vol. 96. – P. 274-284.

179. Weitz, J.I. New antithrombotic drugs: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th Edition) / J.I. Weitz, J. Hirsh, M.M. Samama // *Chest*. – 2008. – Vol. 133. – P. 234-256.

180. Whitlon, D.S. Mechanisms of coumarin action: significance of vitamin K epoxide reductase inhibition / D.S. Whitlon, J.A. Sadowski, J.W. Suttie // *Biochemistry*. – 1978. – Vol. 17. – P. 1371-1377.

181. Writing committee of the action for stroke prevention alliance. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and atrial fibrillation guidelines in practice / A.J. Camm, F.J. Pinto, G.J. Hankey et al. // *Eur. Heart J*. – 2016. – Vol. 37. – P. 860-867.

182. Zhang, Y-T. Research Progress of Warfarin-associated Vascular Calcification and Its Possible Therapy / Y-T. Zhang, Z-Y. Tang // *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. – 2014. – Vol. 63. – № 1. – P. 76-82.