

Морева Ольга Вячеславовна

**ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ РИСК ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ У
БОЛЬНЫХ С АДЕКВАТНО ПОДОБРАННОЙ ДОЗОЙ ВАРФАРИНА**

14.01.05 – Кардиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в лаборатории клинических проблем атеротромбоза отдела ангиологии НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Панченко Елизавета Павловна

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор

Добровольский Анатолий Борисович

Официальные оппоненты:

Руководитель лаборатории клинической кардиологии ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства, г. Москва, доктор медицинских наук, профессор

Грацианский Николай Андреевич

Профессор кафедры госпитальной терапии №2 лечебного факультета ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, г. Москва, доктор медицинских наук, профессор

Гендлин Геннадий Ефимович

Ведущая организация:

ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___»_____201__г. в ___ часов на заседании диссертационного совета диссертационного совета Д 208.016.01 на базе ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Минздрава России по адресу: 101990, г. Москва, Петроверигский пер., д.10, стр.3

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале ФГБУ «ГНИЦ профилактической медицины» Минздрава России (101990, г. Москва, Петроверигский переулок, д. 10, стр. 3) и на сайте: www.gnicpm.ru

Автореферат разослан «___»_____ 2016 года

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат медицинских наук, с.н.с.

Киселева Наталия Васильевна

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АВК – антагонисты витамина К
АКШ – аортокоронарное шунтирование
АТИФ – активируемый тромбином ингибитор фибринолиза
ВТЭО – венозные тромбоемболические осложнения
ГО – геморрагические осложнения
ИАП-1 – ингибитор активатора плазминогена 1 типа
ИБС – ишемическая болезнь сердца
ИИ – ишемический инсульт
МНО – международное нормализованное отношение
НПВС – нестероидные противовоспалительные средства
ПАП – комплекс плазмин- α_2 -антиплазмин
СКФ – скорость клубочковой фильтрации
СОЭ – скорость оседания эритроцитов
тАП-ИАП-1 – комплекс тканевого активатора плазминогена в сочетании с ингибитором активатора плазминогена 1 типа
ТГВ – тромбоз глубоких вен
ТИА – транзиторная ишемическая атака
ТЭЛА – тромбоемболия легочной артерии
ТЭО – тромбоемболические осложнения
ФК – функциональный класс
ФП – фибрилляция предсердий
ФР – фактор риска
ХСН – хроническая сердечная недостаточность
ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство
ЭКГ – электрокардиограмма
AFASAK – клиническое исследование: the Atrial Fibrillation, Aspirin, Anticoagulation Study from Copenhagen, Denmark
ВААТАФ – клиническое исследование: the Boston Area Anticoagulation Trial for Atrial Fibrillation Investigators
САФА – клиническое исследование: the Canadian Atrial Fibrillation Anticoagulation study
СРВ2 – карбоксипептидаза В2 (активируемый тромбином ингибитор фибринолиза)
СYP2C9 – цитохром P450, семейство 2, подсемейство С, полипептид 9
ЕАFT – клиническое исследование: the European Atrial Fibrillation Trial
HAS-BLED – шкала риска геморрагических событий
HEMORR2HAGES – шкала риска геморрагических событий
SPAF – клиническое исследование: the Stroke Prevention in Atrial Fibrillation study
SPINAF – клиническое исследование: the Stroke Prevention in Non-rheumatic Atrial Fibrillation study
TTR – time in therapeutical range, время нахождения значений МНО в пределах терапевтического диапазона
VKORC1 – витамин К-эпоксидредуктазный комплекс, субъединица 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Антагонисты витамина К (АВК), среди которых наиболее известен варфарин, применяются для лечения тромбозов > 50 лет. Варфарин доказал высокую эффективность в качестве средства для первичной и вторичной профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с ФП. В пяти крупных исследованиях (AFASAK, SPAF, VAATAF, SPINAF, SAFA) АВК были изучены в качестве средства для первичной профилактики, а в исследовании EAFT – в качестве препарата для вторичной профилактики. Было доказано, что у больных с ФП применение варфарина снижает риск возникновения ИИ на 62% [Petersen P., et al 1989, Connolly S.J., et al 1991, Ezekowitz M.D., et al 1992].

Длительная антикоагулянтная терапия является основой лечения ВТЭО [Guyatt G.H., et al 2012] – тромбоза глубоких вен и тромбоэмболии легочной артерии и пациентов с искусственными механическими клапанами сердца [Mok S.K., et al 1985]. Больные с антифосфолипидным синдромом также нуждаются в профилактике ТЭО с помощью АВК. Несмотря на появление новых пероральных антикоагулянтов и получение доказательств их эффективности при лечении пациентов с ФП и ВТЭО, варфарин остается наиболее широко используемым пероральным антикоагулянтом, а у больных с искусственными клапанами сердца, антифосфолипидным синдромом и генетическими тромбофилиями пока не имеет альтернативы.

Однако терапия варфарином сопряжена со сложностями, связанными с узким терапевтическим окном, необходимостью регулярного контроля МНО. Варфарин взаимодействует со многими лекарственными препаратами и пищевыми продуктами, что требует особого внимания врача и пациента. Следствием этого являются кровотечения, частота которых на терапии варфарином составляет от 9,0% до 26,5% в год. При этом крупные кровотечения встречаются с частотой 0,3-7,2% в год [Ezekowitz M.D., et al 1992, Fihn S.D., et al 1993, Hylek E.M., et al 2007, Granger C.V., et al 2011], а наиболее часто на терапии АВК отмечаются так называемые малые кровотечения. Предыдущие исследования показали, что у пациентов, длительно принимающих варфарин, доля рецидивирующих малых кровотечений при терапевтических значениях МНО составляет около 30% [Морева О.В. и др. 2015]. Эти «надоедливые», неоднократно рецидивирующие кровотечения, как правило, не связаны с известным источником кровотечения и возникают при терапевтическом уровне антикоагуляции. Нередко эти кровотечения являются причиной необоснованного прекращения терапии АВК. Причина их возникновения до сих пор не выявлена.

В настоящее время для практикующих врачей наиболее удобными шкалами риска оценки кровотечений у больных с ФП представляются HAS-BLED и HEMORR2HAGES. Современные Европейские, Российские и Американские клинические рекомендации для оценки риска геморрагических осложнений у больных ФП предлагают использовать шкалу HAS-BLED. Задача этой шкалы – выявить больных с высоким риском кровотечений, устранить у них возможные факторы риска и выбрать наиболее безопасный для больного антикоагулянт.

Наиболее уязвимым периодом в плане развития кровотечений, является первый месяц лечения варфарином, когда происходит подбор индивидуальной дозы препарата. Известно, что

доза варфарина является генетически детерминированной. Кровотечения, возникающие на фоне развития чрезмерной гипокоагуляции в начале терапии, связаны с носительством аллельных вариантов основного фермента биотрансформации варфарина в печени CYP2C9 и молекулы-мишени VKORC1. В настоящее время известен алгоритм подбора дозы варфарина с учетом данных генотипирования, что позволяет уменьшить риск кровотечений в начале терапии. Однако не все кровотечения можно объяснить повышенной чувствительностью к варфарину. Генотипирование варфарина не решает всех проблем, т.к. кровотечения возникают у больных и в терапевтическом диапазоне МНО. Данные Воробьевой Н. М. и др. 2013 указывают, что на возникновение кровотечений может влиять состояние системы фибринолиза, в частности содержание уровня активированного тромбином ингибитора фибринолиза (АТИФ). АТИФ активируется под действием тромбина и отщепляет С-концевые остатки лизина и аргинина на начальных этапах лизиса фибрина, таким образом, замедляя фибринолиз. Учитывая, что активация АТИФ зависит напрямую от генерации тромбина, то есть основания полагать, что АТИФ, возможно, является фактором, который влияет как на эффективность, так и на безопасность антикоагулянтной терапии варфарином. Однако в настоящее время влияние уровня АТИФ на возможность развития кровотечений практически не изучено. В работе [Воробьева Н. М. и др. 2011] было показано, что «низкий» уровень АТИФ (<90%) ассоциировался со спонтанными кровотечениями и с кровотечениями на фоне терапевтических значений МНО.

Варфарин ингибирует синтез четырёх витамин К зависимых факторов свертывания крови (II, VII, IX, X) и не обладает непосредственным фибринолитическим действием, однако по данным Кропачевой Е. С. и др. 2004 и Воробьевой Н. М. и др. 2008 динамическое наблюдение за размерами тромбов в ушке левого предсердия у больных ФП, и у больных с ТГВ продемонстрировало возможность лизиса тромбов на терапии варфарином. Идентичные данные были получены и в ряде работ зарубежных авторов [Scardi S., et al 1997, Corrado G., et al 1999, Kimura M., et al 2001].

Цель исследования. Изучить взаимосвязь клинических, коагуляционных и генетических показателей с риском развития геморрагических осложнений у больных, длительно принимающих варфарин.

Задачи исследования. На основании ретро- и проспективного наблюдения за больными, длительно принимающими варфарин, изучить:

- 1) частоту кровотечений в зависимости от длительности лечения;
- 2) структуру кровотечений;
- 3) клинические факторы, ассоциированные с кровотечениями;
- 4) предсказательную значимость шкал HAS-BLED и HEMORR2HAGES в отношении реально возникающих кровотечений;
- 5) взаимосвязь фармакогенетики варфарина с риском развития кровотечений;
- 6) влияние варфарина на показатели, характеризующие свертывающую систему крови (Д-димер, фибриноген) и фибринолиз (АТИФ, ИАП-1, тАП-ИАП-1 и ПАП);
- 7) связь показателей фибринолиза с риском развития кровотечений;

8) частоту носительства полиморфизмов гена, кодирующего АТИФ, и их связь с содержанием АТИФ в плазме крови.

Научная новизна

У больных, принимающих варфарин, в структуре всех геморрагических осложнений самыми частыми (61,3%) являются малые рецидивирующие кровотечения, возникающие при терапевтических значениях МНО.

Длительная терапия варфарином сопровождается снижением содержания фибриногена, Д-димера и увеличением комплекса ПАП в плазме крови больных, что свидетельствует о подавлении каскада свёртывания крови и активации системы эндогенного фибринолиза.

Установлено, что терапия варфарином уменьшает содержание АТИФ в плазме крови пациентов, что, возможно, является одним из механизмов активации системы фибринолиза, наблюдаемой у больных, получающих варфарин.

Впервые установлено, что снижение АТИФ на терапии варфарином более чем на 15,5% у больных, принимающих варфарин, ассоциируется с риском развития малых рецидивирующих кровотечений.

Изучена частота носительства трех полиморфизмов гена карбоксипептидазы В2 (СРВ2), контролирующего АТИФ, и обнаружена их взаимосвязь с содержанием АТИФ в плазме крови. Наименьший уровень АТИФ наблюдался при носительстве полиморфизмов: 438АА, 505GG, 1040ТТ.

Практическая значимость

Шкалы HAS-BLED и HEMORR2HAGES у больных, получающих варфарин, позволяют оценить риск малых рецидивирующих кровотечений, и не информативны в отношении кровотечений, связанных с передозировкой варфарина в первый месяц лечения и возникающих впоследствии однократных кровотечений.

Носительство генотипов А/А VKORC1 и/или 2*/2*, 2*/3*, 3*/3* CYP2C9, определяющих повышенную чувствительность к варфарину, ассоциируется с риском развития кровотечений в первый месяц лечения, поэтому исследование фармакогенетики варфарина может быть полезным перед началом лечения у больных, имеющих дополнительные ФР кровотечений.

У больных, начинающих лечение варфарином, целесообразно определять уровень АТИФ до начала лечения и через 3 месяца терапии, т. к. снижение содержания АТИФ на терапии варфарином более чем на 15,5% наряду с величиной СКФ ≤ 60 мл/мин/1,73м², одновременным приемом НПВС, позволяет прогнозировать возникновение малых рецидивирующих кровотечений.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в научную и практическую работу лаборатории клинических проблем атеротромбоза отдела ангиологии НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Апробация работы. Материалы доложены на межотделенческой конференции по апробации кандидатских диссертаций в НИИ клинической кардиологии им А.Л. Мясникова ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ по апробации кандидатских диссертаций 21 декабря 2015 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, в том числе 2 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК.

Материалы диссертации были представлены: на Российском национальном конгрессе кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» сентябрь 2014 г., Казань, РФ; на XXV съезде международного общества по изучению тромбозов и гемостаза июнь 2015 г., Торонто, Канада; на Юбилейной Всероссийской научно-практической конференция (55 ежегодная сессия) «70 лет борьбы за жизнь», июнь 2015 г., Москва, РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 142 страницах компьютерной верстки, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 133 публикации отечественных и иностранных авторов. Работа содержит 34 таблицы и 9 рисунков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования. Работа выполнена в лаборатории клинических проблем атеротромбоза ФГБУ РКНПК МЗ РФ. В открытое ретро-проспективное нерандомизированное исследование было включено 150 больных, получающих варфарин, которые находились на амбулаторном и стационарном лечении в институте. Больные были разделены на 2 когорты. Первую когорту составили больные с показаниями к терапии варфарином и не имевшие опыта приема препарата до включения в исследование, вторую когорту – пациенты, которые на момент включения в исследование не менее 12 месяцев принимали варфарин в индивидуально подобранной дозе. Длительность наблюдения за больными первой когорты составила от 6 до 18 месяцев; все больные второй когорты наблюдались 6 месяцев. Протокол исследования представлен на рисунке 1.

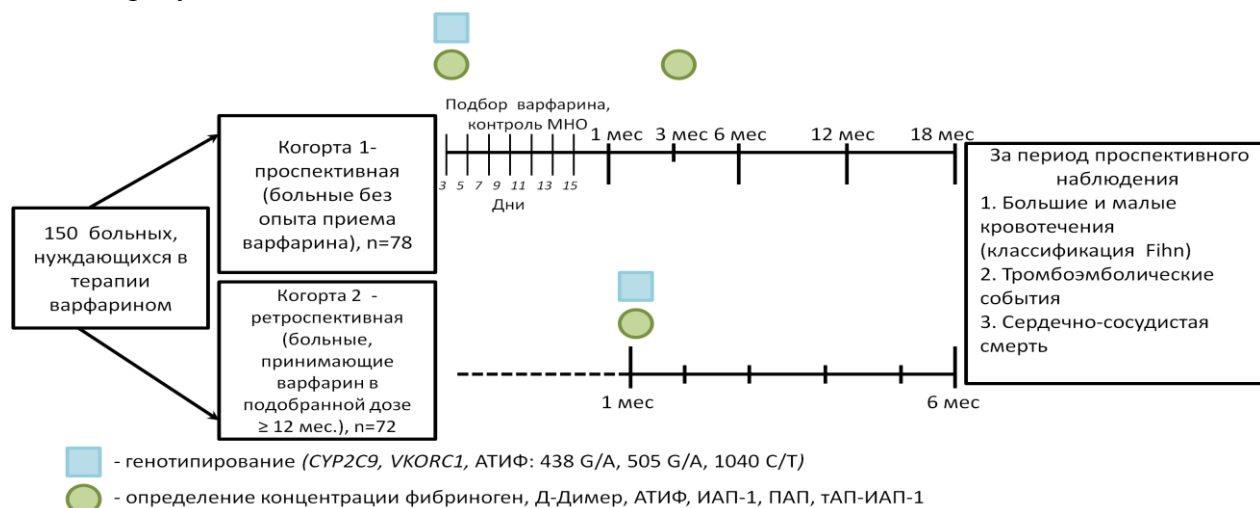


Рис. 1 Протокол исследования.

Первая когорта – больные без опыта приема, но с показаниями к назначению варфарина.
Критерии включения больных в исследование: мужчины и женщины в возрасте 18-85 лет с отсутствием противопоказаний к назначению АВК, подписавшие информированное согласие; показаниями для назначения варфарина были: 1) постоянная или пароксизмальная форма ФП у больных с наличием как минимум одного фактора риска ТЭО. Согласно шкале CHA2DS2-VASc

к факторам риска были отнесены: ХСН, артериальная гипертония, сахарный диабет, сосудистое заболевание, возраст ≥ 65 лет, женский пол, перенесенный ИИ или ТИА. В случае, когда единственный ФР – женский пол, развитие ишемического инсульта принято считать низким и терапия варфарином не назначалась. К эхокардиографическим факторам риска были отнесены: тромб или спонтанное эхоконтрастирование 3-4 степени в ушке и/или полостях предсердий, выраженное нарушение сократительной функции левого желудочка (фракция выброса $\leq 40\%$).

2) Острый или перенесенный эпизод ВТЭО > 1 месяца назад. 3) Тромбоз левого желудочка сердца. 4) Механический протез клапана сердца. 5) Артериальный тромбоз на фоне врожденного дефицита протеина С. 6) Ранние осложнения после перенесенного ЧКВ и/или АКШ – тромбоз шунтов, стентов, у больных моложе 60 лет и уровнем липопротеида (а) ≥ 100 мг/дл и/или носителей гомозиготной мутации ИАП-1 (4G/4G) и низким риском кровотечений.

Критерии исключения больных из исследования: возраст <18 или >85 лет, беременность, алкоголизм и наркомания, противопоказания к проведению терапии АВК: информация о непереносимости или аллергии на препарат, внутрочерепные аневризмы или сосудистые мальформации, активное кровотечение любой локализации, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, эрозивно-язвенный гастрит в стадии обострения, метроррагии у женщин в постменопаузальном периоде, геморрагический инсульт в анамнезе, портальная гипертензия с варикозным расширением вен пищевода, нарушение функции почек – снижение СКФ <15 мл/мин и/или печени – повышение уровня гепатоспецифических ферментов более чем в 5 раз от верхней границы нормы, недавние травмы или обширные оперативные вмешательства, геморрагические диатезы, гиповитаминоз витамина К, деменция или тяжелые нарушения центральной нервной системы в анамнезе, острый инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, а также больные, у которых технически невозможно проведение ежемесячного лабораторного контроля уровня коагуляции.

Всем больным первой когорты была подобрана адекватная терапия основного заболевания, включавшая при необходимости гипотензивные, антиангинальные, гиполипидемические, ритм-урежающие препараты. В качестве антагониста витамина К был рекомендован варфарин «Takeda». Начальная доза препарата в большинстве случаев составляла 5 мг/сут. При назначении варфарина пожилым больным, пациентам с ХСН III-IV ФК начальная доза варфарина была уменьшена вдвое и составляла 2,5 мг/сут. Подбор дозы варфарина проводился эмпирическим путем (без учета генотипирования) в соответствии с Российскими рекомендациями по антитромботической терапии у больных со стабильными проявлениями атеротромбоза 2009 г. Во время подбора индивидуальной дозы препарата контроль уровня МНО проводился каждые 2-3 дня до получения двух последовательных результатов уровня МНО в целевом диапазоне – МНО крови на уровне 2,5-3,5 для больных с наличием искусственных клапанов сердца и 2,0-3,0 для всех остальных больных, тогда доза варфарина считалась подобранной. Далее контакт с больным и контроль уровня МНО осуществлялся 1 раз в 4 недели. При изменении дозы варфарина следующий контроль был проведен через 7 дней. При временной отмене препарата в связи с повышением уровня МНО $\geq 4,0$ или развитием

кровотечений, контроль коагулограммы проводился ежедневно до достижения МНО терапевтического диапазона и регрессирования признаков кровотечения, а далее ежемесячно.

Всем больным при включении в исследование проводилось клинико-инструментальное обследование и определены следующие показатели: Д-димер, фибриноген, ИАП-1, тАП-ИАП-1, ПАП, АТИФ. Уровень вышеуказанных коагуляционных показателей в первой когорте больных был измерен дважды – до начала терапии варфарином и, как минимум, через 3 месяца лечения.

Вторая когорта – больные, имеющие показания и принимающие варфарин в подобранной дозе не менее 12 месяцев).

Критерии включения и исключения больных из исследования были такими же как для больных первой когорты.

Всем больным второй когорты также был определен ряд коагуляционных показателей: Д-димер, фибриноген, ИАП-1, тАП-ИАП-1, ПАП, АТИФ. Уровень вышеуказанных коагуляционных показателей во второй когорте больных определялся однократно. Контакт с больными и контроль уровня МНО осуществлялся ежемесячно.

Все пациенты наблюдались в коагуляционном кабинете, созданном на базе лаборатории клинических проблем атеротромбоза в ФГБУ РКНПК МЗ РФ. Пациенты первой когорты были прикреплены к коагуляционному кабинету после выписки из стационара или на этапе амбулаторного обследования. Пациенты второй когорты длительно, от 1 года до 10 лет, наблюдались в коагуляционном кабинете и на момент включения в исследование находились на необходимой и адекватной медикаментозной терапии.

Для оценки качества проводимой антикоагулянтной терапии был определен показатель Time in therapeutical range (TTR) – время нахождения значений МНО в пределах терапевтического диапазона, который был рассчитан, как количество значений МНО (в %) для каждого больного, которые находились в пределах целевого диапазона МНО (период подбора дозы варфарина не учитывался при расчете TTR):

$$TTR = \frac{\text{Количество измерений МНО в целевом диапазоне}}{\text{Общее количество измерений МНО}} \times 100\%$$

Больные обеих когорт при включении в исследование получали памятку, которая содержала информацию по питанию, о лекарственных взаимодействиях и побочных эффектах варфарина, о тактике поведения больного при развитии геморрагических событий.

Все больные, составляющие первую и вторую когорты, имели показания для длительной терапии варфарином, и критерием прекращения антикоагулянтной терапии являлось развитие большого геморрагического осложнения, в случае если после устранения источника и причины кровотечения терапия АВК не могла быть возобновлена.

Во время наблюдения учитывались следующие исходы.

1. Тромбоэмболические осложнения: ИИ, ТИА, тромбоэмболия по большому кругу кровообращения, тромбоэмболия ветвей легочной артерии.

2. Геморрагические осложнения по классификации Fihn подразделялись на большие и малые. К большим геморрагиям относили: а) фатальные – повлекшие за собой смерть больного, и которые не могли случиться без приема варфарина; б) жизнеугрожающие – которые привели

к нарушениям сердечной и дыхательной деятельности; потребовали проведения хирургического или ангиографического вмешательства; сопровождалась серьезной кровопотерей со снижением систолического артериального давления <90 мм.рт.ст., гематокрита $<20\%$ или потребовали переливания ≥ 3 -х доз крови; привели к таким необратимым состояниям, как инфаркт миокарда, инсульт, слепота; к угрожающим жизни кровотечениям относили также внутричерепное кровоизлияние, гемоторакс, кровоизлияние в сетчатку глаза; в) серьезные – желудочно-кишечное кровотечение явное или скрытое, выявленное при эндоскопическом исследовании; выраженная гематурия, продолжавшаяся >2 суток или потребовавшая проведения цистоскопии или внутривенной урографии; кровотечение, потребовавшее переливания 2-х доз крови; кровохарканье. К малым кровотечениям относили любые другие ГО, которые не потребовали отмены препарата, госпитализации, проведения дополнительного обследования и лечения (подкожные гематомы, носовые, субконъюнктивальные кровотечения, кровоточивость десен, кровотечение после экстракции зуба, микрогематурия, геморроидальное кровотечение, незначительное появление крови в кале и др.).

Кроме больших и малых кровотечений для решения поставленных задач отдельно были проанализированы пациенты: 1) прожившие период наблюдения без кровотечений, 2) с кровотечением в 1-й месяц лечения при $MHO > 4$, 3) с любым однократным кровотечением после 1-го месяца лечения, 4) с рецидивирующими малыми кровотечениями, возникающими при терапевтических значениях MHO после 1-го месяца лечения.

3. Сердечно-сосудистая смерть.

Методы исследования. Общеклинические методы исследования. Клиническое обследование включало сбор анамнеза, физикальное обследование, ЭКГ покоя, трансторакальную эхокардиографию, при необходимости и по показаниям проводилось суточное мониторирование ЭКГ по Holter, чреспищеводная эхокардиография, определяли функцию щитовидной железы, выполняли ультразвуковое исследование внутренних органов, ультразвуковую доплерографию магистральных сосудов и сосудов конечностей. Рутинные лабораторные методы исследования включали общий анализ мочи, общий и биохимический анализы крови с определением количества эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гемоглобина, гематокрита, лейкоцитарной формулы, СОЭ, уровня общего холестерина, триглицеридов, глюкозы, гепатоспецифических ферментов, билирубина, креатинина с определением СКФ. Расчет СКФ был проведен по двум формулам: СКД-ЕПІ и MDRD. Для оценки риска геморрагических осложнений у больных обеих когорт мы использовали шкалы HAS-BLED и HEMORR2HAGES.

Лабораторные методы исследования. Исследование коагуляционных показателей проводилось в лаборатории клинических проблем атеротромбоза НИИ клинической кардиологии им А.Л. Мясникова ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ. Определение содержания Д-димера, ИАП-1, ПАП, тАП-ИАП-1 производилось методом иммуноферментного анализа. Содержание фибриногена измеряли клоттинговым методом (по Клауссу). Уровень АТИФ определяли фотометрическим методом. Для измерения уровня MHO был использован тромбопластин с международным индексом чувствительности 1,25. Анализ коагулограммы с определением

протромбинового времени, % по Квику и расчет МНО проводился непосредственно после получения образца крови. Для определения других коагуляционных показателей образцы крови были заморожены и хранились до проведения анализа.

Генетические методы исследования. Всем больным при включении в исследование было предусмотрено взятие образцов крови для определения полиморфизмов генов АТИФ (438 G/A, 505 G/A, 1040 C/T), СУР2С9 (430С/Т, 1075А/С) и VKORC1 (3673G/A). Образцы крови были заморожены и хранились до проведения анализа. Генотипирование было проведено в два этапа: 1) выделение ДНК и 2) определение замен одиночных нуклеотидов АТИФ, СУР2С9, VKORC1 методом «примыкающих проб». Генетические исследования образцов крови были выполнены сотрудниками ООО «НПО ДНК-Технология», Москва.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием статистических программ STATISTICA'10, Excel 2007 и Medcalc. Вид распределения количественных признаков был проанализирован при помощи теста Колмогорова-Смирнова. При параметрическом распределении признака вычисляли среднее (M) и стандартное отклонение (SD). Для количественных непараметрических показателей вычисляли медиану (Me) и интерквартильный размах (25-й процентиль; 75-й процентиль). При анализе генетических данных определяли частоту носительства генотипов и аллелей исследованных полиморфизмов. Частота носительства генотипов представлена как n (%), аллелей – в виде доли от единицы. В работе были использованы следующие критерии и методы анализа данных: U-критерий Манна-Уитни, двусторонний точный тест Фишера, критерий χ^2 -квадрат, критерий Крускала-Уоллиса, критерий Вилкоксона. Многофакторный анализ был проведен с помощью процедуры пошагового дискриминантного анализа и метода логистической регрессии. Для оценки диагностической значимости АТИФ была построена характеристическая кривая (ROC-curve). В качестве критерия диагностической значимости рассчитывали площадь под ROC-кривой. Статистически значимыми считали различия при двустороннем $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика обследованных больных. Когорта 1. Первую когорту составили 78 больных (40 мужчин и 38 женщин) с наличием абсолютных показаний к терапии варфарином и не имевших опыта приема препарата. Длительность наблюдения за больными составила от 6 до 18 месяцев. **Когорта 2.** Вторую когорту составили 72 пациента, которые на момент включения в исследование принимали варфарин в подобранной дозе как минимум 12 месяцев. Период лечения варфарином в этой когорте больных составил от 1 года до 10 лет. Длительность наблюдения за больными составила 6 месяцев. Клиническая характеристика первой и второй когорты больных представлена в таблице 1.

Представленные когорты значимо не отличались друг от друга по полу, возрасту, наличию сопутствующей патологии. Показатель TTR у больных обеих когорт был достаточно высоким и составил $>65\%$. Единственным отличием было более частое выявление пароксизмальной формы ФП в первой когорте больных и постоянной формы ФП во второй когорте.

Таблица 1

Клиническая характеристика больных, включенных в исследование, n=150

Показатель	Когорта 1 (n=78)	Когорта 2 (n=72)	p
Мужчины/женщины, n (%)	40/38 (51,3/48,7)	42/30 (58,3/41,7)	НД
Возраст (M±SD), лет	64,3 ± 12,2	65,2 ± 9,9	НД
Индекс массы тела (M±SD), кг/м ²	29,1 ± 4,7	33,5 ± 3,3	НД
Курение, n (%)	8 (10,3)	7 (9,7)	НД
TTR (M±SD), %	71,5 ± 19,9	65,1 ± 23,8	НД
Период наблюдения (M±SD), месяцы	13,1 ± 4,2	6,0 ± 0	
Показания к назначению варфарина			
1. Фибрилляция предсердий, n (%)	63 (80,8)	63 (87,5)	НД
а) пароксизмальная форма ФП, n (%)	38 (48,7)	14 (19,4)	0,01
б) постоянная форма ФП, n (%)	25 (32,1)	49 (68,1)	0,01
Балл по шкале CHADS ₂ , M±SD	2,1 ± 1,3	2,03 ± 1,3	НД
Балл по шкале CHA ₂ DS ₂ -VASc, M±SD	4,1 ± 1,7	3,9 ± 1,8	НД
• Изолированная ФП, n (%)	57 (73,1)	52 (72,2)	НД
• ФП+ТГВ, n (%)	1 (1,3)	3 (4,2)	НД
• ФП+ТГВ+ТЭЛА, n (%)	2 (2,6)	3 (4,2)	НД
• ФП+ТЭЛА, n (%)	–	1 (1,4)	НД
• ФП+тромбоз ЛП, n (%)	1 (1,3)	–	НД
• ФП+механический протез клапана сердца, n (%)	2 (2,6)	3 (4,2)	НД
• ФП+ механический протез клапана сердца+ТГВ, n (%)	–	1 (1,4)	НД
2. ТГВ, n (%)	2 (2,6)	4 (5,6)	НД
3. ТГВ+ТЭЛА, n (%)	2 (2,6)	2 (2,8)	НД
4. ТЭЛА, n (%)	1 (1,3)	–	НД
5. Тромбоз левого желудочка, n (%)	1 (1,3)	1 (1,4)	НД
6. Искусственный клапан сердца, n (%)	1 (1,3)	–	НД
7. Артериальный тромбоз на фоне врожденного дефицита протеина С, n (%)	1 (1,3)	–	НД
8. Другие*, n (%)	7 (9,0)	2 (2,8)	НД
Сопутствующие заболевания и перенесенные вмешательства			
Гипертоническая болезнь, n (%)	71 (91,0)	63 (87,5)	НД
ИБС, n (%)	42 (53,8)	32 (44,4)	НД
Постинфарктный кардиосклероз, n (%)	20 (25,6)	9 (12,5)	НД
Стенокардия напряжения 1-2 ФК, n (%)	15 (19,2)	19 (26,4)	НД
ЧКВ и/или АКШ в анамнезе > 3 месяцев назад, n (%)	23 (29,5)	12 (16,7)	НД
Перенесенный миокардит, n (%)	–	2 (2,8)	НД
Дилатационная кардиомиопатия, n (%)	–	1 (1,4)	НД
ТИА/ИИ > 1 месяца назад, n (%)	15 (19,2)	17 (23,6)	НД
ХСН 1-3 ФК NYHA, n (%)	27 (34,6)	22 (30,6)	НД
Сахарный диабет, n (%)	15 (19,2)	19 (26,4)	НД
СКФ (СКД-ЕРІ) ≤ 60 мл/мин/1,73м ² , n (%)	10 (12,8)	9 (12,5)	НД
СКФ (MDRD) ≤ 60 мл/мин/1,73м ² , n (%)	11 (14,1)	5 (7,0)	НД
Нарушение функции щитовидной железы, медикаментозно компенсированное, n (%)	12 (15,4)	10 (13,8)	НД

Примечание: * – больные < 60 лет с ранними осложнениями после перенесенного ЧКВ и/или АКШ (тромбоз шунтов, стентов), уровнем липопротеида (а) ≥ 100 мг/дл и/или носителей гомозиготной мутации ИАП-1 (4G/4G) и низким риском кровотечений; НД – недостоверно.

Частота и структура кровотечений у больных, длительно принимающих варфарин.

За время наблюдения сердечно-сосудистой смерти или ишемических событий зарегистрировано не было; фатальных ГО или внутримозговых кровоизлияний также не зарегистрировано. Вероятными причинами отсутствия геморрагического инсульта и ишемических событий в нашем исследовании являются небольшое количество пациентов, наблюдение за которыми проводилось в условиях коагуляционного кабинета, рекомендации по образу жизни и строгому самоконтролю уровня артериального давления (временная отмена варфарина при дестабилизации артериального давления), ежемесячный контроль уровня МНО.

Среди пациентов первой когорты, впервые начавших лечение варфарином, частота больших кровотечений за первое полугодие составила 5,1%, малых – 39,7%. Частота кровотечений снижалась по мере лечения варфарином и за третье полугодие составила 3,7% и 18,5% соответственно. Во второй когорте больных за период наблюдения больших кровотечений зарегистрировано не было, частота малых геморрагических событий за 6 месяцев наблюдения составила 16,7%. Следует отметить, что частота малых кровотечений в период с 13 по 18 месяц в первой когорте больных была близкой (18,5%) к частоте малых кровотечений у больных второй когорты (16,7%) – рисунок 2.

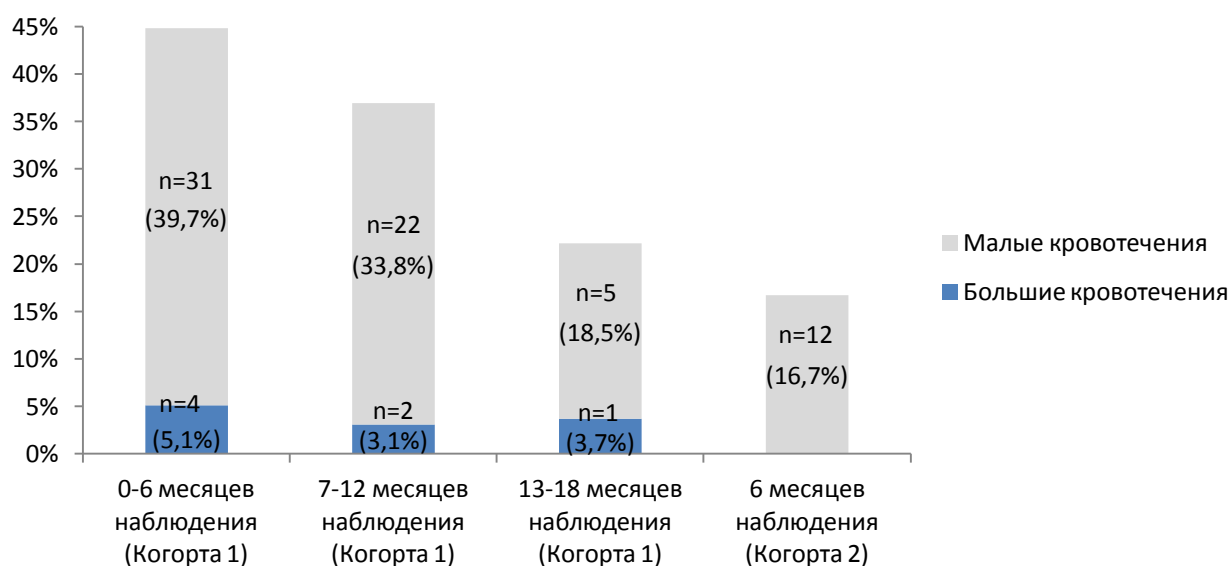


Рис. 2 Частота кровотечений в зависимости от длительности приема варфарина у больных первой и второй когорт.

Полученные нами данные совпадают с результатами других исследователей и подтверждают преобладание малых кровотечений в структуре всех геморрагий, а также указывают, что наиболее уязвимым в отношении риска кровотечений является начало терапии варфарином.

Наиболее опасными, хотя и не самыми частыми, являются большие кровотечения, которые никогда не остаются без внимания врача и пациента. Крупные кровотечения, как правило, имеют источник, а иногда могут быть его первым клиническим проявлением. После большого кровотечения при неустранимом источнике антикоагулянтная терапия не возобновляется. Однако в структуре кровотечений преобладают малые. Малые кровотечения,

как правило, не угрожают жизни пациентов, но, тем не менее, тревожат больных и лечащих врачей. Зачастую малые кровотечения становятся причиной необоснованной отмены антикоагулянтов, что может послужить причиной фатальных тромбозомболических событий, особенно у пациентов с высоким риском ТЭО.

Принимая во внимание практическую важность малых кровотечений, особенно рецидивирующих, все больные были поделены на четыре группы:

- 1) прожившие период наблюдения без кровотечений,
- 2) больные с кровотечением в 1-й месяц лечения при МНО > 4,
- 3) больные с любым однократным кровотечением после 1-го месяца лечения,
- 4) больные с рецидивирующими малыми кровотечениями, возникающими при терапевтических значениях МНО после 1-го месяца лечения.

У больных второй когорты также были учтены геморрагические события, случившиеся за весь период лечения АВК, который в среднем составил $5,4 \pm 3,3$ года. Структура случившихся кровотечений в обеих когортах больных представлена в таблице 2.

Таблица 2

Структура случившихся кровотечений в обеих когортах больных за весь период лечения АВК (n=150)

	Все больные, n=150	Когорта 1, n=78	Когорта 2, n=72
Больные с кровотечениями, n (%)	75 (50,0)	47 (60,3)	28 (38,9)
• Больные с кровотечением в 1-й месяц лечения при МНО > 4, n (%)	9 (6,0)	6 (7,7)	3 (4,2)
• Больные с любым однократным кровотечением после 1-го месяца лечения, n (%)	20 (13,3)	15 (19,2)	5 (6,9)
• Больные с рецидивирующими малыми кровотечениями, возникающими при терапевтических значениях МНО после 1-го месяца лечения, n (%)	46 (30,7)	26 (33,3)	20 (27,8)
Больные без кровотечений, n (%)	75 (50,0)	31 (39,7)	44 (61,1)

В структуре геморрагических осложнений преобладали рецидивирующие малые кровотечения, возникавшие без видимых причин при терапевтическом уровне антикоагуляции, которые отмечались у 30,7% больных, длительно принимающих варфарин, и составили 61,3% от всех случившихся кровотечений.

Клинические ФР кровотечений у больных, длительно принимающих варфарин.

Клинические ФР кровотечений были оценены у больных обеих когорт (n=150). Результаты однофакторного анализа указывают, что больные с любым ГО достоверно чаще принимали трехкомпонентную антитромботическую терапию – варфарин+аспирин 75 мг/сут + клопидогрел 75 мг/сут/ прасугрел 10 мг/сут (p=0,006), имели необходимость приема НПВС 2-3 раза в неделю (p=0,035), получали гастропротективные препараты (ингибиторы протонного насоса) не по поводу двух-/трехкомпонентной антитромботической терапии (p=0,043), имели кровотечения в анамнезе (p=0,018), также у пациентов с ГО была выявлена тенденция в отношении лабильности показателей МНО (p=0,1), величине СКФ (СКД-ЕРІ) <60

мл/мин/1,73м² (p=0,086). Лабильным считали МНО в случае, когда при ежемесячном контроле его уровня получали значения с разбросом ≥ 1 (без учета значений МНО при подборе дозы).

С целью поиска наиболее значимых ФР развития геморрагических осложнений было проанализировано > 60 факторов. В окончательный анализ вошли 6 показателей со значениями $p \leq 0,1$ и проведен многофакторный анализ (модель логистической регрессии) по результатам которого факторами риска любого кровотечения оказались следующие показатели: тройная антитромботическая терапия (ОШ 16,6; 95% ДИ 2,0-139,4; $p=0,01$); кровотечения в анамнезе (ОШ 4,5; 95% ДИ 1,2-17,8; $p=0,03$); гастропротективная терапия ингибиторами протонного насоса (без учета больных, которые принимали гастропротекторы в связи с двойной/тройной антитромботической терапией) (ОШ 3,8; 95% ДИ 1,3-10,8; $p=0,01$); лабильный уровень МНО (ОШ 2,3; 95% ДИ 1,1-4,7; $p=0,03$).

Три из перечисленных выше ФР являются стандартными и входят в известные шкалы для оценки риска геморрагических осложнений HAS-BLED и HEMORR2HAGES у больных с ФП. Применение ингибиторов протонного насоса, в частности омепразола, не относят к стандартным факторам риска развития геморрагических событий. Однако известно, что прием омепразола замедляет элиминацию (биотрансформацию) и усиливает эффект варфарина, что может привести к нестабильности значений МНО, развитию чрезмерной гипокоагуляции и кровотечениям.

Значимость шкал HAS-BLED, HEMORR2HAGES для оценки риска геморрагических осложнений у больных, длительно принимающих варфарин.

Для оценки риска кровотечений у больных обеих когорт (n=150), длительно получающих варфарин, мы использовали шкалы HAS-BLED и HEMORR2HAGES. В соответствии с набранной суммой баллов больных поделили на группы низкого риска (<3-х баллов по шкале HAS-BLED и <4-х баллов по шкале HEMORR2HAGES) и высокого риска геморрагических осложнений (≥ 3 балла по шкале HAS-BLED и ≥ 4 балла по шкале HEMORR2HAGES). Распределение больных с различными видами кровотечений в группах низкого и высокого риска, рассчитанного по шкалам HAS-BLED и HEMORR2HAGES, представлено в таблице 3.

В соответствии со шкалой HAS-BLED в группе высокого риска кровотечений оказалось 78 пациентов, из них у 47 (60,3%) были зарегистрированы геморрагические события. В группе низкого риска оказалось 72 пациента, из которых у 28 (38,9%) пациентов были зарегистрированы геморрагические события. Анализ числа больных с кровотечениями не выявил зависимости от степени риска по шкале HAS-BLED – 47 больных с кровотечениями у 78 пациентов против 28 кровотечений у 72 пациентов ($p=0,2$).

При отдельном анализе больных, у которых кровотечения возникали в первый месяц лечения варфарином и с однократными кровотечениями, возникающими после 1ого месяца лечения, взаимосвязи между степенью риска по шкале HAS-BLED и развитием геморрагических событий также выявлено не было – 3 больных с кровотечениями в первый месяц лечения у 78 пациентов против 6 кровотечений у 72 пациентов ($p=0,3$); 12 больных с

однократным кровотечением после первого месяца лечения у 78 пациентов против 8 кровотечений у 72 пациентов ($p=0,6$).

Группы высокого и низкого риска, определенного на основе шкалы HAS-BLED, различались лишь по количеству пациентов с повторно возникающими кровотечениями. По шкале HAS-BLED среди 78 пациентов из группы высокого риска было 32 (41,0%) больных с повторными кровотечениями против 14 (19,4%) пациентов из 72 больных из группы низкого риска ($p=0,042$).

Таблица 3

Распределение пациентов с различными видами кровотечений в группах низкого и высокого рисков, рассчитанного по шкалам HAS-BLED и HEMORR2HAGES

	HAS-BLED		HEMORR2HAGES	
	Больные с высоким риском кровотечений ≥ 3 балла, (1) n=78	Больные с низким риском кровотечений < 3 баллов, (2) n=72	Больные с высоким риском кровотечений ≥ 4 балла, (3) n=16	Больные с низким риском кровотечений < 4 баллов, (4) n=134
Больные с любым кровотечением, n (%)	47 (60,3)	28 (38,9)	12 (75,0)	63 (47,0)
– больные с кровотечением в 1-й месяц лечения при МНО > 4 , n (%)	3 (3,8)	6 (8,3)	0	9 (6,7)
– больные с однократным кровотечением после 1-го месяца, n (%)	12 (15,4)	8 (11,1)	1 (6,3)	19 (14,2)
– больные с малыми повторными кровотечениями, возникающими при терапевтическом диапазоне МНО после 1-го месяца, n (%)	32 (41,0)	14* (19,4)	11 (68,7)	35** (26,1)
Больные без кровотечений, n (%)	31 (39,7)	44 (61,1)	4 (25,0)	71 (53,0)

Примечание: * $p(1-2)=0,042$; ** $p(3-4)=0,029$

По шкале HEMORR2HAGES в группе высокого риска кровотечений оказалось 16 пациентов, из них у 12 (75,0%) были зарегистрированы геморрагические события. В группе низкого риска оказались 134 пациента, из которых у 63 (47,0%) пациентов были зарегистрированы геморрагические события. Анализ числа больных с кровотечениями не выявил зависимости от степени риска по шкале HEMORR2HAGES – 12 больных с кровотечениями у 16 пациента против 63 кровотечений у 134 пациентов ($p=0,3$).

При отдельном анализе больных, у которых кровотечения возникали в первый месяц лечения варфарином и с однократными кровотечениями, возникающими после 1-го месяца лечения, взаимосвязи между степенью риска по шкале HEMORR2HAGES и развитием геморрагических событий также выявлено не было – 0 больных с кровотечениями в первый месяц лечения у 16 пациентов против 9 кровотечений у 134 пациентов ($p=0,6$); 1 больной с

однократным кровотечением после первого месяца лечения у 16 пациентов против 19 кровотечений у 134 пациентов ($p=0,7$).

Группы высокого и низкого риска, определенного на основе шкалы HEMORR2HAGES, различались лишь по количеству пациентов с повторно возникающими кровотечениями: 11 (68,8%) из 16 пациентов против 35 (26,1%) из 134 пациентов в группе низкого риска, $p=0,029$.

Таким образом, в исследовании группы больных высокого и низкого риска кровотечений, рассчитанного по обеим шкалам, различались лишь по числу больных с рецидивирующими кровотечениями. В реальной жизни существует масса причин для возникновения рецидивирующих кровотечений: плохой контроль артериального давления, сопутствующий прием алкоголя, медикаментозных препаратов, сердечная декомпенсация, плохой контроль за потенциальным источником кровотечения и др.

Шкалы «не работали» в отношении однократно возникающих кровотечений и геморрагических осложнений, связанных с передозировкой варфарина и развитием избыточной гипокоагуляции в период подбора дозы. Возможно, это связано с небольшим количеством больных в нашем исследовании, но также и с тем, что носительство полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1 не учитывается в шкале HAS-BLED.

Результаты исследования подтверждают существующее мнение о том, что используемые шкалы далеки от совершенства. Основным в профилактике кровотечений у больных, получающих варфарин, остается тщательный учет и коррекция имеющихся ФР кровотечений и тщательный патронаж за пациентами, получающими варфарин.

Генетические полиморфизмы VKORC1, CYP2C9 и их влияние на частоту геморрагических осложнений у больных, длительно принимающих варфарин.

Анализ значимости полиморфизмов генов VKORC1 и CYP2C9 в отношении риска кровотечений был проведен ретроспективно, данные фармакогенетики не учитывались при подборе дозы варфарина. Частота носительства полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1 и их комбинаций у всех больных представлена в таблице 4.

Таблица 4

Частота носительства полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1 и их комбинаций у больных обеих когорт (n=150)

n=150	CYP2C9, n (%)					
VKORC1, n (%)	1*/1*, 83 (55,3)	1*/2*, 49 (32,7)	1*/3*, 13 (8,7)	2*/2*, 2 (1,3)	2*/3*, 3 (2,0)	3*/3* –
GG, 56 (37,3)	30 (20,0)	21 (14,0)	5 (3,3)	–	–	–
GA, 74 (49,3)	41 (27,3)	24 (16,0)	6 (4,0)	1 (0,7)	2 (1,3)	–
AA, 20 (13,3)	12 (8,0)	4 (2,7)	2 (1,3)	1 (0,7)	1 (0,7)	–

Примечание: – больные с генетически обусловленной повышенной чувствительностью к варфарину

У 23 пациентов (15,3%) была обнаружена повышенная чувствительность к варфарину в виде носительства генотипа A/A VKORC1 и/или аллельных вариантов 2*/2*, 2*/3*, 3*/3* CYP2C9.

Частота случившихся кровотечений у больных – носителей неблагоприятных генотипов (n=23), представлена в таблице 5.

Таблица 5

Характеристика случившихся кровотечений в зависимости от носительства генотипа А/А VKORC1 и/или аллельных вариантов 2*/2*, 2*/3*, 3*/3* CYP2C9

	Больные с рецидивирующими малыми кровотечениями при терапевтическом диапазоне МНО (1) n=46	Больные с однократными кровотечениями после 1-го месяца (2) n=20	Больные с кровотечениями в 1-й месяц лечения при МНО > 4 (3) n=9	Больные без кровотечений (4) n=75
Носители генотипа повышенной чувствительности к варфарину*	5 (11%)	3 (15%)	6 (67%) **	9 (12%)

Примечание: * – А/АVKORC1 и/или 2*/2*, 2*/3*, 3*/3*СYP2C9; ** – p(3;4)=0,01

Мы обнаружили взаимосвязь между частотой кровотечений, в первый месяц лечения, возникших при МНО > 4,0 и генетически обусловленной повышенной чувствительностью к варфарину. Среди 9 больных с кровотечениями в первый месяц лечения при МНО >4,0, 6 (66,7%) человек оказались носителями полиморфизмов, ассоциированных с повышенной чувствительностью к варфарину против 9 (12,0%) носителей полиморфизмов из 75 больных, переживших период наблюдения без кровотечений (p=0,01).

Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза и генетические полиморфизмы гена АТИФ (СРВ2).

Распределение АТИФ у обследованных больных (n=150) было непараметрическим, его уровень составлял от 45,6% до 185,3% (медиана 100,3%, интерквартильный размах 83,5-120,7%).

В исследовании все три полиморфизма гена СРВ2 были взаимосвязаны с уровнем АТИФ. При этом носительство редких генотипов 438АА и 1040ТТ ассоциировалось с более низким содержанием уровня АТИФ, чем носительство распространенных генотипов 438GG, 438GA и 1040СС, 1040СТ. Напротив, для полиморфизма 505G/A, носительство редкого гомозиготного генотипа 505АА ассоциировалось с более высоким уровнем АТИФ, чем носительство распространенных генотипов 505GG и 505GA – таблица 6.

Таблица 6

Носительство генотипов и аллелей гена СРВ2 и уровень АТИФ у больных, длительно принимающих варфарин (n=150)

Полиморфизм	Частота носительства	Уровень АТИФ, % [Me (25%; 75%)]	P (1-3)
438G/A:			
438GG, n (%)	98 (65,3%)	105,8 (88,9; 128,1) (1)	0,003
438GA, n (%)	47 (31,3%)	90,0 (80,4; 105,2) (2)	
438AA, n (%)	5 (3,3%)	82,3 (79,0; 85,8) (3)	
аллель 438G	0,81		
аллель 438A	0,19		

505G/A:			
505GG, n (%)	60 (40%)	89,4 (78,3; 109,4) (1)	0,0003
505GA, n (%)	72 (48%)	103,7 (88,3; 120,7) (2)	
505AA, n (%)	18 (12%)	125,4 (100,0; 149,1) (3)	
аллель 505G	0,64		
аллель 505A	0,36		
1040C/T:			
1040CC, n (%)	89 (59,3%)	106,1 (88,1; 129,1) (1)	0,007
1040CT, n (%)	56 (37,3%)	93,7 (82,2; 108,9) (2)	
1040TT, n (%)	5 (3,3%)	80,9 (79,0; 85,8) (3)	
аллель 1040C	0,78		
аллель 1040T	0,22		

Показатели свертывающей системы крови и фибринолиза и геморрагические осложнения у больных, длительно принимающих варфарин.

Для выполнения этой части исследования у больных первой когорты анализировали уровень показателей, определенный на фоне лечения варфарином. При анализе показателей, характеризующих свертывающую систему крови – фибриноген, Д-димер, и фибринолиз – комплекс тАП-ИАП-1, ПАП, ИАП-1, АТИФ не было выявлено взаимосвязи их уровня с кровотечениями – таблица 7.

Таблица 7

Сравнение уровня коагуляционных показателей у больных, длительно принимающих варфарин (n=150), с наличием или отсутствием кровотечений

Показатель	Больные с кровотечениями (n=75)	Больные без кровотечений (n=75)	P
Фибриноген (M±SD), г/л	3,7±0,7	3,7±0,6	0,8
Д-димер Me (25%; 75%), нг/л	324 (219; 446)	349 (202; 525)	0,84
тАП-ИАП-1 Me (25%; 75%), нг/мл	15,7 (12,8; 20,4)	16,1 (13,1; 20,9)	0,54
ПАП Me (25%; 75%), нг/мл	240,9 (163,8; 372,5)	223,7 (134,5; 283,9)	0,14
ИАП-1 Me (25%; 75%), Е/мл	7,36 (4,3; 13,5)	6,97 (4,9; 13,6)	0,81
АТИФ Me (25%; 75%), %	97,81 (83,2; 120,2)	102,3 (84,0; 125,3)	0,57

Динамика коагуляционных показателей на терапии варфарином и её связь с безопасностью лечения у больных, впервые начавших терапию варфарином.

Структура кровотечений и характеристика пациентов с рецидивирующими малыми кровотечениями у больных, впервые начавших терапию варфарином.

В первую когорту было включено 78 пациентов без опыта приема, но с показаниями к назначению варфарина. За период наблюдения в первой когорте больных кровотечения были зарегистрированы у 47 (60,3%) пациентов (таблица 2). Однократные кровотечения отмечались у 21 (26,9%) больных, самыми частыми были повторные малые кровотечения при терапевтическом диапазоне МНО, они встречались у 26 (33,3%) больных. Без кровотечений период наблюдения прожил 31 (39,7%) больной.

Однократные кровотечения были отмечены у 21 больного, у 6 кровотечения случились в первый месяц лечения, в период подбора индивидуальной дозы варфарина. Из упомянутых 6

больных с кровотечениями в первый месяц лечения трое (50%) оказались носителями генотипов, определяющих повышенную чувствительность к варфарину (A/AVKORC1 и/или аллельных вариантов 2*/2*, 2*/3*, 3*/3*СYP2C9). У 15 больных однократные кровотечения случились после первого месяца лечения. Причинами кровотечений оказались: у 3-х больных – мочекаменная болезнь с движением камня, у 1-ой пациентки – обострение язвенной болезни желудка, в остальных 11 случаях кровотечения были спровоцированы травмой, операцией, передозировкой препарата (ятрогенной и по неосторожности пациента), терапия кордароном, сопутствующий прием НПВС.

В отдельную группу были выделены 26 больных с рецидивирующими малыми кровотечениями, возникавшими без видимых причин при терапевтических значениях МНО.

Среднее значение TTR у всех больных в первой когорте превышало 70%, что соответствует современным требованиям по лечению АВК, указывает на хорошо подобранную дозу и адекватную терапию варфарином в целом. Однако у 19 из 78 больных TTR был ниже 65%. Учитывая поставленную задачу, в окончательный анализ включили 59 пациентов с хорошо подобранной дозой варфарина (со значением TTR > 65%), среди которых малые рецидивирующие кровотечения отмечались у 18 человек. Сравнительная клиническая характеристика пациентов с наличием или отсутствием рецидивирующих кровотечений при терапевтических значениях МНО представлена в таблице 8.

Таблица 8

Сравнительная характеристика пациентов в зависимости от наличия или отсутствия рецидивирующих кровотечений при терапевтических значениях МНО, n=59 (однофакторный анализ)

Характеристика, n (%)	Больные без рецидивирующих кровотечений, n=41	Больные с рецидивирующими кровотечениями при терапевтических значениях МНО, n=18	p
Женщины, n (%)	19 (46,3)	9 (50,0)	1,0
Возраст ≥ 75 лет, n (%)	7 (17,1)	2 (11,1)	1,0
Гипертоническая болезнь, n (%)	36 (87,8)	17 (94,4)	1,0
Кровотечения в анамнезе, n (%)	2 (4,9)	3 (16,7)	0,3
Лабильное МНО, n (%)	10 (24,4)	8 (44,4)	0,4
Анемия легкой степени тяжести (гемоглобин 90-120 г/л), n (%)	2 (4,9)	1 (5,6)	1,0
ТИА и/или ОНМК, n (%)	6 (14,6)	4 (22,2)	0,7
Язвенная болезнь желудка, вне обострения, n (%)	4 (9,8)	4 (22,2)	0,4
Эрозивный гастрит, в стадии ремиссии, n (%)	8 (19,5)	7 (38,9)	0,4
Хронический геморрой, n (%)	5 (12,2)	4 (22,2)	0,5
СКФ (СКД-ЕП) ≤ 60 мл/мин/1,73м ² , n (%)	0 (0,0)	4 (22,2)	0,01
СКФ (MDRD) ≤ 60 мл/мин/1,73м ² , n (%)	1 (2,4)	3 (16,7)	0,1
Сахарный диабет, n (%)	10	2 (11,1)	0,5
Трехкомпонентная антитромботическая терапия: варфарин+аспирин (75 мг/сут)+клопидогрел (75 мг/сут) /прасугрел (10 мг/сут), n (%)	4 (9,8)	4 (22,2)	0,4

Двухкомпонентная антитромботическая терапия: варфарин + аспирин (75 мг/сут)/клопидогрел (75мг/сут) , n (%)	10 (24,4)	6 (33,3)	0,8
Гастропротективная терапия ингибиторами протонного насоса (без учета больных, которые принимали гастропротекторы в связи с двойной/тройной антитромботической терапией), n (%)	8 (19,5)	4 (22,2)	1,0
Прием НПВС*, n (%)	0 (0,0)	2 (11,1)	0,1
Пероральные слабительные препараты*, n (%)	1 (2,4)	3 (16,7)	0,1

Примечание: * – больные, имеющие необходимость или принимающие данные препараты 2-3 раза в неделю

Результаты однофакторного анализа указывают, что у больных с рецидивирующими кровотечениями достоверно чаще встречалась величина СКФ (СКД-ЕРІ) ≤ 60 мл/мин/1,73м², также была выявлена тенденция к более частому приему пероральных слабительных препаратов и НПВС.

Динамика коагуляционных показателей и её значение в развитии кровотечений у больных, впервые начавших терапию варфарином.

Всем больным, включенным в окончательный анализ, со значением TTR > 65% (n=59) определяли коагуляционные показатели до начала терапии варфарином и, как минимум, через 3 месяца лечения. Результаты представлены в таблице 9.

На фоне адекватного лечения варфарином отмечено снижение активации свертывания, о чем свидетельствует снижение уровня Д-димера с 490 (280; 715) до 361 нг/мл (236; 469), $p=0,0000001$. При этом наблюдалось также нарастание уровня комплекса ПАП, отражающего активацию фибринолиза, с 187 (115; 245) до 279 нг/мл (213; 470), $p=0,000003$. Нельзя исключить, что активация фибринолиза была обусловлена не только ингибированием свертывания крови, но и снижением уровня АТИФ с 106 (97; 126) до 100% (82; 125), $p=0,009$. Также на терапии варфарином отмечено достоверное снижение комплекса тАП-ИАП-1 с 21,4 (16,5; 27,7) до 16,7 нг/мл (14,6; 20,4), $p=0,00002$ и снижение уровня фибриногена с 3,8 (3,3; 4,2) – до 3,5 г/л (3,2; 4,1), $p=0,05$. Достоверная динамика уровня ИАП-1 отсутствовала.

Таблица 9

Динамика коагуляционных показателей на терапии варфарином у первой когорты больных (TTR > 65%), n=59

Показатель	До лечения варфарином (1)	На лечении варфарином (2)	p (1-2)	Направление динамики показателя
	Медиана (25-й процентиль; 75-й процентиль)			
Фибриноген, г/л	3,8 (3,3; 4,2)	3,5 (3,2; 4,1)	0,05	Снижение
Д-димер, нг/мл	490 (280; 715)	361 (236; 469)	0,0000001	Снижение
ПАП, нг/мл	187 (115; 245)	279 (213; 470)	0,000003	Повышение
АТИФ, %	106 (97; 126)	100 (82; 125)	0,009	Снижение
тАП-ИАП-1, нг/мл	21,4 (16,5; 27,7)	16,7 (14,6; 20,4)	0,00002	Снижение
ИАП-1, Е/мл	4,5 (2,6; 8,2)	6,5 (3,6; 13,7)	0,1	Без динамики

Аналогичная динамика показателей отмечалась при анализе всех больных первой когорты, принимавших варфарин (n=78), в число которых вошли пациенты с показателем TTR < 65%.

Учитывая обнаруженную динамику коагуляционных показателей, указывающую на активацию фибринолиза на терапии варфарином, мы более подробно проанализировали динамику каждого показателя.

Как видно из таблицы 9, медиана АТИФ на терапии варфарином снижалась, однако при анализе динамики у каждого пациента снижение АТИФ отмечалось лишь у 42 (71,2%) из 59 больных. Для определения динамики уровня АТИФ вычисляли $\Delta\%$.

$$\Delta\% = \frac{\text{Уровень АТИФ исходно}}{\text{Уровень АТИФ исходно} - \text{Уровень АТИФ на терапии}} \times 100\%$$

Среднее значение величины изменения АТИФ было больше у больных с рецидивирующими кровотечениями (n=18) по сравнению с пациентами (n=41) без таковых: -17,8% и -1,4% соответственно (p=0,005).

Распределение пациентов с рецидивирующими кровотечениями в зависимости от динамики АТИФ представлено в таблице 10.

Таблица 10

Распределение пациентов с рецидивирующими кровотечениями при терапевтических значениях МНО в зависимости от динамики уровня АТИФ на терапии варфарином (n=59)

Квартили	Больные, n	$\Delta\%$ АТИФ от исходного уровня на терапии варфарином	Больные с малыми рецидивирующими кровотечениями, n
Q1	15	-53,2 – -22,7	8
Q2	15	-22,6 – -10,5	6
Q3	14	-10,4 – 5,0	2
Q4	15	5,1 – 66,3	2

Согласно таблице 10, прослеживается взаимосвязь рецидивирующих кровотечений с величиной снижения АТИФ. Наибольшее количество рецидивирующих кровотечений случилось у больных с наибольшим снижением АТИФ: 14 кровотечений у 30 больных из 1 и 2-го квартилей, против 4 кровотечений у 29 больных из 3-4-го квартилей, p=0,058.

Для оценки диагностической значимости динамики уровня АТИФ на терапии варфарином выполнен ROC-анализ – рисунок 3.

Результаты проведенного ROC анализа показали, что снижение АТИФ на терапии варфарином более чем на 15,5% от исходного уровня ассоциируется с развитием малых рецидивирующих кровотечений (чувствительность 87%, специфичность 67%, площадь под кривой 0,75; 95% ДИ 0,6-0,9; p=0,029).

При оценке динамики Д-димера, ПАП, фибриногена, ИАП-1 и комплекса тАП-ИАП-1 не было обнаружено взаимосвязи с кровотечениями.

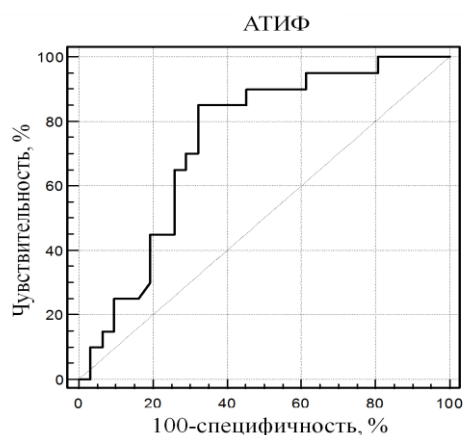


Рис. 3 Диагностическая значимость снижения АТИФ у больных с малыми рецидивирующими кровотечениями (ROC анализ).

С целью поиска предикторов развития малых рецидивирующих кровотечений, возникающих при терапевтических значениях МНО после 1-го месяца лечения у больных с показателем TTR>65%, было проанализировано > 60 факторов. В окончательный анализ вошли клинические и лабораторные показатели со значениями $p \leq 0,1$ (таблица 8) и проведен многофакторный дискриминатный анализ.

По результатам многофакторного анализа предикторами рецидивирующих малых кровотечений, возникающих при терапевтических значениях МНО после 1-го месяца лечения варфарином оказались следующие показатели: снижение уровня АТИФ от исходного более чем на 15,5% ($F=13,1$; $p=0,0006$), СКФ (СКД-ЕРІ) ≤ 60 мл/мин/1,73 м² ($F=11,2$; $p=0,001$), прием НПВС ($F=4,2$; $p=0,045$).

ВЫВОДЫ

1. Среди пациентов, впервые начавших лечение варфарином, частота больших и малых кровотечений за первое полугодие составила 5,1 и 39,7% соответственно. По мере лечения варфарином частота кровотечений снижалась и за третье полугодие составила: 3,7 и 18,5% соответственно, при этом частота малых кровотечений приблизилась к таковой у больных, длительно принимающих варфарин (16,7%).
2. У одной трети (30,7%) больных, длительно принимающих варфарин, отмечались рецидивирующие малые кровотечения при терапевтических значениях международного нормализованного отношения. Эти кровотечения были самыми частыми и составили 61,3% от всех случившихся геморрагических осложнений.
3. Факторами риска любого кровотечения у больных, длительно принимающих варфарин, стали: трехкомпонентная антитромботическая терапия (ОШ 16,6; 95% ДИ 2,0-139,4; $p=0,01$), кровотечения в анамнезе (ОШ 4,5; 95% ДИ 1,2-17,8; $p=0,03$), гастропротективная терапия ингибиторами протонного насоса (ОШ 3,8; 95% ДИ 1,3-10,8; $p=0,01$) и нестабильный уровень международного нормализованного отношения (ОШ 2,3; 95% ДИ 1,1-4,7; $p=0,03$).
4. Группы больных с высоким и низким риском кровотечений, сформированные на основе шкал HAS-BLED и HEMORR2HAGES, достоверно различались лишь по количеству больных с

рецидивирующими малыми кровотечениями. Различий по числу однократных геморрагических осложнений и кровотечений, связанных с передозировкой варфарина в период подбора дозы, обнаружено не было.

5. Носительство генотипов A/A VKORC1 и/или 2*/2*, 2*/3*, 3*/3* CYP2C19, определяющих повышенную чувствительность к варфарину, ассоциирующееся с риском развития кровотечений в первый месяц лечения, обнаружено у 15,3% больных, нуждающихся в приеме антагонистов витамина К.

6. Длительная терапия варфарином уменьшает активацию свертывания крови, что подтверждается снижением содержания фибриногена и Д-димера, а также активирует эндогенный фибринолиз, о чем свидетельствует увеличение комплекса плазмин- α_2 -антиплазмин.

7. Определена величина снижения активируемого тромбином ингибитора фибринолиза на терапии варфарином ($\geq 15,5\%$), связанная с риском малых рецидивирующих кровотечений (чувствительность - 87%, специфичность - 67%, площадь под кривой - 0,75; 95% ДИ 0,6-0,9, $p=0,029$).

8. По данным многофакторного анализа установлено, что снижение активируемого тромбином ингибитора фибринолиза более чем на 15,5% ($F=13,1$; $p=0,0006$) наряду с величиной скорости клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73м² ($F=11,2$; $p=0,001$) и приемом нестероидных противовоспалительных средств ($F=4,2$; $p=0,045$) является независимым фактором риска малых рецидивирующих кровотечений.

9. У пациентов, длительно принимающих варфарин, охарактеризована частота носительства трех полиморфизмов гена CYP2C9, контролирующего активируемый тромбином ингибитор фибринолиза: 438 GG - 65,3%, 438 GA - 31,3%; 438 AA - 3,3%; 505 GG - 40%, 505 GA - 48%, 505 AA - 12%; 1040 CC - 59,3%, 1040 CT - 37,3%, 1040 TT - 3,3%. Обнаружена взаимосвязь между носительством полиморфизмов гена CYP2C9 и содержанием активируемого тромбином ингибитора фибринолиза, минимальный уровень активируемого тромбином ингибитора фибринолиза наблюдался при носительстве полиморфизмов: 438AA, 505GG, 1040TT.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Шкалы HAS-BLED и HEMORR2HAGES, рекомендуемые для оценки риска кровотечений у больных, получающих варфарин, могут быть использованы для прогнозирования развития малых рецидивирующих кровотечений.

2. Целесообразно проводить исследование фармакогенетики варфарина у больных, впервые начинающих лечение, т.к. частота кровотечений в первый месяц терапии ассоциируется с носительством генотипов A/A VKORC1 и/или 2*/2*, 2*/3*, 3*/3* CYP2C9.

3. Обнаружение взаимосвязи между снижением АТИФ более чем на 15,5% и развитием малых рецидивирующих кровотечений обуславливает целесообразность исследования этого показателя до и через 3 месяца терапии варфарином. В случае снижения АТИФ более чем на 15,5% рекомендуется предупреждать больных о возможном возникновении малых рецидивирующих кровотечений и тем самым предотвращать необоснованную отмену АВК.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ

1. Морева О.В., Кропачева Е.С., Панченко Е.П., Добровольский А.Б., Землянская О.А., Донников А.Е., Титаева Е.В., Гуськова И.А. / Значимость общепринятых шкал HAS-BLED и HEMORR2HAGES для оценки риска геморрагических осложнений у пациентов, длительно принимающих варфарин. // **Кардиология**, 2015; – Том 55, №9. – С. 50-56.
2. Морева О.В., Кропачева Е.С., Добровольский А.Б., Титаева Е.В., Панченко Е.П. / Факторы риска рецидива кровотечений при терапевтических значениях международного нормализованного отношения у больных, длительно получающих варфарин. // **Кардиология**, 2016; – Том 56, №2. – С. 40-46.
3. Морева О.В., Кропачева Е.С., Землянская О.А., Трофимов Д.Ю., Добровольский А.Б., Панченко Е.П. / Значение шкал HAS-BLED и HEMORR2HAGES для оценки риска геморрагических осложнений у пациентов, длительно принимающих варфарин, в реальной клинической практике. // Российский национальный конгресс кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии». Казань, 24-26 сентября 2014г. – Материалы конгресса, С. 336.
4. Морева О.В., Кропачева Е.С., Землянская О.А., Добровольский А.Б., Панченко Е.П. / Активируемый тромбином ингибитор фибринолиза и риск рецидивирующих малых кровотечений при терапевтических значениях МНО у пациентов, длительно получающих варфарин. // Юбилейная Всероссийская научно-практическая конференция (55 ежегодная сессия) «70 лет борьбы за жизнь». Москва, 1-2 июня 2015г. – Тезисы, С. 64.
5. Moreva O., Kropacheva E., Zemlyanskaya O., Titaeva E., Dobrovolsky A. and Panchenko E. / What bleedings predict HAS-BLED and HEMORR2HAGES scales in patients on long-term warfarin therapy? // Abstract of the XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Toronto, 20-25 June 2015, suppl. 2, p. 733.
6. Moreva O., Kropacheva E., Zemlyanskaya O., Titaeva E., Dobrovolskiy A. and Panchenko E. / Thrombin activatedfibrinolysis inhibitor is a significant risk factor of recurrent bleedings in patients on long-term warfarin therapy. // Abstract of the XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. Toronto, 20-25 June 2015, suppl. 2, p. 881.