

УДК 615.273.53.03(470.11)

РОГОЗИНА Александра Сергеевна, аспирант, ассистент кафедры клинической фармакологии и фармакотерапии Северного государственного медицинского университета (г. Архангельск). Автор 34 научных публикаций, в т. ч. одной монографии

ВОРОБЬЁВА Надежда Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии и фармакотерапии Северного государственного медицинского университета (г. Архангельск), директор Северного филиала Гематологического научного центра РАМН. Автор 350 научных публикаций, в т. ч. 14 монографий, 32 учебных пособий

ВЛИЯНИЕ АНТАГОНИСТОВ ВИТАМИНА К НА УРОВНИ ТРОМБИНЕМИИ И ГОМОЦИСТЕИНА

Антагонисты витамина К назначают для профилактики и лечения тромбозов, в т. ч. пациентам с протезированными клапанами сердца, фибрилляцией предсердий и тромбозами различной локализации. Целью данной работы являлось определение уровней тромбина, комплекса «тромбин–антитромбин», гомоцистеина у пациентов с фибрилляцией предсердий и тромбозами глубоких вен, принимающих антагонисты витамина К.

В исследование были включены 46 пациентов: мужчины и женщины в возрасте 54 (от 21 до 75 лет) года, принимающие антагонисты витамина К. Первую группу составили пациенты с тромбозами глубоких вен ($n = 37$), вторую – пациенты с фибрилляцией предсердий ($n = 9$). Всем определяли содержание в сыворотке крови показателей тромбинемии: тромбина, комплекса «тромбин–антитромбин» и маркера эндотелиальной дисфункции – гомоцистеина в 1-е сутки (исходно) и на 6-й месяц терапии варфарином. Исходные значения изучаемых показателей статистически значимо не различались между группами, за исключением уровня комплекса «тромбин–антитромбин», который был выше у пациентов с тромбозами глубоких вен ($p < 0,05$). После полугодового применения варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий статистически значимо снижался уровень тромбина ($p < 0,05$), а уровень комплекса «тромбин–антитромбин» не менялся ($p > 0,05$). У пациентов с тромбозами глубоких вен уровень тромбина не снижался ($p > 0,05$), а уровень комплекса «тромбин–антитромбин» статистически значимо повышался ($p < 0,05$). Уровень гомоцистеина в обеих группах оставался на высоком уровне, что объясняется вынужденным использованием диеты, лишенной зеленых растений и овощей, т. е. дефицитной по фолиевой кислоте и витаминам группы В.

Ключевые слова: тромбин, тромбин–антитромбин, гомоцистеин, варфарин, тромбоз, фибрилляция предсердий.

Самым распространенным представителем антагонистов витамина К (АВК) является варфарин, который применяют для лечения и

профилактики тромбоэмболических осложнений [1–9]. Длительная терапия АВК требуется пациентам с фибрилляцией предсердий, про-

тезированными клапанами сердца, тромбозами различных локализаций [2, 3, 5]. Известно, что у пациентов с фибрилляцией предсердий, протезированными клапанами сердца существует высокий риск развития тромбоэмболических осложнений [8]. У пациентов с тромбозами глубоких вен риск повторных тромбоэмболических осложнений в отсутствии адекватной терапии варфарином остается высоким [5, 9]. Имеются данные, что у всех пациентов с тромбоэмболическими осложнениями и риском их развития избыточно активировано коагуляционное звено системы гемостаза (гиперкоагуляция), что способствует тромбообразованию [4, 5]. Лабораторными признаками активации тромбообразования являются повышение в сыворотке крови уровня тромбинеми, что проявляется изменениями следующих показателей: Д-димера, фибриногена, тромбина, комплекса «тромбин–антитромбин» [1, 10]. В патогенезе тромбообразования также особое место уделяется нарушению целостности сосудистой стенки или эндотелиальной дисфункции [6]. Выделяют множество факторов, влияющих на целостность сосудистой стенки. Одним из них является повышенный уровень гомоцистеина – токсичной аминокислоты в сыворотке крови, образующейся в метаболическом цикле метионина (незаменимой аминокислоты) [6, с. 21]. В норме избыток гомоцистеина катаболизируется различными путями: при участии фолиевой кислоты и витамина В12 или с помощью витамина В6 [6, с. 23]. Доказано, что высокая концентрация гомоцистеина – гипергомоцистеинемия является независимым предиктором развития тромбозов [5]. Механизмы возникновения сосудистых осложнений при гипергомоцистеинемии в настоящее время активно изучаются [6, с. 21]. Поэтому анализ показателей тромбинеми (тромбин, комплекс «тромбин–антитромбин») и уровня гомоцистеина в сыворотке крови у пациентов, принимающих АВК, является целесообразным для контроля за эффективностью терапии [1].

Целью нашего исследования явилось определение уровней тромбина, тромбин–антитромбина, гомоцистеина у пациентов с фибрил-

ляцией предсердий и тромбозами глубоких вен, принимающих антагонисты витамина К.

Материалы и методы. Проспективное клинико-лабораторное исследование было выполнено на базах центральной научно-исследовательской лаборатории Северного государственного медицинского университета, лаборатории гемостаза и атеротромбоза Государственного бюджетного учреждения здравоохранения Архангельской области «Первая городская клиническая больница имени Е.Е. Волосевич» г. Архангельска и Северного филиала Гематологического научного центра Министерства здравоохранения Российской Федерации.

В исследование включено 46 пациентов с фибрилляцией предсердий и тромбозами глубоких вен, принимающих АВК и наблюдающихся в лаборатории гемостаза и атеротромбоза с марта 2012 года по сентябрь 2013. Средний возраст пациентов составил 54 года (от 21 до 75 лет). В исследуемой группе мужчины составляли 54,3 % (n = 25), в то время как женщины – 45,6 % (n = 21). В зависимости от цели назначения варфарина пациенты были разделены на две группы: 1-я группа – 37 пациентов с тромбозами глубоких вен, получающие АВК для лечения тромбоза; 2-я группа – 9 пациентов с фибрилляцией предсердий, получающие АВК для профилактики тромбоэмболических осложнений. У пациентов в группах были проанализированы сопутствующая патология, риск кровотечений на фоне терапии АВК по шкале HAS-BLED [8] и риск развития тромбоэмболических осложнений для пациентов с фибрилляцией предсердий по шкале CHA₂DS₂VASc [11]. Медианное значение возраста было различным у пациентов в группах (табл. 1). Анамнестические данные исследуемых пациентов представлены в табл. 2.

Кровь для исследования забирали из локтевой вены в вакуум-пробирки, содержащие раствор цитрата натрия (соотношение крови и раствора 9:1). Кровь забирали, затем центрифугировали в течение 10 мин со скоростью 2000 об/мин при комнатной температуре. Полученную плазму отделяли, немедленно замораживали и хранили при температуре не выше –20 °С.

Таблица 1

ВОЗРАСТНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ И СРЕДНИЕ БАЛЛЫ РАЗВИТИЯ КРОВОТЕЧЕНИЙ (HAS-BLED) И ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ (CHA₂DS₂VASC) В ГРУППАХ, МЕ (Q1-Q3)

Показатели	Все пациенты (n=46)	1-я группа (тромбоз глубоких вен; n=37)	2-я группа (фибрилляция предсердий; n=9)	р-уровень
Возраст	54 (37; 59)	45,0(33; 52)	69(59; 73)	< 0,001
Средний бал HAS-BLED	1,5(1,0; 2,8)	2,0(1,0; 2,5)	2,0(1,3; 3,0)	0,229
Средний бал по CHA ₂ DS ₂ VASC*	–	–	1,5(0; 2,75)	–

Примечание. * – для пациентов с фибрилляцией предсердий.

Таблица 2

АНАМНЕСТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ 1-Й (ТРОМБОЗ ГЛУБОКИХ ВЕН) И 2-Й (ФИБРИЛЛЯЦИЯ ПРЕДСЕРДИЙ) ГРУПП

Показатели	Все пациенты, % (n=46)	1-я группа, % (тромбоз глубоких вен; n=37)	2-я группа, % (фибрилляция предсердий; n=9)	Р-уровень
Мужчины	54,0	47,0	6,5	0,158
Ишемическая болезнь сердца	19,6	6,5	13,0	< 0,001
Острое нарушение мозгового кровообращения/транзиторная ишемическая атака	13,0	4,3	4,3	0,03
Артериальная гипертензия	19,6	16,2	33,0	0,246

Уровень гомоцистеина, тромбина, содержание комплекса тромбин-антитромбин определяли в сыворотке крови в 1-е сутки и на 6-й месяц исследования. Для количественного определения показателей в образцах плазмы использовали метод иммуноферментного анализа. Содержание комплекса «тромбин–антитромбин» определяли методом ELISA с помощью набора реактивов Assay Max Human Thrombin-antitrombin Complexes ELISA, Assay Pro, США. Тромбин определяли тем же методом набором реактивов Assay Max Human Thrombin Complexes ELISA, Assay Pro, США. Гомоцистеин определяли с помощью набора реактивов Axis Homocysteine Enzyme Immuno assay, Axis-Shield Diagnostics Ltd, на ридере «Anthos».

Для математической обработки результатов исследования использовался пакет компьютерной программы SPSS for Windows (версия 20.0). Все количественные данные имели распределение отличное от нормального и представлены в виде медианы (Me) и квартилей

(Q₁-Q₃). Сравнение количественных переменных в группах проводилось с использованием непараметрических тестов (критерий Манна-Уитни, критерий Вилкоксона). Для сравнения качественных данных использовался критерий Хи – квадрат Пирсона [12]. Статистически значимыми считали значения при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Выявлено (табл. 3), что исходно, т. е. на 1-е сутки начала терапии варфарином у пациентов 1-й группы (тромбоз глубоких вен) содержание комплекса «тромбин–антитромбин» было статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем у пациентов 2-й группы (фибрилляция предсердий). Значения уровня тромбина и гомоцистеина у них также были выше, чем у пациентов 2-й группы, но эти различия были статистически незначимы ($p > 0,05$). В конце 6-месячного применения варфарина в 1-й группе (тромбоз глубоких вен) уровень тромбина и гомоцистеина не менялся (соответственно снижение уровня тромбина с 6,3 до 5,1 нг/мл и уровня гомоцистеина с 12,2 до 11,3 мкмоль/л было статистически незначимо),

Таблица 3

УРОВНИ ТРОМБИНА, КОМПЛЕКСА ТРОМБИН-АНТИТРОМБИН И ГОМОЦИСТЕИНА ИСХОДНО И ЧЕРЕЗ 6 МЕСЯЦЕВ ПРИЕМА ВАРФАРИНА У ПАЦИЕНТОВ 1-Й (ТРОМБОЗ ГЛУБОКИХ ВЕН) И 2-Й (ФИБРИЛЛЯЦИЯ ПРЕДСЕРДИЙ) ГРУПП

Показатели	1-я группа	2-я группа	p**
Тромбин, нг/мл			
1-е сутки	6,3 (5,1; 7,1)	5,5 (4,1; 7,3)	> 0,05
6-й месяц	5,1 (3,2; 6,8)	3,4 (2,2; 4,9)	< 0,05
p*	> 0,05	< 0,05	
Тромбин-антитромбин, нг/мл			
1-е сутки	9,4 (2,4; 15,2)	3,81(2,5; 14;1)	< 0,05
6-й месяц	17,2 (1,1; 18,8)	3,62(1,3; 14,4)	< 0,05
p*	< 0,05	> 0,05	
Гомоцистеин, мкмоль/л			
1-е сутки	12,2 (8,4; 14,7)	11,1 (7,0; 14,0)	> 0,05
6-й месяц	11,3 (8,0; 13,5)	11,7 (8,6; 14,7)	> 0,05
p*	> 0,05	> 0,05	

Примечания: p* – уровень значимости различий показателей в группе в обе точки исследования; p** – уровень значимости различий показателей между группами.

а уровень комплекса «тромбин-антитромбин» существенно и статистически значимо возрастал (с 9,4 до 17,2 нг/мл, $p > 0,05$). Во 2-й группе (фибрилляция предсердий) статистически значимо снижался уровень тромбина (с 5,5 до 3,4 нг/мл), в то время как снижение уровня комплекса «тромбин-антитромбин» (с 3,81 до 3,61) и рост уровня гомоцистеина (с 11,1 до 11,7 мкмоль/л) было статистически незначимо ($p > 0,05$).

Таким образом, результаты нашего исследования показали эффективность терапии варфарином как антагониста витамина К, что проявилось в уменьшении гиперкоагуляции у пациентов 2-й группы, т. е. с фибрилляцией предсердий, судя по снижению у них уровня тромбина. Это согласуется с данными литературы, полученными при использовании варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий [3]. У пациентов 1-й группы (тромбоз глубоких вен) варфарин не дал такого эффекта, хотя в литературе отмечена эффективность варфарина у пациентов с таким диагнозом [5].

Нами впервые установлено, что содержание комплекса тромбин-антитромбин под влиянием варфарина у пациентов 2-й группы (фибрилляция предсердий) не меняется. Это указывает на то, что способность варфарина уменьшать

гиперкоагуляционный потенциал не отразилась на данном показателе. Следовательно, применение варфарина можно продолжить у пациентов этой категории и после 6 месяцев.

У пациентов 1-й группы (тромбоз глубоких вен), имеющих исходно высокое содержание комплекса «тромбин-антитромбин», под влиянием варфарина содержание этого комплекса не уменьшается, а возрастает. Подобное явление отмечено и в литературе при проведении тромболитической терапии у пациентов с острым инфарктом миокарда [13]. Известно, что у пациентов с исходной гипергомоцистеинемией также повышено содержание комплекса «тромбин-антитромбин» [6, 13]. По нашему мнению, неспособность варфарина снижать содержание комплекса «тромбин-антитромбин» у пациентов с тромбозом глубоких вен обусловлена исходно высоким уровнем этого комплекса и наличием гипергомоцистеинемии. В целом это говорит о недостаточно длительной терапии варфарином у пациентов с тромбозом глубоких вен и подчеркивает целесообразность продления варфаринотерапии.

Нами установлено, что на фоне терапии варфарином в обеих группах сохраняется гипергомоцистеинемия. Подобная закономерность

отмечена другими авторами, в т. ч. на фоне терапии АВК у пациентов с тромбозом глубоких вен [5] и с фибрилляцией предсердий [11]. Неспособность варфарина снижать уровень гомоцистеина мы объясняем особенностями диеты, которая применялась пациентами обеих групп. Как известно [2], для поддержания эффективности терапии АВК необходимо ограничение в питании продуктами, содержащими витамин К, т. е. зелеными овощами и другими продуктами растительного происхождения. Но именно эти продукты, согласно данным литературы [5, 6], богаты фолиевой кислотой и витаминами группы В. Вместе с тем именно дефицит фолиевой кислоты и витаминов группы В является одной из причин гипергомоцистеинемии [5, 6]. Таким образом,

для снижения уровня гомоцистеина при терапии варфарином пациентам необходимо дополнительно вводить витамины группы В и фолиевую кислоту.

Выводы:

1. У пациентов с фибрилляцией предсердий 6-месячная терапия варфарином уменьшает уровень тромбина, не влияя на уровень комплекса «тромбин–антитромбин» и на уровень гомоцистеина.

2. У пациентов с тромбозом глубоких вен 6-месячная терапия варфарином не изменяет уровень тромбина и гомоцистеина и повышает уровень комплекса «тромбин–антитромбин», т. е. она менее эффективна, чем у пациентов с фибрилляцией предсердий.

Список литературы

1. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М., 2001. 285 с.
2. Бокарёв И.Н., Козлова Т.В. Принципы рациональной терапии оральными антикоагулянтами // Тромбоз, гемостаз и реология. 2000. № 4(4). С. 16–21.
3. Кропачева Е.С. Длительная терапия непрямими антикоагулянтами у больных мерцательной аритмией без поражения клапанов сердца // Кардиология. 2004. № 6. С. 24–30.
4. Вавилова Т.В. Гемостазиология в клинической практике: пособ. для врачей. СПб., 2005. 92 с.
5. Чарная М.А., Морозов Ю.А. Тромбозы в клинической практике. М., 2009. 224 с.
6. Одинак М.М., Янишевский С.Н., Вознюк И.А. Уровень гомоцистеина плазмы, риск цереброваскулярных заболеваний и витамины группы В // Медлайн-Экспресс. 2008. № 1. С. 20–23.
7. Рогозина А.С., Воробьёва Н.А. Первый опыт работы антикоагулянтной клиники г. Архангельска // Экология человека. 2012. № 12. С. 59–64.
8. Hirsh J. Guidelines for Antithrombotic Therapy. London, 2005. P. 122.
9. Hirsh J. Guidelines for Prevention of Venous Thromboembolism in Major Orthopedic Surgery // Summary of the American College of Chest Physicians. London, 2005. P. 3.
10. Granger C.B., Becker R., Tracy R.P. et al. Thrombin Generation, Inhibition and Clinical Outcomes in Patients with Acute Myocardial Infarction Treated with Thrombolytic Therapy and Heparin: Results from the GUSTO-I Trial. GUSTO-I Hemostasis Substudy Group. Global Utilization of Streptokinase and TPA for Occluded Coronary Arteries // J. Am. Coll. Cardiol. 1998. № 31 (3). P. 497–505.
11. Gorin L., Fauchier L., Nonin E., et al. Antithrombotic Treatment and the Risk of Death and Stroke in Patients with Atrial Fibrillation and a CHADS2 Score=1 // Thromb. Haemost. 2010. Vol. 103 (4). P. 833–840.
12. Гржибовский А.М. Выбор статистического критерия для проверки гипотез // Экология человека. 2008. № 11. С. 48–55.
13. Scharfstein J.S., Abendschein D.R., Eisenberg P.R. et al. Usefulness of Fibrinogenolytic and Procoagulant Markers During Thrombolytic Therapy in Predicting Clinical Outcomes in Acute Myocardial Infarction // Am. J. Cardiol. 1996. № 78 (5). С. 503–510.

References

1. Barkagan Z.S., Mamot A.P. *Diagnostika i kontroliruemaya terapiya narusheniy gemostaza* [Diagnosis and Controlled Therapy of Bleeding Disorders]. Moscow, 2001, 285 p.
2. Bokarev I.N., Kozlova T.V. Printsipy ratsional'noy terapii oral'nymi antikoagulyantami [Principles of Rational Therapy with Oral Anticoagulants]. *Tromboz, gemostaz i reologiya*, 2000, no. 4 (4), pp. 16–21.
3. Kropacheva E.S. *Dlitel'naya terapiya nepryamymi antikoagulyantami u bol'nykh mertsatel'noy aritmiey bez porazheniya klapanov serdtsa* [Long-Term Therapy with Anticoagulants in Patients with Nonvalvular Atrial Fibrillation (Prospective Follow-Up)]. *Kardiologiya*, 2004, no. 6, pp. 24–30.
4. Vavilova T.V. *Gemostaziologiya v klinicheskoy praktike* [The Study of Hemostasis in Clinical Practice]. St. Petersburg, 2005. 92 p.
5. Charnaya M.A., Morozov Yu.A. *Trombozy v klinicheskoy praktike* [Thrombosis in Clinical Practice]. Moscow, 2009. 224 p.
6. Odinak M.M., Yanishevskiy S.N., Voznyuk I.A. Uroven' gomotsisteina plazmy, risk tserebrovaskulyarnykh zabolevaniy i vitaminy gruppy B [Plasma Homocysteine Levels, Risk of Cerebrovascular Disease, and B Vitamins]. *Medlayn-Ekspress*, 2008, no. 1, pp. 20–23.
7. Rogozina A.S., Vorob'eva N.A. Pervyy opyt raboty antikoagulyantnoy kliniki g. Arkhangel'ska [First Experience of Anticoagulation Clinic in Arkhangelsk]. *Ekologiya cheloveka*, 2012, no. 12, pp. 59–64.
8. Hirsh J. *Guidelines for Antithrombotic Therapy*. London, 2005, p. 122.
9. Hirsh J. Guidelines for Prevention of Venous Thromboembolism in Major Orthopedic Surgery. *Summary of the American College of Chest Physicians*. London, 2005, p. 3.
10. Granger C.B., Becker R., Tracy R.P., et al. Thrombin Generation, Inhibition and Clinical Outcomes in Patients with Acute Myocardial Infarction Treated with Thrombolytic Therapy and Heparin: Results from the GUSTO-I Trial. GUSTO-I Hemostasis Substudy Group. Global Utilization of Streptokinase and TPA for Occluded Coronary Arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998, no. 31 (3), pp. 497–505.
11. Gorin L., Fauchier L., Nonin E., et al. Antithrombotic Treatment and the Risk of Death and Stroke in Patients with Atrial Fibrillation and a CHADS2 Score=1. *Thromb. Haemost.*, 2010, vol. 103 (4), pp. 833–840.
12. Grzhibovskiy A.M. Vybor statisticheskogo kriteriya dlya proverki gipotez [Choosing Statistical Criterion to Test Hypothesis]. *Ekologiya cheloveka*, 2008, no. 11, pp. 48–55.
13. Scharfstein J.S., Abendschein D.R., Eisenberg P.R., et al. Usefulness of Fibrinolytic and Procoagulant Markers During Thrombolytic Therapy in Predicting Clinical Outcomes in Acute Myocardial Infarction. *Am. J. Cardiol.*, 1996, no. 78 (5), pp. 503–510.

Rogozina Aleksandra Sergeevna

Postgraduate Student, Northern State Medical University (Arkhangelsk, Russia)

Vorobyeva Nadezhda Aleksandrovna

Northern State Medical University; Northern Branch of the Hematology Research Centre,
Russian Academy of Medical Sciences (Arkhangelsk, Russia)

THE EFFECT OF VITAMIN K ANTAGONISTS ON THROMBINEMIA AND HOMOCYSTEINE LEVELS

Vitamin K antagonists are used to prevent and treat thrombosis, including that in patients with artificial heart valves, atrial fibrillation and thrombosis of various localization. This paper aimed to determine the levels of thrombin–antithrombin, thrombin, and homocysteine in patients with atrial fibrillation and deep vein thrombosis, taking vitamin K antagonists.

The study included 46 patients, both men and women, aged 54 years (from 21 to 76 years). The first group of patients had deep vein thrombosis (n=37), the second – atrial fibrillation (n=9). We evaluated the content of thrombin–antithrombin, thrombin, and homocysteine in the blood serum originally

(on the first day) and on the 6th month of warfarin therapy. The initial values had no statistically significant differences between the groups, with the exception of thrombin–antithrombin levels, which were higher in patients with deep vein thrombosis ($p < 0.05$) than those in patients with atrial fibrillation. After a six month's warfarin therapy, patients with atrial fibrillation showed a decrease in thrombin level ($p < 0.05$), while the level of thrombin–antithrombin stayed unchanged ($p > 0.05$). In patients with deep vein thrombosis, the level of thrombin remained the same ($p > 0.05$) while the level of thrombin-antithrombin was statistically significantly higher ($p > 0.05$). All patients showed high homocysteine levels, which can be explained by their diet excluding green plants and vegetables, i.e. deficient in folic acid and B vitamins.

Keywords: *thrombin, thrombin–antithrombin, homocysteine, warfarin, thrombosis, atrial fibrillation.*

Контактная информация:

Рогозина Александра Сергеевна
адрес: 163000, Архангельск, ул. Суворова, д. 1;
e-mail: sasha_erdogan@hotmail.com;

Воробьева Надежда Александровна
адрес: 163045, Архангельск, ул. Суворова, д. 1;
e-mail: nadejdav0@gmail.com

Рецензент – *Циркин В.И.*, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета.