На правах рукописи

Корсакова Наталья Евгеньевна

ОСОБЕННОСТИ ПРОТРОМБОТИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ PH-НЕГАТИВНЫХ МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

14.01.21 - гематология и переливание крови

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Санкт-Петербург - 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России)

Научные руководители:

Бессмельцев Станислав Семёнович, заслуженный деятель науки РФ, доктор медицинских наук, профессор

Головина Ольга Георгиевна, кандидат биологических наук

Официальные оппоненты:

Зубаровская Людмила Степановна – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отдела детской онкологии, гематологии и трансплантологии Научно-исследовательского института детской онкологии, гематологии и трансплантологии имени Р.М. Горбачёвой Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ройтман Евгений Витальевич – доктор биологических наук, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии ПФ Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования "Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «_____» _____ 2022 года в _____ часов
на заседании диссертационного совета Д 208.074.01 при ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» по адресу:
191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, д.16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (www.bloodscience.ru)

Автореферат разослан «____»_____ 2022 года

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук Глазанова Татьяна Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Тромботические осложнения занимают важное место в современной медицине, что обусловлено их высокой встречаемостью в популяции, а также существенной долей в структуре смертности населения. Тромбозы – одно из наиболее частых осложнений Ph-негативных миелопролиферативных новообразований (МПН) и ведущая причина смерти пациентов с этими заболеваниями, занимающая, по данным литературы, 35–70% в структуре смертности больных, что делает тромбозы наиболее важным фактором риска, влияющим на выживаемость [Barbui T., 2013]. МПН представляют собой группу заболеваний клональной природы, для которых характерна аномальная пролиферация миелоидного ростка кроветворения и соединительнотканных структур костного мозга. Классические формы Ph-негативных МПН (Ph(-)МПН) включают истинную полицитемию (ИП), эссенциальную тромбоцитемию (ЭТ) и первичный миелофиброз (ПМФ) [Гусева С.А., Бессмельцев С.С., 2009; Абдулкадыров К.М., 2016; Меликян А.Л., 2017]. По данным ряда авторов, частота возникновения тромбоэмболических осложнений при ИП составляет 3,8 на 100 пациентов в год, при ЭТ – 2–4 на 100 пациентов в год, при ПМФ – 2,23 на 100 пациентов в год, что существенно превышает частоту встречаемости тромбоэмболических событий в общей популяции [Marchioli R., 2005; Harrison C.N., 2005; Naess I.A., 2007; Barbui T., 2010; Griesshammer M., 2019]. Повышенная склонность к развитию тромботических осложнений вносит существенный вклад в ухудшение качества и сокращение продолжительности жизни больных.

В основе предполагаемого патогенетического механизма развития тромбозов при ИП и ЭТ лежит повышение как количества циркулирующих клеток крови (тромбоцитов, эритроцитов и лейкоцитов), происходящих от клональных гемопоэтических клеток-предшественников, приводящее к повышению вязкости крови, так и степени их активации с экспрессией протромботических факторов: продукции прокоагулянтов и протеолитических ферментов, секрецией провоспалительных цитокинов и экспрессией молекул клеточной адгезии. Повышенная вязкость крови и протеазы активированных лейкоцитов могут вызывать активацию и повреждение сосудистого эндотелия, что приводит к активации коагуляции. При ПМФ выявляются сходные изменения активационного статуса тромбоцитов, лейкоцитов, эндотелия и системы гемостаза [Barbui T., 2013].

Несмотря на многочисленные свидетельства активации свертывания крови при Ph-негативных МПН, коагуляционные тесты, применяемые для обследования пациентов в клинической практике, не всегда отражают имеющиеся изменения. В то же время вопрос диагностики протромботических состояний больных Ph(-)МПН весьма актуален для профилактики и своевременного предупреждения тромботических осложнений, что требует комплексной оценки для выявления показателей, отражающих протромботическую направленность изменений в системе гемостаза у пациентов с Ph-негативными МПН.

Степень разработанности темы

Активация коагуляции у пациентов с Ph-негативными МПН в основном продемонстрирована при помощи различных исследовательских методик, которые не могут быть применимы в клинической практике для персонализированной оценки тромботического риска больных [Trappenburg M.C., 2009; Belotti A., 2012; Oyarzún C.P.M., 2016]. Имеющиеся в литературе данные по исследованию показателей системы гемостаза больных Ph(-)МПН весьма противоречивы и часто выявляют разнонаправленные изменения. В качестве плазменных детерминант развития протромботических состояний у пациентов с Ph(-)МПН авторы отмечают снижение чувствительности к активированному протеину С и тромбомодулину, а также снижение активности естественных антикоагулянтов, однако по присутствию указанных особенностей у пациентов различных нозологий, а также влиянию на них факторов риска развития тромбозов при Ph(-)МПН, а именно, тромботического анамнеза и мутации JAK2 V617F, между различными работами обнаруживаются противоречия [Amitrano L., 2003; Marchetti M., 2008; Arellano-Rodrigo E., 2009; Duchemin J., 2010; Tripodi A., 2013]. Сходным образом, не всегда однозначны имеющиеся литературные данные по выявлению эндотелиальной дисфункции у больных Ph(-)МПН [Falanga A., 2000; Neunteufl T., 2001; Jensen

M.K., 2002; Robertson B., 2007; Alvarez-Larra´n A., 2008; Arellano-Rodrigo E., 2009; Lessiani G., 2009; Cella G., 2010; Belotti A., 2012; Vrtovec M., 2017; Piccin A., 2017; Yildiz A., 2018]. Кроме того, в исследованиях весьма скудно освещён вопрос влияния терапии, получаемой пациентами, на показатели гемостаза при данных заболеваниях.

Цель исследования

Установить особенности, характеризующие протромботическую направленность системы гемостаза, и предложить новый подход к оценке нарушений гемостатического баланса у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.

Задачи исследования

1. Оценить параметры, характеризующие состояние плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.
2. Изучить особенности состояния тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.
3. Определить степень выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.
4. Разработать подходы к оценке протромботической направленности изменений в системе гемостаза при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях.

Научная новизна

Впервые для оценки степени нарушения гемостатического баланса предложен расчётный показатель – индекс коагуляции, определяемый по параметрам теста генерации тромбина.

Показано, что для больных Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями характерно увеличение активности антитромбина относительно значений здоровых лиц.

Впервые у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями выявлена взаимосвязь мутации JAK2 V617F с активностью естественных антикоагулянтов, проявляющаяся снижением активности антитромбина у JAK2 V617F-позитивных больных относительно значений носителей аллеля дикого типа.

У пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями впервые установлена обратная корреляционная связь уровней фактора Виллебранда и растворимого тромбомодулина с активностью протеина С и чувствительностью к тромбомодулину, что указывает на прямую вовлеченность эндотелиальной дисфункции в развитие протромботического состояния.

Впервые показано, что терапия пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями циторедуктивными и таргетными препаратами способствует усугублению прокоагулянтных изменений плазменного звена гемостаза и эндотелиальной дисфункции.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В исследовании проведена комплексная оценка системы гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями и выявлены особенности, характеризующие протромботическую направленность изменений плазменного и тромбоцитарного звеньев гемостаза, а также выраженность дисфункции эндотелия.

Установлено, что наличие мутации JAK2 V617F у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями сопровождается уменьшением активности антитромбина относительно носителей аллеля дикого типа. Повышение аллельной нагрузки данной мутации коррелирует с падением активности и уровня естественных антикоагулянтов системы протеина С.

Предложен показатель индекса коагуляции, позволяющий осуществить персонализированный подход к выявлению нарушений гемостатического баланса у больных Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.

Методология и методы исследования

Научная методология была основана на системном подходе к оценке системы гемостаза. В работе использованы клинические, биохимические, коагулологические, иммуноферментные, инструментальные, молекулярно-генетические и статистические методы исследования. Набор использованных методов исследования соответствует современному методологическому

уровню обследования пациентов с Ph-негативными МПН. Применённые методы статистической обработки данных отвечают поставленной цели и задачам исследования.

Положения, выносимые на защиту

1. Протромботическая направленность изменений плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями зависит от нарушения гемостатического баланса, обусловленного главным образом несостоятельностью антикоагулянтной системы протеина С.
2. Высокая функциональная активность тромбоцитов у пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и истинной полицитемией, не получающих лечения, проявляется in vitro ростом параметров агрегации под действием коллагена и ристоцетина. О повышении агрегационной активности тромбоцитов у больных первичным миелофиброзом, не получающих лечения, свидетельствует лишь тенденция к увеличению параметров агрегации под действием ристоцетина.
3. Для пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями характерна эндотелиальная дисфункция, обусловленная нарушением гемостатической и/или вазомоторной функций эндотелия.
4. Наличие мутации JAK2V617F у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями ассоциируется с уменьшением активности антитромбина относительно значений носителей аллеля дикого типа. Аллельная нагрузка данной мутации связана обратной корреляционной связью с активностью протеина С и уровнем свободного протеина S.
5. Эндотелиальная дисфункция, сопровождающаяся прокоагулянтными изменениями плазменного звена гемостаза и увеличением функциональной активности тромбоцитов, определяет протромботическую направленность системы гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность и обоснованность полученных результатов научной работы обусловлена детальным теоретическим анализом проблемы, необходимым объёмом проведённых исследований, характеризующих систему гемостаза, и адекватным статистическим анализом данных.

По теме диссертации опубликовано 32 печатных работы, в том числе 5 статей в рецензируемых журналах, из них 2 - в журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ для опубликования научных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата и доктора биологических наук по специальности 14.01.21 - гематология и переливание крови.

Материалы диссертации представлены на Всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2019, 2022), Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы клинической гематологии» (Санкт-Петербург, 2019), ISTH Virtual Congress (2020,2021), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы трансфузиологии, онкогематологии и клеточной терапии» (Киров, 2021), II-й Научно-практической конференции молодых ученых «Актуальные проблемы гематологии и трансфузиологии» (Санкт-Петербург, 2021), 23rd European Hematology Association Congress (Stockholm, 2018), 64th Meeting of Scientific and Standartization Committee (SSC) of the ISTH (Dublin, 2018), Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis совместно с 9-ой Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, 2018), XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (Melbourne, 2019), 10 Юбилейной всероссийской конференции по клинической гемостазиологии и гемореологии «Российский форум по тромбозу и гемостазу» (2020), Российском Форуме по Тромбозу и Гемостазу (Москва, 2022).

Личный вклад автора

Автором выполнялись: формирование выборки, сбор анамнестических данных обследуемых лиц, проведение коагулологических исследований, в том числе определение показателей плазменного звена гемостаза и уровня растворимых маркеров эндотелиальной

дисфункции, а также неинвазивной оценки функции эндотелия у больных Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями, анализ источников литературы, сбор и последующий статистический анализ данных, интерпретация полученных результатов. Материалы, представленные в диссертации, получены, обобщены, статистически обработаны и проанализированы автором лично.

Структура и объём работы

Диссертационная работа представлена на 153 страницах печатного текста и состоит из следующих разделов: введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3-х глав с изложением собственных результатов исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, который включает 217 источников (13 отечественных и 204 зарубежных). Работа содержит 5 рисунков и 56 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование включало 124 пациента с Ph-негативными МПН (ЭТ, ИП и ПМФ), которые наблюдались и получали лечение в ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России в 2017-2020 гг. В соответствии с критериями классификации ВОЗ 2016 г. [Arber D.A., 2016] диагноз ЭТ имели 36 обследованных, ИП – 47 и ПМФ - 41 больной. Возраст пациентов колебался от 21 до 86 лет, медиана составила 55 лет. Из обследованных больных тромботические осложнения в анамнезе имел 31 человек (25,0%), в том числе 12 (33,3%) пациентов с ЭТ, 14 (29,8%) пациентов с ИП и 5 (12,2%) - с ПМФ. Мутация JAK2 V617F была обнаружена у 92 (74,2%) пациентов с Ph(-)МПН, в том числе у 25 (69,4%) больных ЭТ, 43 (91,5%) пациентов с ИП и 24 (58,5%) больных ПМФ. На момент включения в исследование 49 больных Ph(-)МПН получали только антиагрегантную терапию, 39 человек находились на циторедуктивной терапии (в том числе 29 пациентов в сочетании с антиагрегантной терапией), 14 человек получали таргетную терапию ингибитором янус-киназ руксолитинибом (в том числе 6 пациентов в сочетании с циторедуктивной терапией и 5 больных в сочетании с антиагрегантной терапией). Антиагрегантная терапия включала аспирин- и/или клопидогрел-содержащие препараты, а также тиклопидин. Циторедуктивная терапия была представлена гидроксикарбамидом, препаратами интерферона-альфа и анагрелидом. 22 пациента не получали специфического лечения как минимум в течение 10 дней до включения в исследование. Группа контроля включала 68 практически здоровых добровольцев (возраст 30-73, медиана – 46 лет).

Материалом исследования служили образцы периферической крови, полученные путём пункции локтевой вены иглой диаметром 0,9 мм с широким просветом, самотёком.

Определение параметров скрининговой коагулограммы, таких как индекс активированного парциального тромбопластинового времени (АПТВ), протромбиновый тест по Квику (ПТ) и концентрация фибриногена, а также активности фактора VIII (фVIII), антитромбина (АТ), протеина С (РС), уровня свободного протеина S (PS) и фактора Виллебранда (фВ) осуществляли на автоматических коагулометрах серии ACL: ACL Top 300 CTS и ACL Elite Pro (Automated Coagulation Laboratory, Instrumentation Laboratory, США) с использованием реактивов HemosIL (Instrumentation Laboratory, США) согласно рекомендациям производителя.

Тест генерации тромбина (ТГТ) выполняли в бедной тромбоцитами плазме (PPP) методом калиброванной автоматизированной тромбинографии по Hemker H.C. et al. [Hemker H.C., 2003, 2006] при помощи планшетного флюориметра (Fluoroskan Ascent, ThermoFisher Scientific, Финляндия). Проводили параллельную постановку ТГТ в присутствии триггерного реагента без тромбомодулина и с добавлением рекомбинантного человеческого тромбомодулина (PPP-Reagent-TM и PPP-Reagent+TM, Thrombinoscope BV, Нидерланды). Для оценки результатов использовали такие параметры, как эндогенный тромбиновый потенциал (ETP, нМ×мин), пиковое количество тромбина (Peak thrombin, нМ) и скорость генерации тромбина (нМ/мин). ETP соответствует площади под кривой генерации тромбина и отражает общее количество образованного фермента. Peak thrombin – максимальное количество тромбина, образующееся в процессе его генерации в образце плазмы. Чувствительность к антикоагулянтному действию тромбомодулина (TM), которая

характеризует эффективность работы системы протеина С, рассчитывали как процент падения показателей ETP (STM_{ETP}) и Peak thrombin ($STM_{Peak\ thrombin}$) после добавления ТМ.

Определение ристоцетин-кофакторной активности фактора Виллебранда проводили в PPP пациентов с помощью анализатора агрегации тромбоцитов AP 2110 (SOLAR, Белоруссия) с использованием ристоцетина (CHRONO-PAR RISTOCETIN, CHRONO-LOG Corporation, США) с концентрацией 50 мг/мл в трис-солевом буфере (Tris 0,01M, NaCl 0,15M, pH 7,4) и реагента «Тромбоциты человека» («Технология-Стандарт», Россия).

Оценку функциональной активности тромбоцитов проводили в богатой тромбоцитами плазме (PRP) пациентов с помощью индуцированной агрегации по методу Борна на 4-канальном анализаторе агрегации тромбоцитов АТ-02 (НПФ «Медицина-Техника», Россия). Для индукции агрегации использовали следующие реагенты: АДФ (CHRONO-PAR ADP) в конечной концентрации 1 и 5 мкМ, коллаген (CHRONO-PAR COLLAGEN) в конечной концентрации 2 мкг/мл и ристоцетин (CHRONO-PAR RISTOCETIN) в конечной концентрации 1,1 мг/мл (CHRONO-LOG Corporation, США для всех индукторов). Для количественной оценки агрегации тромбоцитов определяли значение начальной скорости (V, %/мин.) и максимальной амплитуды (MA, %) кривой агрегации.

Определение концентрации растворимого тромбомодулина (sTM) проводили в PPP пациентов при помощи набора для твёрдофазного фермент-связанного иммуносорбентного анализа по принципу «сэндвич» (Human sThrombomodulin ELISA, Hycult Biotech, Нидерланды).

Неинвазивное исследование эндотелиальной функции осуществляли методом периферической артериальной тонометрии (PAT) с помощью аппарата EndoPAT 2000 (Itamar Medical, Израиль).

Определение наличия и аллельной нагрузки мутации JAK2V617F проводилось в лаборатории молекулярной генетики ФГБУ РосНИИГТ ФМБА России методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с помощью «Набора реагентов для обнаружения мутации JAK2V617F» (Синтол, Россия).

Статистическую обработку данных осуществляли при помощи программ Microsoft Excel 2007 и STATISTICA 6.0. Для представления результатов использовали медиану (Me) и интерквартильный интервал (Q1-Q3). Для сравнения 2-х групп применяли U-тест Манна-Уитни, 3-х и более групп – H-тест Краскела-Уоллиса, различия считали статистически значимыми при $p<0,05$. При выявлении значимости по результатам теста Краскела-Уоллиса для определения различий между конкретными группами проводили попарные апостериорные сравнения групп с помощью теста Манна-Уитни. При этом для устранения проблемы множественных сравнений применяли поправку Бонферрони, скорректированный критический уровень статистической значимости составлял $p'=1–0,95^{1/n}$, где n – количество производимых попарных сравнений. Для выявления взаимосвязей между исследуемыми параметрами использовали ранговый коэффициент корреляции Спирмена, корреляционную связь считали статистически значимой при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными МПН

Для оценки состояния плазменного звена гемостаза проводили определение параметров скрининговой коагулограммы, активности коагуляционных факторов и естественных антикоагулянтов, а также выполняли интегральный тест генерации тромбина. Результаты параметров скрининговой коагулограммы и активности ряда коагуляционных факторов у обследованных пациентов представлены в таблице 1. В общей группе больных Ph(-)МПН индекс АПТВ и ПТ были сдвинуты в сторону гипокоагуляционных значений. В то же время концентрация фибриногена и активность фактора VIII, наоборот, свидетельствовали о развитии гиперкоагуляции. Отмечена прямая корреляция показателей активности фVIII и концентрации фибриногена ($R=0,37$ $p=0,00002$). Известно, что увеличение данных показателей отражает степень выраженности воспалительного процесса и является независимым фактором риска развития тромботических осложнений.

Таблица 1 - Показатели скрининговой коагулограммы и активность коагуляционных факторов у пациентов с Ph-негативными МПН и в контрольной группе (Медиана, Q1-Q3)

Показатели	Контрольная группа	Ph(-)МПН (n=124)	p
Индекс АПТВ	1,02 (0,98-1,07) (n=29)	1,09 (0,99-1,15)	0,011
ПТ, %	93,4 (91,2-105,4) (n=30)	86,3 (76,8-94,9)	0,00005
Концентрация фибриногена, г/л	2,7 (2,5-2,9) (n=33)	3,34 (2,81-4,13)	0,00001
Активность фVIII, %	104,0 (85,0-130,0) (n=37)	130,5 (102,8-159,0)	0,0002
Активность фВ, %	97,0 (84,8-110,0) (n=68)	99,0 (75,0-130,0)	0,708

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

При анализе показателей скрининговой коагулограммы и активности коагуляционных факторов в отдельных нозологических группах пациентов с Ph(-)МПН наблюдались сходные с общей группой особенности, имевшие различную степень выраженности (таблица 2).

Таблица 2 - Показатели скрининговой коагулограммы и активность коагуляционных факторов в нозологических группах пациентов с Ph-негативными МПН и контрольной группе (Медиана, Q1—Q3)

Показатели	Контрольная группа	ЭТ (n=36)	ИП (n=47)	ПМФ (n=41)	Сравнение групп пациентов
Индекс АПТВ	1,02 (0,98-1,07) (n=29)	1,10 * (1,01-1,14)	1,05 (1,00-1,10)	1,10 * (0,97-1,25)	H=3,195 p=0,203
ПТ, %	93,4 (91,2-105,4) (n=30)	90,5 (83,8-102,0)	86,3 * (75,4-92,7)	84,0 * (73,1-91,7)	H=8,882 p=0,012
Концентрация фибриногена, г/л	2,7 (2,5-2,9) (n=33)	3,2 * (2,8-3,8)	3,3 * (2,9-3,9)	3,8 * (2,8-4,5)	H=2,590 p=0,274
Активность фVIII, %	104,0 (85,0-130,0) (n=37)	116,0 (100,3-138,8)	132,0 * (102,5-157,5)	141,0 * (115,0-161,0)	H=3,981 p=0,137
Активность фВ, %	97,0 (84,8-110,0) (n=68)	97,0 (74,0-130,0)	105,0 (75,5-127,5)	98,0 (75,0-135,0)	H=0,248 p=0,883

Примечание: ***** - p<0,017 при сравнении с контрольной группой

У больных ЭТ по сравнению с контрольными значениями обнаружено наименьшее количество патологических показателей (индекс АПТВ и концентрация фибриногена). У пациентов с ИП изменения затрагивали большее число показателей: от контрольных параметров значимо отличались ПТ, концентрация фибриногена и активность фVIII. Ещё большие расхождения между нормальными значениями и направленностью выявленных изменений были обнаружены у больных ПМФ. Резкое снижение показателя ПТ и повышение индекса АПТВ сопровождалось как увеличением концентрации фибриногена, так и ростом активности фVIII. Сравнение нозологических групп больных Ph(-)МПН между собой позволило выявить значимые различия лишь по показателям ПТ. Значения ПТ у пациентов с ЭТ были близки к показателям контрольной группы и значимо превышали параметры больных ИП и ПМФ (p=0,013 и p=0,007 соответственно, скорректированный критический уровень статистической значимости при проведении 3-х попарных сравнений p´=0,017).

Наличие тромбозов в анамнезе является одним из факторов риска развития тромботических осложнений у пациентов с Ph-негативными МПН [Marchioli R., 2005; Barbui T., 2012]. В исследовании была проведена оценка влияния тромботического анамнеза на показатели плазменного звена гемостаза среди обследованных больных Ph(-)МПН (рисунок 1). Наличие тромботического анамнеза приводило к ещё большему увеличению концентрации фибриногена у пациентов с ЭТ и активности фVIII у пациентов с ИП, значимо превышавших соответствующие показатели больных без тромбозов в анамнезе, а также тенденции к росту концентрации фибриногена при ИП и активности фВ при ПМФ.

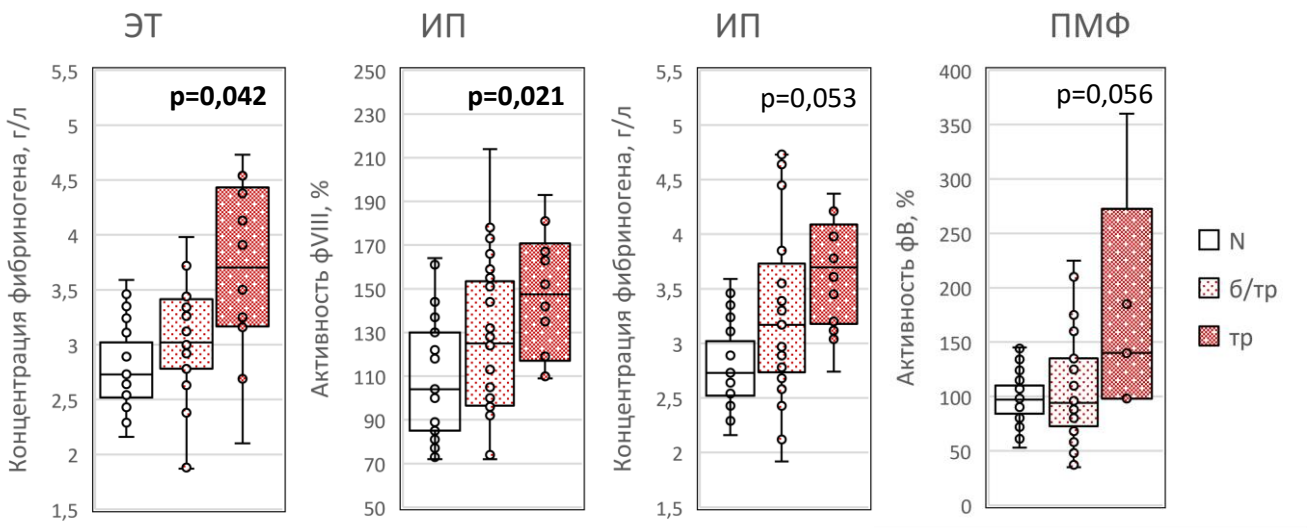

Рисунок 1 – Отдельные показатели плазменного гемостаза у пациентов различных нозологических групп Ph-негативных МПН в зависимости от тромботического анамнеза
Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении 2-х групп пациентов;
N – контрольная группа, б/тр – без тромбозов, тр – тромбозы в анамнезе.

У обследованных больных Ph-негативными МПН проводили определение активности АТ, РС и уровня свободного PS, результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Активность/уровень естественных антикоагулянтов у пациентов с Ph-негативными МПН и в контрольной группе (Медиана, Q1—Q3)

Показатели	Контрольная группа	Ph(-)МПН (n=124)	p
Активность АТ, %	91,0 (85,0-99,0) (n=43)	102,0 (94,4-114,0)	0,00002
Активность РС, %	102,0 (89,5-114,3) (n=32)	92,5 (77,3-106,8)	0,007
Уровень свободного PS, %	123,6 (117,0-130,7) (n=14)	80,0 (69,3-92,0)	<0,000001

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

На фоне увеличения активности АТ у больных Ph(-)МПН выявлялась низкая активность РС и ещё более существенное падение уровня свободного PS, что может свидетельствовать о сниженной активности антикоагулянтной системы протеина С в целом. Активность РС напрямую коррелировала с уровнем свободного PS (R=0,37 p=0,00002). Сходные особенности активности/уровня естественных антикоагулянтов сохранялись при отдельном анализе нозологических групп пациентов с Ph-негативными МПН (таблица 4).

Таблица 4 - Активность/уровень естественных антикоагулянтов в нозологических группах больных Ph-негативными МПН и контрольной группе (Медиана, Q1—Q3)

Показатели	Контрольная группа	ЭТ (n=36)	ИП (n=47)	ПМФ (n=41)	Сравнение групп пациентов
Активность АТ, %	91,0 (85,0-99,0) (n=43)	102,5 * (98,7-108,5)	97,3 * (92,2-108,5)	108,0 * (97,9-119,0)	H=6,530 p=0,038
Активность РС, %	102,0 (89,5–114,3) (n=32)	97,5 (82,8-108,0)	89,5 * (78,0-106,8)	90,0 * (69,3-105,3)	H=2,302 p=0,316
Уровень свободного PS, %	123,6 (117,0-130,7) (n=14)	80,0 * (75,8-96,3)	85,0 * (70,3-93,5)	72,5 * (59,8-88,5)	H=5,817 p=0,055

Примечание: ***** - p<0,017 при сравнении с контрольной группой

Во всех нозологических группах обследованных пациентов с Ph(-)МПН активность АТ была выше контрольных величин. При этом наиболее высокие значения отмечались у больных ПМФ, однако различия между нозологическими группами не достигали статистической значимости (p=0,023 при сравнении пациентов с ПМФ и ИП, скорректированный критический уровень значимости p′=0,017). Снижение активности РС достигало значимых различий с

контрольными показателями у пациентов с ИП и ПМФ. Уровень свободного PS был существенно снижен относительно контрольных величин во всех обследованных группах. У пациентов с ПМФ отмечались наиболее низкие значения данного параметра, значимо отличавшиеся также от показателей больных ЭТ (p=0,015). По данным литературы существенных отличий активности АТ от нормальных значений у больных Ph(-)МПН ранее не обнаружено [Arellano-Rodrigo E., 2009; Tripodi A., 2013]. Повышение активности данного естественного антикоагулянта у пациентов с Ph-негативными МПН относительно здоровых лиц, по-видимому, имеющее компенсаторное значение, показано впервые в данной работе.

Наличие мутации JAK2V617F является одним из факторов риска развития тромботических осложнений у пациентов с Ph-негативными МПН [Barbui T., 2012; Vannucchi A.M., 2007]. При оценке влияния мутационного статуса JAK2 V617F на показатели плазменного гемостаза пациентов с Ph(-)МПН значимые различия отмечались лишь по активности АТ, значения которой в общей группе обследованных больных при наличии мутации были ниже, чем у носителей аллеля дикого типа (p=0,015, рисунок 2).

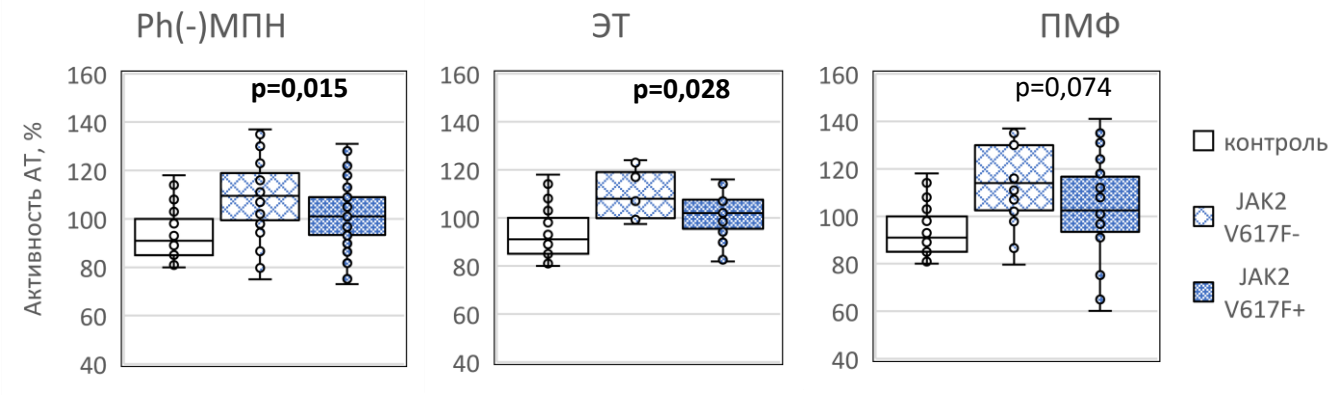

Рисунок 2 – Активность антитромбина в общей группе пациентов с Ph-негативными МПН и отдельных нозологиях в зависимости от мутационного статуса JAK2 V617F

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении 2-х групп пациентов

При отдельном анализе нозологических групп сходные изменения отмечались у пациентов с ЭТ и ПМФ, не достигая статистической значимости у последних (p=0,028 и p=0,074 соответственно). Кроме того, учитывая наличие мутации JAK2V617F у большинства (91,5%) обследованных пациентов с ИП, её влияние может определять наиболее низкие показатели активности АТ в данной группе относительно больных других нозологий. В связи с повышением активности АТ у пациентов с Ph(-)МПН относительно здоровых лиц (таблица 3,4), более низкие её значения при наличии мутации JAK2V617F могут указывать на ограничение компенсаторной роли этого естественного антикоагулянта.

Результаты определения аллельной нагрузки мутации JAK2V617F имелись у 45 пациентов с Ph(-)МПН (Me 12,34%, Q1-Q3 6,64-25,70%). У обследованных больных отмечалась обратная корреляция значений данного параметра с активностью PC и уровнем свободного PS (R=-0,390 p=0,008 и R=-0,400 p=0,006 соответственно). Наиболее тесная взаимосвязь с активностью PC отмечалась среди пациентов с ЭТ (R=-0,786 p=0,021). Связь аллельной нагрузки JAK2 V617F со снижением активности PC, а также влияние данной мутации на уменьшение активности АТ у пациентов с Ph-негативными МПН впервые продемонстрированы в нашем исследовании. Более низкие значения активности АТ, а также снижение активности антикоагулянтной системы PC могут определять повышенный тромботический риск, обусловленный наличием и нагрузкой мутации JAK2 V617F у пациентов с Ph(-)МПН.

Для оценки суммарного действия про- и антикоагулянтных факторов на состояние плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph(-)МПН использовали интегральный тест генерации тромбина, результаты которого представлены в таблице 5. При проведении ТГТ в стандартных условиях у больных Ph(-)МПН отмечалось снижение уровня и замедление процесса генерации тромбина относительно показателей здоровых лиц. Проведение ТГТ с

добавлением ТМ в реакционную смесь позволило выявить у обследованных пациентов выраженное уменьшение чувствительности к ТМ по падению как ETP (STM_{ETP}), так и Peak thrombin ($STM_{Peak\ thrombin}$), что указывает на нарушение работы естественных антикоагулянтов системы протеина С и является общепризнанным фактором риска тромботических осложнений.

Таблица 5 - Показатели теста генерации тромбина у пациентов с Ph-негативными МПН и в контрольной группе (Медиана, Q1—Q3)

Показатели	Контрольная группа	Ph(-)МПН (n=124)	p
Скорость, нМ/мин	95,4 (83,8-113,2) (n=32)	51,8 (36,7-76,9)	<0,000001
ETP, нМ*мин	1642,3 (1489,9-1777,0) (n=34)	1449,9 (1233,6-1712,6)	0,007
Peak thrombin, нМ	285,6 (265,5-311,8) (n=34)	207,5 (166,0-253,7)	<0,000001
STM_{ETP}, %	52,9 (47,8-57,7) (n=34)	31,1 (19,7-46,0)	<0,000001
$STM_{Peak\ thrombin}$, %	42,1 (36,2-47,0) (n=33)	17,2 (7,3-26,5)	<0,000001

Примечание: p – уровень статистической значимости при сравнении с контрольной группой

Отмечалась прямая взаимосвязь чувствительности к ТМ с показателями активности PC (R=0,34 p=0,0002 для STM_{ETP} и R=0,29 p=0,002 для $STM_{Peak\ thrombin}$) и уровня свободного PS (R=0,37 p=0,00005 и R=0,32 p=0,0005 соответственно). Кроме того, наблюдалась прямая зависимость между величиной ETP и уровнем свободного протеина S (R=0,454 p<0,000001).

При оценке влияния аллельной нагрузки мутации JAK2 V617F на показатели ТГТ у обследованных пациентов с Ph-негативными МПН была выявлена её обратная взаимосвязь с ETP (R=-0,504 p=0,0005) и Peak thrombin (R=-0,353 p=0,019).

Отмеченные для пациентов с Ph(-)МПН в целом изменения параметров ТГТ сохранялись для отдельных нозологических групп, отличаясь различной степенью выраженности (таблица 6).

Таблица 6 - Показатели теста генерации тромбина в отдельных нозологических группах Ph-негативных МПН и контрольной группе (Медиана, Q1—Q3)

Показатели	Контрольная группа (n=34)	ЭТ (n=36)	ИП (n=47)	ПМФ (n=41)	Сравнение групп пациентов
Скорость, нМ/мин	95,4 (83,8-113,2)	53,0 * (38,4-67,0)	49,5 * (35,8-66,6)	57,0 * (38,5-87,7)	H=1,937 p=0,380
ETP, нМ*мин	1642,3 (1489,9-1777,0)	1529,6 (1374,6-1738,5)	1407,8 (1268,5-1778,0)	1261,5 * (1154,5-1577,7)	H=8,541 p=0,014
Peak thrombin, нМ	285,6 (265,5-311,8)	206,2 * (177,5-238,9)	211,8 * (167,3-252,5)	207,3 * (157,3-269,2)	H=0,143 p=0,931
STM_{ETP}, %	52,9 (47,8-57,7)	35,9 * (18,4-50,4)	34,5 * (25,4-47,7)	28,6 * (13,4-41,8)	H=4,960 p=0,084
$STM_{Peak\ thrombin}$, %	42,1 (36,2-47,0)	17,9 * (8,0-29,0)	17,8 * (10,9-26,4)	14,5 * (4,3-26,0)	H=2,628 p=0,269

Примечание: ***** p<0,017 при сравнении с контрольной группой

При сравнении с контрольной группой все исследованные показатели, за исключением ETP у пациентов с ЭТ и ИП, претерпевали существенные отклонения, указывая на падение скорости и количества образованного тромбина, а также на снижение чувствительности к ТМ. ETP у пациентов с ПМФ был значимо ниже не только относительно здоровых лиц, но и при сравнении с больными ЭТ (p=0,006), снижение относительно пациентов с ИП не достигало статистической значимости (p=0,031, скорректированный критический уровень p´=0,017).

Таким образом, при оценке отдельных параметров плазменного звена гемостаза у обследованных больных Ph-негативными МПН наблюдались разнонаправленные изменения. Существенный рост уровня фибриногена и активности фVIII, значительное снижение уровня PS и активности PC свидетельствовали о гиперкоагуляционных особенностях, наряду с которыми у больных Ph(-)МПН был отмечен сдвиг базовых коагуляционных параметров в сторону гипокоагуляционных значений. Результаты интегрального ТГТ указывали на снижение как протромботического потенциала, так и эффективности антикоагулянтной системы PC. В отдельных нозологических группах пациентов с Ph(-)МПН отмеченные особенности имели

различную степень выраженности: наиболее существенные отличия от показателей контрольной группы и больных других нозологий, а также наибольшее расхождение между направленностью выявленных изменений были обнаружены у пациентов с ПМФ, наименьшие отклонения от контрольных значений были характерны для группы больных ЭТ.

Оценка влияния терапии на параметры плазменного звена гемостаза

Учитывая, что подавляющее большинство обследованных пациентов с Ph-негативными МПН находились на той или иной терапии, а часть больных не принимали медикаментозных препаратов, в работе был проведён анализ влияния получаемого лечения на показатели плазменного звена гемостаза. Сравнительная оценка параметров отдельных групп пациентов с ЭТ не обнаружила значимых различий в зависимости от наличия и вида терапии. Существенные отклонения от контрольных показателей чаще встречались у больных, лечение которых включало циторедуктивные и/или антиагрегантные препараты, что отмечалось по повышению уровня фибриногена и активности АТ, а также снижению скорости генерации и максимальной концентрации тромбина у таких пациентов. Среди пациентов с ИП влияние терапии на показатели плазменного звена гемостаза выражалось в значимом падении уровня свободного PS у принимавших циторедуктивные препараты как относительно контроля, так и по сравнению с больными, не получавшими медикаментозных средств (p=0,002) (рисунок 3).

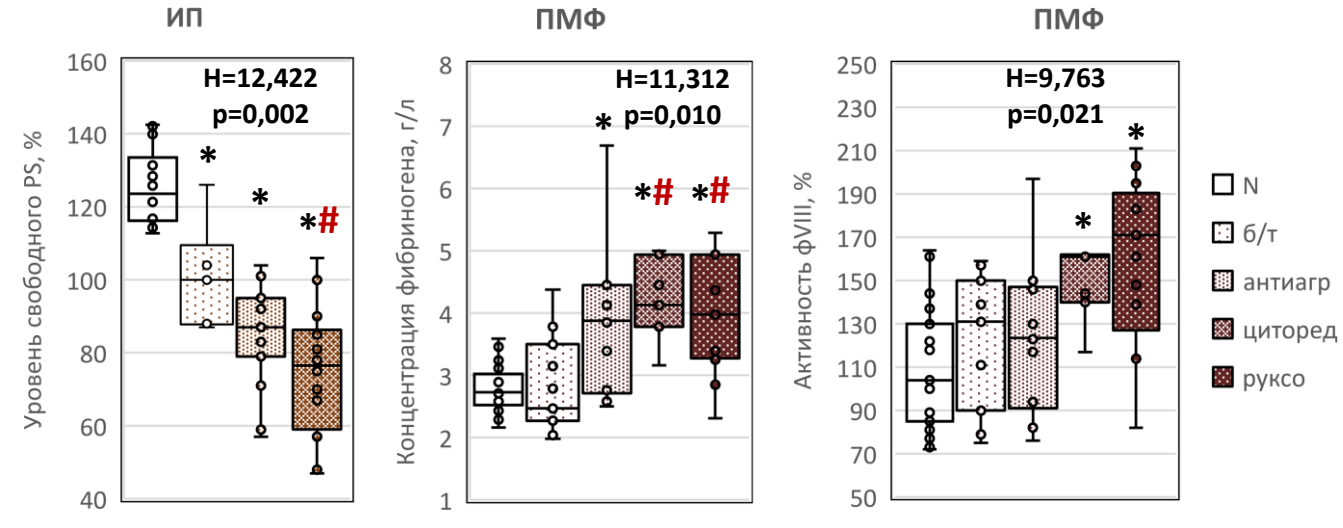

Рисунок 3 – Некоторые показатели плазменного звена гемостаза у пациентов с ИП и ПМФ в зависимости от наличия и вида терапии

Примечание: * - p<0,017 (для ИП)/ p<0,0127 (для ПМФ) при сравнении с контрольной группой;
- p<0,017 (для ИП)/ p<0,0085 (для ПМФ) при сравнении с больными, не получавшими медикаментозной терапии.

N – контрольная группа, б/т – без терапии, антиагр – антиагреганты, циторед – циторедуктивные препараты+/-антиагреганты, руксо – руксолитиниб+/-циторедуктивные препараты+/-антиагреганты

Также у пациентов с ИП, лечение которых включало циторедуктивные препараты, отмечалась тенденция к снижению уровня свободного PS относительно находившихся на антиагрегантной терапии (p=0,025, скорректированный критический уровень значимости при проведении 3-х сравнений p´=0,017). Кроме того, в этой же группе больных наибольшее количество параметров обнаруживали значимые отклонения от значений здоровых лиц, включая снижение показателей ПТ, активности РС, уровня свободного PS и всех параметров ТГТ, а также увеличение концентрации фибриногена и активности фVIII.

Анализ параметров плазменного звена гемостаза у больных ПМФ выявил существенное влияние циторедуктивной и таргетной терапии на показатели уровня фибриногена и активности фVIII (рисунок 3). У пациентов с ПМФ, лечение которых включало циторедуктивные препараты или руксолитиниб, был отмечен значимый рост концентрации фибриногена как относительно контроля, так и по сравнению с больными, не получавшими медикаментозных

средств (p=0,004 и p=0,008, соответственно). Увеличение активности фVIII в тех же группах, значимое относительно контрольных значений, несколько не достигало статистической значимости при сравнении с пациентами, не получавшими терапии (p=0,021 и p=0,0127 соответственно, скорректированный критический уровень значимости при проведении 6 сравнений p´=0,0085).

При анализе влияния терапии во всех подгруппах обследованных пациентов с ЭТ, ИП и ПМФ отмечалось существенное снижение уровня свободного PS и чувствительности к ТМ относительно контрольных величин, свидетельствуя о нарушении работы антикоагулянтной системы РС и, соответственно, склонности к развитию гиперкоагуляции независимо от наличия и вида получаемого лечения, что позволяет считать указанные изменения характерными лабораторными признаками пациентов с Ph-негативными МПН. Ещё более выраженное уменьшение уровня свободного PS, рост концентрации фибриногена и некоторое увеличение активности фVIII у пациентов с Ph(-)МПН, получавших циторедуктивные препараты или руксолитиниб, относительно больных, не принимавших медикаментозных средств, могут указывать на усиление гиперкоагуляционных изменений, сопутствующее данным видам терапии.

Оценка гемостатического баланса у пациентов с Ph-негативными МПН

Представленные выше результаты как отдельных показателей коагулограммы, так и интегрального ТГТ, не дают возможности однозначно оценить состояние плазменного звена гемостаза при обследовании пациентов с Ph-негативными МПН. Параллельное уменьшение про- и антикоагулянтных влияний, наблюдаемое по результатам ТГТ, может быть направлено на сохранение гемостатического баланса у обследованных больных. Для оценки направленности и степени изменения гемостатического баланса у пациентов с Ph(-)МПН нами предложен расчетный показатель индекс коагуляции (coagulation index, CI), вычисляемый по формуле:

$$\mathrm{CI} = \frac{\mathrm{ETP}^{\mathrm{N}}{}_{\mathrm{TM-}}}{\mathrm{STM}_{\mathrm{ETP}}}$$

где $\mathrm{ETP}^{\mathrm{N}}{}_{\mathrm{TM-}}$ – эндогенный тромбиновый потенциал пациента в постановке ТГТ без добавления ТМ, выраженный в процентах относительно нормальных значений (медианы $\mathrm{ETP}_{\mathrm{TM-}}$ группы здоровых доноров), оценивает прокоагулянтный потенциал;

$\mathrm{STM}_{\mathrm{ETP}}$ – чувствительность к ТМ, вычисленная как процент падения ETP пациента после добавления ТМ при постановке ТГТ, оценивает антикоагулянтный потенциал.

Тем самым, индекс коагуляции позволяет определить отношение про- и антикоагулянтов, которое может характеризовать сохранность гемостатического баланса обследуемого. Увеличение индекса коагуляции свидетельствует о сдвиге гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции, снижение - указывает на гипокоагуляционные изменения. Результаты определения индекса коагуляции у пациентов с различными нозологиями Ph-негативных МПН представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Индекс коагуляции у пациентов отдельных нозологий Ph-негативных МПН

Характеристики	Контрольная группа (n=34)	ЭТ (n=27)	ИП (n=36)	ПМФ (n=39)
Me (Q1 - Q3) Min-Max	1,91 (1,57–2,17) 1,31-2,57	2,25 * (1,61–4,76) 1,16-30,71	2,62 ** (1,92–3,94) 0,93-26,33	2,90 *** (1,71-7,28) 1,21-51,39

Примечание: * p=0,017 при сравнении с контрольной группой;
** p=0,00036 при сравнении с контрольной группой;
*** p=0,00042 при сравнении с контрольной группой.

Параметры CI обследованных пациентов с ЭТ, ИП и ПМФ значимо превышали показатели здоровых лиц, свидетельствуя о сдвиге гемостатического баланса в сторону гиперкоагуляции, характерной для каждой группы в целом. Вместе с тем для всех нозологических групп был характерен широкий размах полученных значений. Среди пациентов

каждой нозологии встречались как очень низкие показатели, указывающие на риск кровоточивости, так и высокие, соответствующие развитию выраженной в разной степени гиперкоагуляции.

Корреляция значений индекса коагуляции с такими протромботическими изменениями, как повышение активности и уровня фВ у больных ПМФ, не получавших лечение (R=0,866 p=0,0006 и R=0,821 p=0,023 соответственно) и у пациентов с ЭТ, получавших антиагрегантную терапию (R=0,471 p=0,036 и R=0,63 p=0,0029), а также увеличение активности фVIII и снижение активности/уровня протеинов С и S у последних (R=0,592 p=0,005, R=-0,609 p=0,034 и R=-0,481 p=0,027 соответственно) указывает на то, что предложенный показатель отражает гиперкоагуляционные особенности, характерные для больных Ph(-)МПН.

Определение индекса коагуляции у пациентов с Ph-негативными МПН позволяет осуществить персонализированный подход к выявлению разнонаправленных нарушений гемостатического баланса, результатом которых может быть развитие гипер- или гипокоагуляционного состояния плазменного звена гемостаза.

Исследование тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными МПН

Для характеристики функциональных особенностей тромбоцитов у пациентов с Ph(-)МПН проводили определение их агрегационных параметров при индукции различными агентами. Результаты больных, не получавших медикаментозного лечения, представлены на рисунке 4.

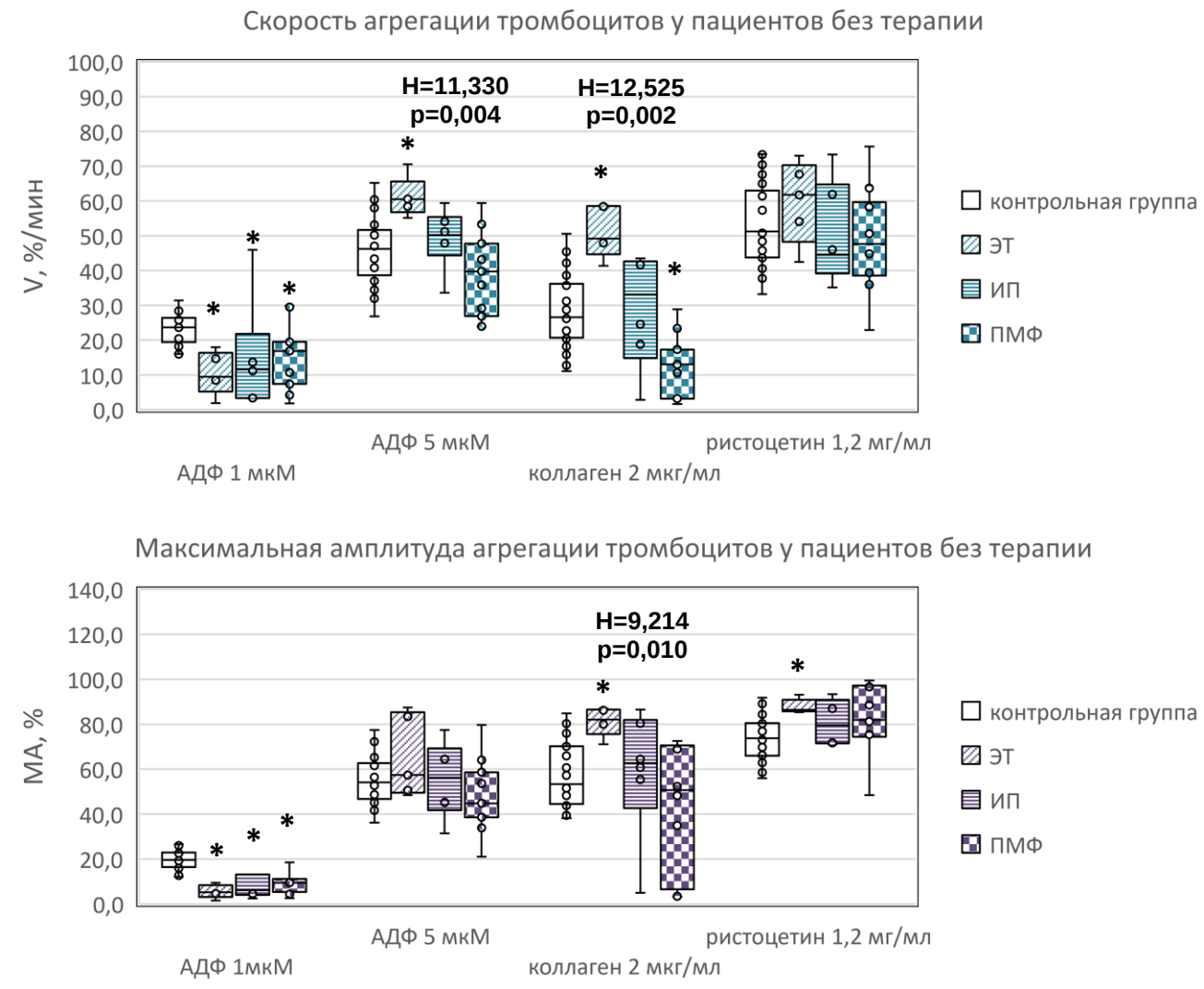

Рисунок 4 - Показатели агрегации тромбоцитов у пациентов с Ph-негативными МПН, не получавших медикаментозного лечения

Примечание: * - p<0,017 при сравнении с контрольной группой

Группы не получавших лечения больных имели весьма ограниченный размер, обусловленный частым назначением медикаментозной терапии, в том числе антиагрегантов, ещё на этапе диагностики заболевания. Несмотря на данное обстоятельство, имеющиеся результаты позволяют выявить определенные особенности. Так, по сравнению с контрольными значениями во всех нозологических группах пациентов отмечалось существенное снижение показателей агрегации тромбоцитов под действием низких доз АДФ (1 мкМ) (рисунок 4).

Влияние других индукторов агрегации, включая высокие концентрации АДФ, на агрегацию тромбоцитов у больных, не получавших терапии, зависело от принадлежности пациентов к различным нозологиям. Наиболее выраженные изменения были характерны для больных ЭТ, у которых скорость агрегации под действием высоких доз АДФ (5 мкМ) и коллагена, а также МА агрегации при индукции коллагеном и ристоцетином существенно превышали контрольные показатели. У больных ИП, не получавших терапии, отмечалась тенденция к росту относительно здоровых лиц таких показателей как скорость агрегации при действии АДФ (5 мкМ) (p=0,329), а также МА под влиянием коллагена и ристоцетина (p=0,329 и p=0,161 соответственно).

В противоположность больным ЭТ и ИП, группа больных ПМФ отличалась существенным замедлением агрегации под действием коллагена относительно как контрольной группы, так и больных ЭТ (p<0,017). По сравнению с пациентами из группы ЭТ значимо меньшие величины имели также такие параметры, как скорость агрегации под действием АДФ (5 мкМ) (p=0,004) и МА, вызванная добавлением коллагена (p=0,003), в то время как относительно значений здоровых лиц данные показатели, а также МА агрегации при индукции АДФ (5мкМ) обнаруживали лишь тенденцию к снижению (p=0,126, p=0,317 и p=0,078 соответственно). Наряду с указанными отклонениями, свидетельствующими о снижении функциональной активности тромбоцитов, у пациентов с ПМФ, не получавших терапии, при сравнении с контрольными показателями отмечался некоторый рост МА агрегации под действием ристоцетина относительно контрольных показателей (p=0,055).

Таким образом, при исследовании функциональной активности тромбоцитов у пациентов с Ph-негативными МПН, не получавших медикаментозной терапии, общая для всех нозологий особенность заключалась в значимом снижении показателей агрегации под действием АДФ в низких дозах, что может свидетельствовать о неполноценности рецепторного аппарата тромбоцитов. При использовании других индукторов и АДФ в более высокой концентрации наиболее высокая агрегационная активность кровяных пластинок отмечалась у больных ЭТ, у пациентов с ИП обнаруживалась тенденция к росту показателей агрегации тромбоцитов, для больных ПМФ была характерна противоположная направленность изменений функциональной активности тромбоцитов в сочетании с некоторым усилением агрегации при индукции ристоцетином.

Оценка эндотелиальной дисфункции у пациентов с Ph-негативными МПН

В исследовании проведена оценка нарушений гемостатической функции эндотелия у больных Ph-негативными МПН путем определения в плазме маркеров, образующихся в эндотелии и участвующих в гемостазе, таких как фактор Виллебранда (фВ) и растворимый тромбомодулин (sTM), и вазомоторной функции эндотелия неинвазивным методом периферической артериальной тонометрии. Результаты определения уровня фВ (АгфВ) у обследованных пациентов в сравнении с контрольной группой представлены на рисунке 5. Уровень фВ у больных Ph(-)МПН значительно превышал показатели здоровых лиц. При этом увеличение данного параметра у обследуемых было ассоциировано с протромботическими изменениями плазменного звена гемостаза, такими как повышение активности фVIII и фВ (R=0,646 p<0,000001 и R=0,751 p<0,000001 соответственно), а также снижение чувствительности к ТМ (R=-0,331 p=0,0003 по падению ETP и R=-0,299 p=0,001 по падению Peak thrombin). При оценке отдельных нозологических групп уровень фВ был существенно выше контрольных величин у пациентов с ИП и ПМФ (рисунок 5).

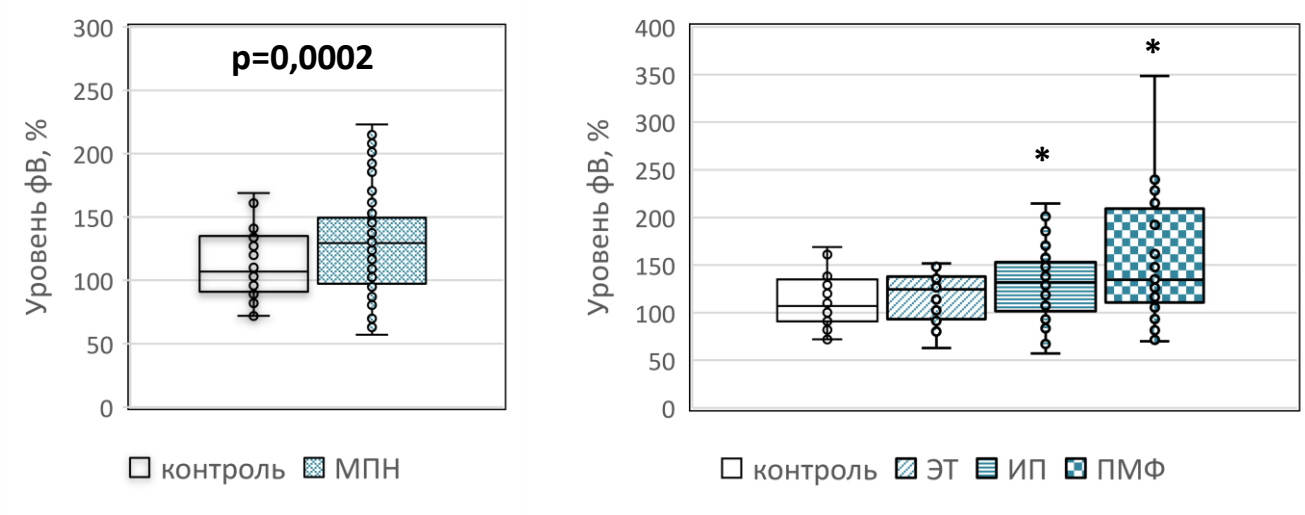

Рисунок 5 - Уровень фактора Виллебранда у пациентов с Ph-негативными МПН
Примечание: p – уровень значимости при сравнении с контрольной группой;
* – p<0,017 при сравнении с контрольной группой.

Результаты оценки влияния тромботического анамнеза на уровень фВ у обследованных пациентов представлены на рисунке 6.

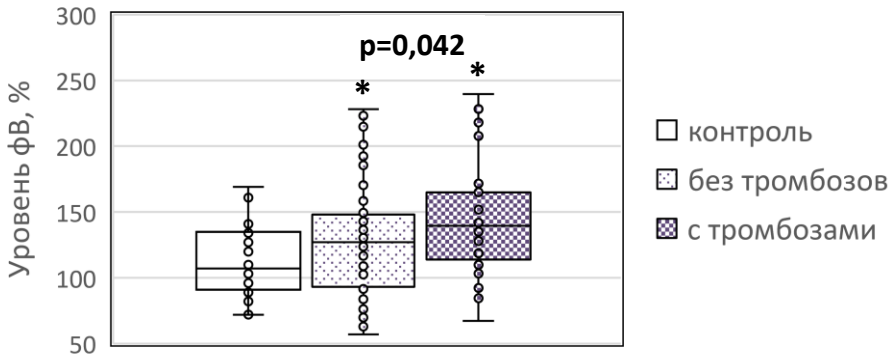

Рисунок 6 - Уровень фактора Виллебранда у пациентов с Ph-негативными МПН в зависимости от наличия тромбозов в анамнезе
Примечание: * p<0,025 при сравнении с контрольной группой;
p – уровень статистической значимости при сравнении двух групп пациентов.

У больных Ph(-)МПН с предшествующими тромбозами отмечался наиболее выраженный рост уровня фВ в плазме крови. Данная особенность сохраняла значимость среди пациентов с ЭТ, у которых наличие тромбозов в анамнезе сопровождалось значительным повышением АгфВ относительно как контрольной группы, так и остальных больных данной нозологией (p=0,033). У пациентов с ИП и ПМФ с тромботическим анамнезом содержание фВ обнаруживало тенденцию к увеличению по сравнению с больными соответствующих нозологий, не имевшими ранее тромбозов (p=0,259 и p=0,202 соответственно), наряду со значимым повышением относительно контрольных показателей во всех группах пациентов.

Мутационный статус JAK2V617F не оказывал значимого влияния на уровень фВ как в общей группе больных Ph(-)МПН (p=0,731), так и при отдельном анализе нозологий. В то же время, среди пациентов с ИП обнаружена прямая корреляционная зависимость содержания фВ с аллельной нагрузкой JAK2 V617F (R=0,485 p=0,019). Ассоциация АгфВ как маркера активации и повреждения эндотелия с величиной аллельной нагрузки JAK2 V617F может обуславливать её влияние на частоту развития тромбозов.

При оценке влияния наличия и вида терапии у пациентов с ИП повышение АгфВ относительно показателей здоровых лиц достигало статистической значимости только у принимавших циторедуктивные препараты (рисунок 7).

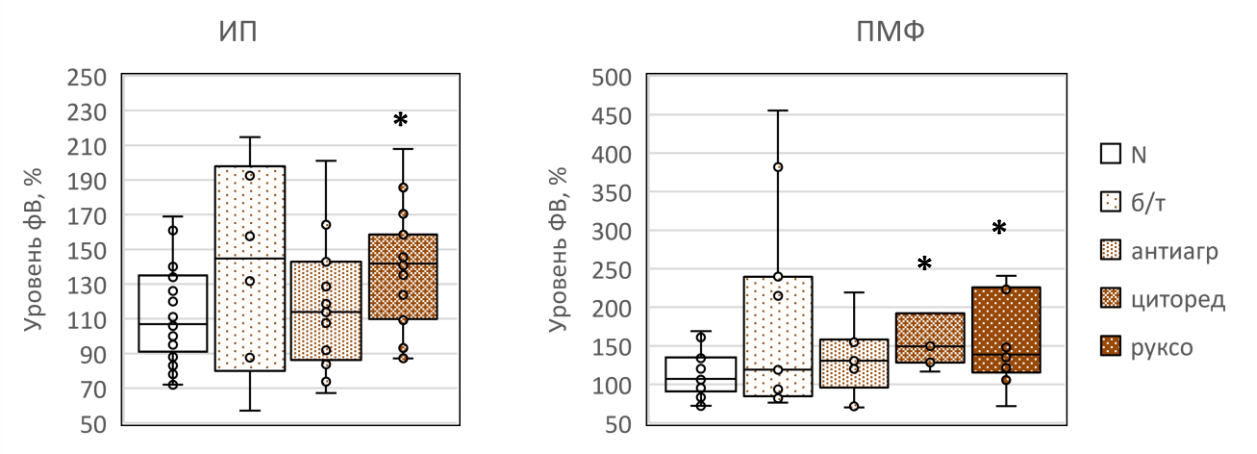

Рисунок 7 - Уровень фактора Виллебранда у пациентов с ИП и ПМФ в зависимости от терапии
Примечание: * - p<0,017 (для ИП)/ p<0,0127 (для ПМФ) при сравнении с контрольной группой;
N – контрольная группа, б/т – без терапии, антиагр – антиагреганты, циторед – циторедуктивные препараты +/- антиагреганты, руксо – руксолитиниб +/- циторедуктивные препараты +/- антиагреганты

У больных ПМФ значимое увеличение содержания фВ относительно контрольных показателей отмечалось у пациентов, получавших циторедуктивные препараты и/или руксолитиниб (рисунок 7). Среди больных ЭТ в зависимости от наличия и вида терапии не выявлялось значимых различий по уровню фВ при сравнении с контрольной группой.

В качестве биохимического маркера повреждения эндотелия определяли также растворимый тромбомодулин (sTM) в плазме крови больных Ph-негативными МПН. Результаты определения в сравнении с показателями здоровых лиц представлены на рисунке 8.

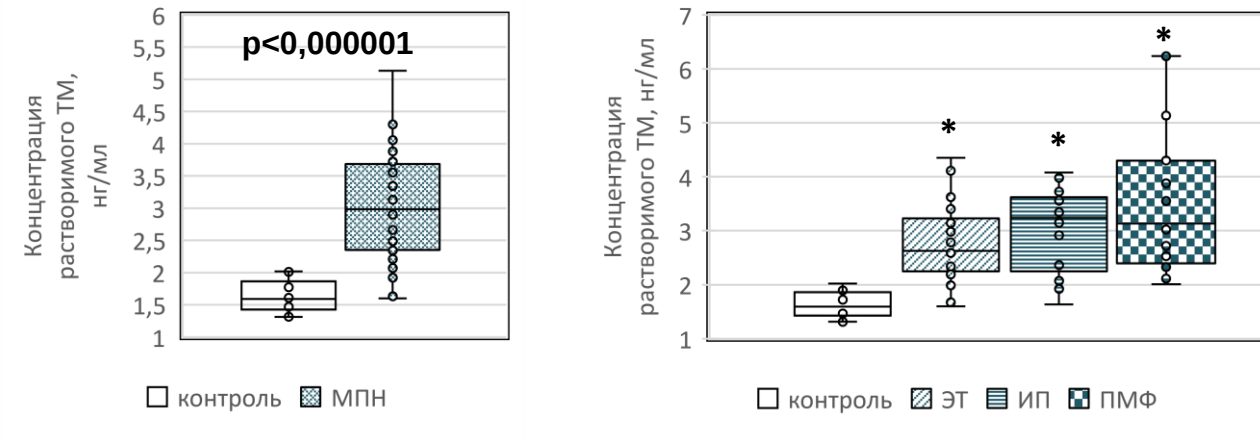

Рисунок 8 - Концентрация растворимого тромбомодулина у пациентов Ph-негативных МПН
Примечание: p – уровень значимости при сравнении с контрольной группой;
* - p<0,017 при сравнении с контрольной группой.

Концентрация sTM значительно превышала показатели здоровых лиц как в общей группе обследованных пациентов, так и во всех нозологиях. При этом рост данного параметра у больных Ph(-)МПН коррелировал с такими прокоагулянтными характеристиками плазменного звена гемостаза, как повышение активности фVIII и фВ (R=0,388 p=0,001 и R=0,320 p=0,009 соответственно), снижение активности PC и уровня свободного PS (R=-0,312 p=0,013 и R=-0,387 p=0,002 соответственно). Кроме того, выявлена прямая корреляция между показателями концентрации sTM и АгфВ (R=0,442 p=0,0003), что подтверждает выраженность эндотелиальных нарушений у обследованных пациентов. Среди больных ЭТ отмечалась прямая корреляция концентрации sTM с числом тромбоцитов крови (R=0,521 p=0,032), указывая на связь повреждения эндотелия с миелопролиферативными особенностями.

Наличие тромбозов в анамнезе пациентов с Ph(-)МПН сопровождалось тенденцией к более выраженному росту концентрации sTM (p=0,118 при сравнении с больными без тромботических

осложнений). Сходные закономерности также выявлялись в отдельных нозологических группах пациентов, а именно у больных ЭТ и ИП (p=0,316 и p=0,257 соответственно). Существенных различий по уровню sTM в зависимости от мутационного статуса JAK2 V617F у пациентов с Ph(-)МПН не было обнаружено (p=0,466). В то же время среди обследованных больных обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь между содержанием sTM и аллельной нагрузкой мутации JAK2 V617F с уровнем значимости, близким к критическому (R=0,365, p=0,052).

При оценке изменений уровня sTM под влиянием терапии у обследованных больных ЭТ показатели получавших только антиагреганты значимо превышали параметры пациентов, лечение которых включало циторедуктивные препараты (p=0,045), при этом содержание sTM было существенно выше контрольных значений в обеих группах больных. У пациентов с ИП и ПМФ показатели концентрации sTM существенно превосходили параметры здоровых лиц независимо от вида терапии и значимо не отличались между собой (p=0,694 и p=0,232 соответственно).

Кроме определения растворимых в плазме биохимических маркеров, продуцируемых эндотелием при активации и повреждении, для характеристики состояния эндотелия применяли неинвазивный метод периферической артериальной тонометрии (peripheral arterial tonometry, PAT), позволяющий оценить вазомоторную функцию эндотелия микрососудистого русла путём регистрации изменений пульсового объема кончика пальца при развитии реактивной гиперемии [Bonetti P.O., 2004; Axtell A.L., 2010]. Функциональную активность эндотелия, а именно, способность эндотелия к NO-зависимой вазодилатации, при этом характеризует индекс реактивной гиперемии (reactive hyperemia index, RHI), значения которого ниже 1,67 свидетельствуют о развитии эндотелиальной дисфункции, параметры от 1,67 до 2,0 лежат в зоне риска и показатели, превышающие 2,0, соответствуют нормальному функционированию эндотелия. В соответствии с полученными значениями RHI эндотелиальная дисфункция была выявлена у 36,7% обследованных JAK2V617F-позитивных пациентов с Ph(-)МПН (рисунок 9).

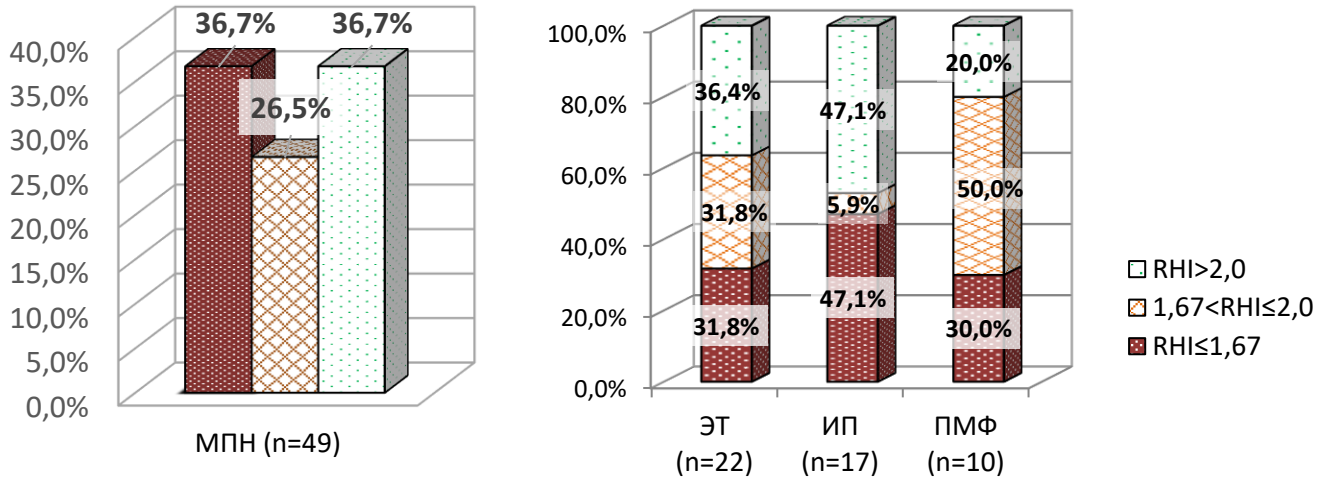

Рисунок 9 - Распределение пациентов с Ph-негативными МПН в соответствии с показателями RHI

При рассмотрении отдельных нозологических групп дисфункция эндотелия была наиболее характерна для больных ИП (47,1%) и в меньшей степени для пациентов с ЭТ (31,8%) и ПМФ (30,0%). Кроме того, существенная доля значений RHI обследованных больных соответствовала зоне риска. Высокая встречаемость значений RHI≤1,67 свидетельствует о выраженной вазомоторной дисфункции эндотелия, в то время как результаты, лежащие в зоне риска, также предполагают определённое нарушение вазодилататорной функции эндотелия.

По результатам корреляционного анализа выявлена прямая зависимость между показателями RHI и уровнем свободного PS у обследованных пациентов с Ph(-)МПН (R=0,369 p=0,037). При оценке отдельных нозологических групп сходная корреляция отмечалась среди больных ИП (R=0,709 p=0,015). В этой же группе пациентов RHI был напрямую взаимосвязан с чувствительностью к TM (R=0,645 p=0,032). На наличие связи вазомоторной функции эндотелия с работой естественных антикоагулянтных систем также указывала прямая

корреляция RHI с активностью АТ у пациентов с ИП (R=0,683 p=0,020). Взаимосвязь вазодилататорной функции эндотелия с уровнем исследованных растворимых маркеров ЭД обнаружена среди больных ЭТ и заключалась в обратной зависимости с уровнем значимости, близким к критическому, между показателями RHI и концентрацией sTM (R=-0,650 p=0,058).

Таким образом, проведённая оценка состояния эндотелия свидетельствовала о развитии выраженной эндотелиальной дисфункции у пациентов с Ph-негативными МПН. По результатам определения уровня фВ активация и повреждение эндотелия были наиболее характерны для больных ИП и ПМФ, получавших терапию циторедуктивными и/или таргетными препаратами, а также пациентов с ЭТ, имевших тромбозы в анамнезе. В то же время повышение концентрации sTM наблюдалось во всех нозологических группах и в меньшей степени зависело от получаемой больными терапии и других факторов. Применение неинвазивного метода PAT способствовало выявлению вазомоторной дисфункции эндотелия у 37% обследованных больных Ph(-)МПН, наибольшая доля лиц с эндотелиальной дисфункцией отмечалась среди пациентов с ИП. Выраженная корреляционная зависимость уровня фВ и sTM с прокоагулянтными изменениями показателей плазменного звена гемостаза свидетельствует об ассоциации эндотелиальных нарушений с развитием гиперкоагуляции у пациентов с Ph-негативными МПН. Взаимосвязь выявленных нарушений как гемостатической, так и вазодилататорной функций эндотелия со снижением уровня и эффективности работы естественных антикоагулянтов системы протеина С указывает на определяющую роль дисфункции эндотелия в развитии протромботического состояния у пациентов с Ph(-)МПН.

ВЫВОДЫ

1. Состояние плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями характеризуется наличием протромботических изменений, таких как повышение концентрации фибриногена и активности фактора VIII, и снижением эффективности естественных антикоагулянтов системы протеина С, приводящих к нарушению гемостатического баланса, наиболее выраженного при первичном миелофиброзе по сравнению с больными истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией.
2. Особенностью тромбоцитарного звена гемостаза у пациентов с эссенциальной тромбоцитемией и истинной полицитемией, не получающих лечения, является высокая функциональная активность тромбоцитов, что подтверждается ростом параметров агрегации под действием таких индукторов, как коллаген и ристоцетин.
3. Для пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями характерна дисфункция эндотелия, которая проявляется нарушением гемостатической и вазомоторной функций, о чём свидетельствует увеличение содержания фактора Виллебранда (Me, Q1-Q3: 129,50, 103,20–149,50), растворимого тромбомодулина (Me, Q1-Q3: 2,98, 2,36-3,64) относительно значений здоровых лиц (Me, Q1-Q3: 107,00, 91,00-134,50 и 1,59, 1,45-1,82 соответственно), а также снижение индекса реактивной гиперемии ниже 1,67.
4. Дисфункция эндотелия ассоциируется с гиперкоагуляционными изменениями плазменного звена гемостаза, что указывает на прямую вовлечённость нарушений функциональной активности эндотелия в развитие протромботического состояния.
5. У пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями, имеющих тромбозы в анамнезе, усугубляются признаки эндотелиальной дисфункции и прокоагулянтные изменения плазменного звена гемостаза.
6. Наличие мутации JAK2 V617F у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями сопровождается уменьшением активности антитромбина относительно носителей аллеля дикого типа. Повышение аллельной нагрузки данной мутации коррелирует с падением активности и уровня антикоагулянтов системы протеина С (R=-0,390 и R=-0,400 для протеинов С и S соответственно), а также со снижением количественных показателей генерации тромбина (R=-0,504 и R=-0,353 для значений эндогенного потенциала и пиковой концентрации тромбина соответственно).

7. Степень выраженности протромботических изменений у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями характеризуется уровнем маркеров эндотелиальной дисфункции и величиной индекса коагуляции, который в группе здоровых лиц составляет 1,91, 1,57–2,17 (Me, Q1-Q3), у пациентов с эссенциальной тромбоцитемией, истинной полицитемией и первичным миелофиброзом (Me, Q1-Q3) 2,25, 1,61-4,76; 2,62, 1,92-3,94 и 2,90, 1,71-7,28 соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для выявления протромботической направленности плазменного звена гемостаза у больных Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями рекомендуется применять индекс коагуляции, рассчитываемый по параметрам теста генерации тромбина.
2. Для оценки степени выраженности эндотелиальной дисфункции у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями целесообразно определение уровня фактора Виллебранда в плазме крови.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

В журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ:

1. Корсакова Н.Е. Особенности состояния эндотелия при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях // Сибирский научный медицинский журнал. – 2021. – 41. – №6. – С. 30-44.
2. Корсакова Н.Е. Особенности плазменного звена гемостаза у пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями / Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, Н.Н. Силина, О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, Л.Б. Полушкина, И.С. Мартынкевич, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, А.В. Чечеткин, Л.П. Папаян // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2020. – №3. – С.67-74.
3. Силина Н.Н. Влияние проводимой терапии на состояние плазменного гемостаза у больных истинной полицитемией / Н.Н. Силина, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, Л.П. Папаян, С.С. Бессмельцев, А.В. Чечеткин // MEDLINE.RU. – Т.21 (2020г.). – С. 75-86. – Опубликована в журнале 12.02.2020. – URL: http://medline.ru/public/art/tom21/art7.html.
4. Силина Н.Н. Влияние терапии на агрегатное состояние крови у больных миелопролиферативными новообразованиями / Н.Н. Силина, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, Е.В. Ефремова, С.В. Волошин, С.В. Сидоркевич, Л.П. Папаян // Трансфузиология. – 2022. – Т. 23. – №1. – С. 68-79.
5. Ефремова Е.В. Проблема тромботических осложнений при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях / Е.В. Ефремова, С.В. Волошин, Л.П. Папаян, Н.Н. Силина, В.А. Шуваев, Н.Е. Корсакова, И.С. Мартынкевич, В.Н. Семелёв, А.Н. Богданов, С.В. Сидоркевич // Гематология. Трансфузиология. Восточная Европа. – 2022. – Т. 8. – №1. – С. 19-28.

В прочих журналах:

6. Корсакова Н.Е. Оценка гемостатического статуса и функционального состояния сосудистого эндотелия у JAK2V617F-позитивных пациентов с миелопролиферативными новообразованиями / Н.Е. Корсакова, О.Ю. Матвиенко, Н.Н. Силина, О.Г. Головина, Л.П. Папаян, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, В.А. Шуваев, С.В. Волошин // Вестник гематологии. – 2018. – Т. XIV. – №1. – С. 48–49.
7. Матвиенко О.Ю. Состояние системы гемостаза пациентов с Ph-негативными миелопролиферативными новообразованиями / О.Ю. Матвиенко, Н.Е. Корсакова, Н.Н. Силина, О.Г. Головина, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Вестник гематологии. – 2018. – Т. XIV. – №1. – С. 54.
8. Ефремова Е.В. Нарушения гемостаза при миелофиброзе / Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, О.Ю. Матвиенко, Н.Н. Силина, Н.Е. Корсакова, В.А. Шуваев, Л.П. Папаян, С.В. Волошин // Гематология и трансфузиология. – 2018. – Т. 63. – № S1. – С. 133.

9. Efremova E. The coagulation system functioning in patients with myelofibrosis / E. Efremova, O. Matvienko, M. Fominykh, N. Korsakova, N. Silina, L. Papayan, V. Shuvaev, S. Voloshin // Abstract book of 23th Congress of EHA (Stockkolm, June 14–17 2018).

10. Silina N. The coagulation system state in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms / N. Silina, O. Matvienko, N. Korsakova, O. Golovina, S. Voloshin, V. Shuvaev, E. Efremova, M. Fominykh // Res Pract Thromb Haemost. – 2018. – Vol. 2. – Suppl. 1. – Special Issue: Abstracts of the 64th Annual Meeting of the Scientific Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (July 18-21, 2018). – P. 266.

11. Korsakova N. Natural anticoagulants protein C and protein S decrease and endothelium function evaluation in JAK2 V617F-positive patients with myeloproliferative neoplasms / N. Korsakova, N. Silina, E. Efremova, V. Shuvaev, L. Papayan // The book of abstracts Объединённого международного конгресса «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с 9-й Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, 4–6 октября 2018 г.). – European and Mediterranean League against Thromboembolic Diseases, 2018. – P. 123.

12. Matvienko O. The Calibrated Automated Thrombinography in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms / O. Matvienko, N. Silina, N. Korsakova, E. Efremova, M. Fominykh, L. Papayan, O. Golovina, V. Shuvaev, S. Voloshin // The book of abstracts Объединённого международного конгресса «Congress on Open Issues in Thrombosis and Hemostasis» совместно с 9-й Всероссийской конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии (Санкт-Петербург, 4–6 октября 2018 г.). – European and Mediterranean League against Thromboembolic Diseases, 2018. – P. 168.

13. Корсакова Н.Е. Оценка состояния системы фибринолиза при Ph-негативных миелопролиферативных новообразованиях / Н.Е. Корсакова, Н.Н. Силина, О.Г. Головина, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Вестник гематологии. – 2019. – Т. XV. - № 3. – С. 31–32.

14. Korsakova N. Hemostatic markers of hypercoagulability in primary myelofibrosis patients, relation with JAK2V617F allele burden load / N. Korsakova, N. Silina, E. Efremova, M. Fominykh, V. Kobilyanskaya, O. Golovina, O. Matvienko, L. Polushkina, I. Martynkevich, V. Shuvaev, S. Voloshin, L. Papayan // Abstract book of 24th Congress of EHA (Amsterdam, June 13–16 2019).

15. Korsakova N. Coagulation factors and natural anticoagulants in polycythemia vera patients, relation with JAK2V617F mutation load / N. Korsakova, N. Silina, E. Efremova, M. Fominykh, L. Polushkina, I. Martynkevich, V. Kobilyanskaya, O. Golovina, V. Shuvaev, S. Voloshin, L. Papayan // Res Pract Thromb Haemost. – 2019. – Vol. 3. – Suppl 1. – Special Issue: Abstracts of the XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (July 6-10, 2019). – P. 703–704.

16. Matvienko O. Efficiency of anticoagulant protein C system in patients with primary myelofibrosis / O. Matvienko, N. Silina, N. Korsakova, V. Kobilyanskaya, E. Efremova, M. Fominykh, L. Papayan, O. Golovina, V. Shuvaev, S. Voloshin // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2019. – Vol. 3. – Suppl 1. – Special Issue: Abstracts of the XXVII Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (July 6-10, 2019). – P. 97.

17. Корсакова Н.Е. Влияние аллельной нагрузки JAK2V617F на активность естественных антикоагулянтов у пациентов с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией / Н.Е. Корсакова, Н.Н. Силина, П.А. Котельников, В.А. Кобилянская, О.Г. Головина, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, Л.Б. Полушкина, И.С. Мартынкевич, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Вестник гематологии. – 2019. – Т. XV. – №4. – С. 41–42.

18. Корсакова Н.Е. Характер изменения показателей плазменного гемостаза при Ph–негативных миелопролиферативных новообразованиях / Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, Н.Н. Силина, О.Ю. Матвиенко, В.А. Кобилянская, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Сб. материалов V Межрегиональной научно-практической конференции «Наследственная и приобретенная патология свёртывания крови — тромбозы и кровотечения: диагностика, профилактика, лечение, экономика» (Саратов, 3-4 марта 2020 г.) / Под редакцией Д.М. Пучиньяна, С.С. Паршиной. – Саратов: Саратовский источник, 2020. – С. 32–36.

19. Korsakova N. Increased Coagulation Potential in Patients with Polycythemia Vera and Essential Thrombocythemia with Thrombotic History [abstract] / N. Korsakova, O. Golovina, O. Matvienko, N. Silina, E. Efremova, M. Fominykh, V. Shuvaev, S. Voloshin, L. Papayan // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 4 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/increased-coagulation-potential-in-patients-with-polycythemia-vera-and-essential-thrombocythemia-with-thrombotic-history.

20. Silina N. XIIa-Dependent Fibrinolysis in Patients with Ph-Negative Myeloproliferative Neoplasms (MPN) [abstract] / N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina, O. Matvienko, E. Efremova, M. Fominykh, V. Shuvaev, S. Voloshin, L. Papayan // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 4 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/xiia-dependent-fibrinolysis-in-patients-with-ph-negative-myeloproliferative-neoplasms-mpn.

21. Matvienko O. Micropartical-Associated Thrombin Generation in Patients with Philadelphia-Negative Myeloproliferative Neoplasms [abstract] / O. Matvienko, N. Silina, N. Korsakova, E. Efremova, M. Fominyh, L. Papayan, O. Golovina, V. Shuvaev, S. Voloshin // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 4 (Suppl. 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/micropartical-associated-thrombin-generation-in-patients-with-philadelphia-negative-myeloproliferative-neoplasms.

22. Matvienko O. Influence of Specific Therapy on Microparticle-Associated Thrombin Generation in Patients with Primary Myelofibrosis [abstract] / O. Matvienko, N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina, L. Papayan, E. Efremova, M. Fominyh, V. Shuvaev, S. Voloshin // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 4 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/influence-of-specific-therapy-on-microparticle-associated-thrombin-generation-in-patients-with-primary-myelofibrosis.

23. Smirnova O. Platelet Function in Primary Myelofibrosis [abstract] / O. Smirnova, L. Tarkovskaya, N. Korsakova, N. Silina, M. Fominykh, S. Voloshin, L. Papayan // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2020. – Vol. 4 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/platelet-function-in-primary-myelofibrosis.

24. Корсакова Н.Е. Изменения гемостатического потенциала пациентов с истинной полицитемией и эссенциальной тромбоцитемией в зависимости от наличия тромбозов в анамнезе / Н.Е. Корсакова, О.Ю. Матвиенко, О.Г. Головина, Н.Н. Силина, Е.В. Ефремова, В.А. Шуваев, А.В. Чечеткин, Л.П. Папаян // Материалы 2-й научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 11 декабря 2020 г.). – Вестник гематологии. – 2020. – Т. XVI. – № 4. – С. 47–48.

25. Матвиенко О.Ю. Эффективность работы антикоагулянтной системы протеина С у пациентов с первичным миелофиброзом / О.Ю. Матвиенко, Н.Е. Корсакова, Н.Н. Силина, Л.П. Папаян, О.Г. Головина, Е.В. Ефремова, М.С. Фоминых, В.А. Шуваев, С.В. Волошин // Материалы 2-й научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 11 декабря 2020г.). – Вестник гематологии. – 2020. – Т. XVI. – № 4. – С. 51.

26. Силина Н.Н. Показатели фибринолиза у пациентов с хроническими миелопролиферативными новообразованиями / Н.Н. Силина, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, С.А. Карпич, О.А. Смирнова, Е.В. Ефремова, В.А. Шуваев, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Материалы 2-й научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 11 декабря 2020г.). – Вестник гематологии. – 2020. – Т. XVI. – № 4. – С. 55–56.

27. Смирнова О.А. Особенности функциональной активности тромбоцитов при первичном миелофиброзе / О.А. Смирнова, Л.Р. Тарковская, Н.Е. Корсакова, Н.Н. Силина, М.С. Фоминых, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Материалы 2-й научно-практической онлайн-конференции с международным участием «Актуальные вопросы патологии гемостаза» (Санкт-Петербург, 11 декабря 2020г.). – Вестник гематологии. – 2020. – Т. XVI. – № 4. – С. 56.

28. Силина Н.Н. Показатели эндотелиальной дисфункции у пациентов с истинной полицитемией на циторедуктивной и/или антиагрегантной терапии / Н.Н. Силина, Н.Е. Корсакова, О.Г. Головина, П.А. Котельников, М.С. Фоминых, Е.В. Ефремова, С.В. Волошин, Л.П. Папаян // Материалы I Всероссийского Конгресса с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики (Москва, 25–27 мая 2021 г.). – М., 2021. – С. 62.

29. Korsakova N. Endothelial Dysfunction in Patients with Ph-negative Myeloproliferative Neoplasms [abstract] / N. Korsakova, O. Golovina, N. Silina, E. Efremova, L. Papayan // Res Pract Thromb Haemost. – 2021. - 5 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/endothelial-dysfunction-in-patients-with-ph-negative-myeloproliferative-neoplasms.

30. Silina N. Endothelial Dysfunction in Patients with Polycythemia Vera on Cytoreductive and / or Antiplatelet Therapy [abstract] / N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina, M. Fominykh, E. Efremova, S. Voloshin, L. Papayan // Res Pract Thromb Haemost. – 2021. - 5 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/endothelial-dysfunction-in-patients-with-polycythemia-vera-on-cytoreductive-and-or-antiplatelet-therapy.

31. Silina N. Effect of Therapy on Thrombin Generation in Patients with Polycythemia Vera [abstract] / N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina, O. Matvienko, M. Fominykh, E. Efremova, S. Voloshin, L. Papayan // Res Pract Thromb Haemost. – 2021. - 5 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/effect-of-therapy-on-thrombin-generation-in-patients-with-polycythemia-vera.

32. Smirnova O. Circulating Biologic Markers of Endothelial Dysfunction in Chronic Myeloproliferative Neoplasms [abstract] / O. Smirnova, N. Silina, N. Korsakova, O. Golovina, E. Efremova, M. Fominykh, S. Voloshin, L. Papayan // Res. Pract. Thromb. Haemost. – 2021. - 5 (Suppl 1). – URL: https://abstracts.isth.org/abstract/circulating-biologic-markers-of-endothelial-dysfunction-in-chronic-myeloproliferative-neoplasms.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АгфВ – антиген (уровень) фактора Виллебранда
АДФ – аденозиндифосфорная кислота
АПТВ – активированное парциальное тромбопластиновое время
АТ – антитромбин
ИП – истинная полицитемия
Me – медиана
МПН – миелопролиферативные новообразования
ПМФ – первичный миелофиброз
ПТ– протромбиновый тест по Квику
ТГТ – тест генерации тромбина
TM - тромбомодулин
фВ – фактор Виллебранда
фVIII – коагуляционный фактор VIII
ЭТ – эссенциальная тромбоцитемия
CI – индекс коагуляции
ETP – эндогенный тромбиновый потенциал
PAT – периферическая артериальная тонометрия
PC – протеин С
Peak thrombin – пиковая концентрация тромбина
Ph(-)МПН – Ph-негативные миелопролиферативные новообразования
PPP - бедная тромбоцитами плазма
PRP – богатая тромбоцитами плазма
PS – протеин S
Q1-Q3 – интерквартильный интервал
RHI – индекс реактивной гиперемии
sTM – растворимый тромбомодулин
STM_{ETP} – чувствительность к тромбомодулину по падению ETP
$STM_{Peak\ thrombin}$ – чувствительность к тромбомодулину по падению Peak thrombin