

Сравнительный анализ протромботической активности у пациентов с инфарктом миокарда при необструктивном и обструктивном атеросклеротическом поражении коронарных артерий

Воробьева Д. А.¹, Лугачева Ю. Г.¹, Капилевич Н. А.¹, Рябов В. В.^{1,2}

Цель. Сравнить показатели протромботической активности крови у пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) при необструктивном (ИМБОКА) и обструктивном поражении коронарных артерий (ИМОКА).

Материал и методы. В исследование включено 40 пациентов с ИМ (19 пациентов в основной группе и 21 пациент в группе контроля), из заключительного анализа были исключены 3 (15,7%) пациента с диагностированным острым инфарктом. Гемостазиологическое и гематологическое исследования крови изучены при поступлении, на 2-е, 4-е, 7-е сут. от момента госпитализации. Забор образцов крови на протеин С, антитромбин, фактор Виллебранда (ФВ), плазминоген, гомоцистеин производился на 4±1 день от момента госпитализации. Для определения IgG/IgM-антител к кардиолипину и к β2-гликопротеину с целью диагностики антифосфолипидного синдрома (АФС) использовался иммуноферментный набор ORGENTEC Anti-β2-Glycoprotein I IgG/IgM ELISA. Исследование крови на волчаночный антикоагулянт проводилось с использованием анализатора ACL-Top 700 (Werfen) с реагентами HemosIL SynthASil dRWV screen/dRWV confirm и с кварцевым активатором SCT screen/SCT confirm.

Результаты. Согласно полученным данным показателей системы гемостаза выявлено, что у пациентов с ИМБОКА определяется статистически более низкий уровень плазминогена ($p=0,007$), а также более высокий уровень гомоцистеина ($p=0,03$). По таким показателям, как протеин С, антитромбин, ФВ различий между группами не выявлено, $p<0,05$. При этом дефицит протеина С выявлен у 2 (12,5%) пациентов ИМБОКА и у 1 (5,3%) пациента в группе контроля. Дефицит антитромбина определен у 2 (12,5%) пациентов ИМБОКА и у 2 (9,5%) пациентов с ИМОКА. Повышение уровня ФВ обнаружено у 6 (37,5%) пациентов в основной группе и у 7 (33,3%) пациентов в группе контроля. Различий по наличию волчаночного антикоагулянта, антител к кардиолипину и β2-гликопротеину не выявлено, $p>0,05$. Отмечается более высокий уровень тромбоцитов у пациентов с ИМБОКА на 2-е и 4-е сут. острого ИМ ($p=0,046$ и $p=0,01$), однако уровень гемоглобина у пациентов ИМБОКА был статистически ниже при поступлении, на 4-е и 7-е сут. острого инфаркта миокарда ($p=0,02$, $p=0,03$ и $p=0,04$).

Заключение. По результатам исследования у пациентов с ИМБОКА и ИМОКА выявлены различия показателей протромботической активности сыворотки крови. Определяется более высокий уровень гомоцистеина и более низкий уровень плазминогена у пациентов с ИМБОКА. По таким показателям, как протеин С, антитромбин, ФВ, наличие антител на АФС, различий между группами не определено. Согласно лабораторным данным у пациентов с ИМБОКА выявлены более высокие уровни тромбоцитов, но более низкие уровни гемоглобина и гематокрита в раннем постинфарктном периоде.

Ключевые слова: необструктивный атеросклероз коронарных артерий, инфаркт миокарда без обструктивного поражения коронарных артерий, тромбофилия.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90106.

Благодарности. Авторы выражают благодарность заведующему отделением неотложной кардиологии Демьянову С. В., заведующей лабораторией клинической лабораторной диагностики Кулагину И. В., анестезиологам-реаниматологам группы реанимации и интенсивной терапии отделения неотложной кардиологии за участие в лечении пациентов, включенных в анализ: Пантелееву О. О., Столярову В. А., Панасюк С. С., Шароварникову С. И., Аникину Д. Ю., Филиппову А. Ю., Слободянскому В. Ю., Корниенко Б. М., Свиридову Н. Ю., Оюнарову Э. О., Кирилину В. В., Невдаху А. Е.

ID исследования: NCT03572023.

¹Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск; ²ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, Томск, Россия.

Воробьева Д. А.* — аспирант отделения неотложной кардиологии, ORCID: 0000-0001-6425-8949, Лугачева Ю. Г. — к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики клинко-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0002-5417-1038, Капилевич Н. А. — к.м.н., врач клинической лабораторной диагностики клинко-диагностической лаборатории, ORCID: 0000-0003-3509-4759, Рябов В. В. — д.м.н., руководитель отделения неотложной кардиологии; профессор кафедры кардиологии ФПК и ППС, ORCID: 0000-0002-4358-7329.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
darya.lipnyagova@yandex.ru

АФС — антифосфолипидный синдром, ГГЦ — гипергомоцистеинемия, ЗКК — замедление коронарного кровотока, ИБС — ишемическая болезнь сердца, иКАГ — инвазивная коронарная ангиография, ИМ — инфаркт миокарда, ИМБОКА — инфаркт миокарда с неструктивным атеросклерозом коронарных артерий, ИМОКА — инфаркт миокарда с обструктивным поражением коронарных артерий, КФК-МВ — креатинфосфокиназа-МВ, ОИМ — острый инфаркт миокарда, ФВ — фактор Виллебранда, ФР — фактор риска.

Рукопись получена 29.05.2020

Рецензия получена 07.07.2020

Принята к публикации 10.10.2020



Для цитирования: Воробьева Д. А., Лугачева Ю. Г., Капилевич Н. А., Рябов В. В. Сравнительный анализ протромботической активности у пациентов с инфарктом миокарда при неструктивном и обструктивном атеросклеротическом поражении коронарных артерий. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(2):3939. doi:10.15829/1560-4071-2021-3939

Comparative analysis of prothrombotic activity in patients with myocardial infarction with and without obstructive coronary artery disease

Vorobieva D. A.¹, Lugacheva Yu. G.¹, Kapilevich N. A.¹, Ryabov V. V.^{1,2}

Aim. To compare parameters of prothrombotic activity in patients with myocardial infarction (MI) with obstructive (MICAD) and non-obstructive coronary artery disease (MINOCA).

Material and methods. The study included 40 patients with MI, which were divided into experimental ($n=19$) and control group ($n=21$). Three patients (15,7%) with acute myocarditis were excluded from the analysis. Hemostasiological and

hematological blood tests were studied upon admission, on the 2nd, 4th, 7th days from hospitalization. Blood samples for protein C, antithrombin, von Willebrand factor (VWF), plasminogen, homocysteine were performed on 4th±1 day from hospitalization. To determine the IgG/IgM anticardiolipin (aCL) and anti-beta 2 glycoprotein I (β2-GPI) antibodies in order to diagnose antiphospholipid syndrome (APS), the ORGENTEC Anti-β2-Glycoprotein I IgG/IgM ELISA enzyme immunoassay was used. Blood tests for lupus anticoagulant were performed using an ACL-Top 700 analyzer (Werfen) with HemosIL SynthASil dRVVT screen/dRVVT confirm and with a SCT screen/SCT confirm quartz activator.

Results. According to the data obtained, it was found that patients with MINOCA had a significantly lower level of plasminogen ($p=0,007$), as well as a higher level of homocysteine ($p=0,03$). For such indicators as protein C, antithrombin, ejection fraction, differences between the groups were not revealed ($p<0,05$). At the same time, protein C deficiency was detected in 2 (12,5%) patients with MINOCA and in 1 (5,3%) patient in the control group. Antithrombin deficiency was detected in 2 (12,5%) patients with MINOCA and in 2 (9,5%) patients with MICAD. An increase in the level of ejection fraction was found in 6 (37,5%) patients in the study group and in 7 (33,3%) patients in the control group. There were no differences in levels of lupus anticoagulant, aCL and β2-GPI antibodies ($p>0,05$). There was a higher platelet count in patients with MINOCA on the 2nd and 4th days of acute MI ($p=0,46$ and $p=0,01$, respectively). However, the hemoglobin level in patients with MINOCA was significantly lower on admission, 4th and 7th day of MI ($p=0,02$, $p=0,03$ and $p=0,04$, respectively).

Conclusion. According to the study results, in patients with MINOCA and MICAD, differences in blood thrombotic activity were revealed. A higher level of homocysteine and a lower level of plasminogen were determined in patients with MINOCA. For such parameters as protein C, antithrombin, VWF, aCL and β2-GPI antibodies, differences between the groups were not determined. According to laboratory data, patients with MINOCA showed higher platelet count, but lower levels of hemoglobin and hematocrit in the early postinfarction period.

Тромбообразование в коронарных артериях, связанное с разрывом нестабильной атеросклеротической бляшки, является одним из основных механизмов острого инфаркта миокарда (ОИМ) [1]. Этот механизм также имеет важное значение для пациентов с инфарктом миокарда (ИМ) и неструктивным атеросклерозом коронарных артерий (ИМБОКА), ввиду их гетерогенности и недостаточно изученными механизмами тромбообразования у этих больных [2]. Интерес к данному механизму возник с появлением триады Вирхова, что, в свою очередь, отразилось на прогрессе в антитромботической терапии и четком понимании того, что знание механизмов тромбообразования, а также препаратов, направленных на подавление агрегации тромбоцитов, сопровождается снижением смертности [1]. Вместе с тем Момот А. П. ввел понятие “состояние тромботической готовности”, которое объединяет в себе лабораторные и клинические признаки: увеличение вязкости крови, замедление коронарного кровотока (ЗКК) по данным инвазивной коронарной ангиографии (иКАГ), повышение маркеров внутрисосудистого свертывания крови, тромбирование иглы при венепункции [3]. Состояние тромботической готовности обычно предшествует тромбозу или сопровождает его при неэффективной антитромботической терапии. Зарубежные авторы такое состояние не выделяют, но говорят о факторах тромбогенного риска, которые

Keywords: non-obstructive coronary artery disease, myocardial infarction with non-obstructive coronary artery disease, thrombophilia.

Relationships and Activities. This study was supported by the RFBR grant № 19-315-90106.

Acknowledgements. The authors are grateful to the head of the emergency cardiology department Demyanov S.V., head of the laboratory of clinical laboratory diagnostics Kulagina I.V., intensivists of the intensive care unit for participation in the treatment of patients included in the analysis: Pantelev O.O., Stolyarov V.A., Panasyuk S.S., Sharovarnikova S.I., Anikin D.Yu., Filippov A.Yu., Slobodyansky V.Yu., Kornienko B.M., Sviridov N.Yu., Oyunarova E.O., Kirilin V.V., Nevdakh A.E.

Trial ID: NCT03572023.

¹Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Tomsk;
²Siberian State Medical University, Tomsk, Russia.

Vorobeva D.A.* ORCID: 0000-0001-6425-8949, Lugacheva Yu. D. ORCID: 0000-0002-5417-1038, Kapilevich N.A. ORCID: 0000-0003-3509-4759, Ryabov V.V. ORCID: 0000-0002-4358-7329.

*Corresponding author: darya.lipnyagova@yandex.ru

Received: 29.05.2020 **Revision Received:** 07.07.2020 **Accepted:** 10.10.2020

For citation: Vorobieva D.A., Lugacheva Yu.G., Kapilevich N.A., Ryabov V.V. Comparative analysis of prothrombotic activity in patients with myocardial infarction with and without obstructive coronary artery disease. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(2):3939. (In Russ.) doi:10.15829/1560-4071-2021-3939

в различных сочетаниях приводят к артериальным тромбам [4].

Наряду с атеротромбозом причин для тромбообразования достаточно много, среди них наследственные и приобретенные нарушения гемостаза. В то же время рутинное определение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла, хоть и оправдано у данной группы больных [1, 3, 4], но наличие их не обязательно означает образование тромба в данный момент времени [3, 5]. Скрининговые исследования наследственных тромбофилий у пациентов с ИМБОКА по данным метаанализа Pasupathy S, et al. выявили их распространенность ~14% [5], причем наиболее часто встречалась мутация Лейдена и дефицит протеина С. По результатам Da Costa A, et al. встречаемость тромботических нарушений составила 19%, из них мутация фактора Лейдена — 12%, дефицит белка С и S, дефицит фактора XII — 3% [6]. Данные о распространенности гипергомоцистеинемии (ГГЦ), повышении уровня фактора Виллебранда (ФВ), дефицита плазминогена и их роль в развитии тромбозов у больных с ИМБОКА представлены единичными исследованиями [7, 8].

Помимо наследственных нарушений в системе гемостаза необходимо также учитывать возможность наличия приобретенных форм тромботических нарушений (антифосфолипидный синдром (АФС),

миелолиферативные заболевания). Известно, что АФС вызывает тромботические нарушения и развитие ОИМ, но данных о связи АФС с ОИМ у пациентов при нестенозирующем атеросклерозе недостаточно. Согласно системному анализу 27 статей, где анализировали пациентов с АФС и ОИМ, учеными сделан вывод, что АФС следует рассматривать у пациентов при нормальных коронарных артериях или коронарных тромбозах [9]. В небольшом исследовании, где было включено 40 пациентов с ОИМ и АФС, у 20% больных был выявлен ОИМ без обструктивного атеросклероза [10]. Изучение этих нарушений у пациентов ИМБОКА представлено единичными данными, а сравнение с пациентами с ОИМ и обструктивным атеросклерозом не проводилось. Обнаружение этих тромботических расстройств может оправдывать их обычную оценку у пациентов с ИМБОКА, т.к. механизмы, лежащие в основе развития ОИМ при приобретенных формах нарушения гемостаза, изучены недостаточно.

Учитывая противоречивые данные о наследственных и приобретенных тромботических нарушениях у пациентов ИМБОКА, а также то, что больные имеют атеросклероз, как и пациенты со стенозирующим атеросклерозом, важно знать, сопоставима ли тромботическая активность крови у пациентов ИМБОКА и больных с обструктивным атеросклерозом (ИМОКА). Если она сопоставима, то можно ли переносить принципы лечения антитромботической терапией пациентов с ИМОКА на пациентов ИМБОКА, т.к. проспективных исследований, посвященных лечению пациентов ИМБОКА, не проводилось. В свою очередь, рекомендации по диагностике и лечению острого коронарного синдрома у пациентов ИМБОКА не дают четкого плана обследования для определения лабораторных и генетических маркеров, которые смогут выявить тромботические нарушения, а также повлиять на риск развития повторного ОИМ [2].

Цель исследования: сравнить показатели протромботической активности крови у пациентов с ИМБОКА и ИМОКА.

Материал и методы

Выполнено нерандомизированное открытое контролируемое исследование, которое зарегистрировано на ClinicalTrials.gov под номером NCT03572023. Исследование разрешено локальным этическим комитетом НИИ кардиологии Томского НИМЦ, протокол № 164 от 23.11.2017г. Все пациенты, последовательно поступающие и включенные в исследование в 2017-2018гг, подписали добровольное информированное согласие.

Критерии включения для основной группы:

1. Пациенты старше 18 лет с признаками острого коронарного синдрома;

2. Умеренный и высокий сердечно-сосудистый риск согласно шкале GRACE;

3. Проведение иКАГ в течение 24 ч от начала заболевания;

4. Необструктивный коронарный атеросклероз по данным иКАГ (интактные коронарные артерии или стеноз <50%);

5. Больные, проживающие в Томской области;

6. Синусовый ритм на электрокардиограмме.

Критерии исключения для основной и контрольной групп: больные, ранее перенесшие эндоваскулярную (стентирование) или хирургическую реваскуляризацию коронарных артерий (коронарное шунтирование).

Всем пациентам была проведена иКАГ по стандартной методике Джадкинса с целью оценки атеросклеротического поражения коронарных артерий. Коронарный кровоток оценивался по градации кровотока коронарных артерий. ЗКК определялся как количество кадров TIMI >27 или TIMI 2 [11].

Гемостазиологическое и гематологическое исследования крови включали определение международного нормализованного отношения, уровня фибриногена, активированного частичного тромбопластинного времени, Д-димера, креатинфосфокиназы-МВ (КФК-МВ), тропонина I, общий анализ крови (гемоглобин, эритроциты, гематокрит, тромбоциты). Образцы крови брали при поступлении, на 2-е, 4-е или 7-е сут. от момента госпитализации. Стандартное эхокардиографическое исследование проводилось на 4-е сут. на ультразвуковой системе VIVID E9 (GE Healthcare).

Из проведенного ранее исследования различий по носительству полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла не выявлено.

Для лабораторной оценки физиологических ингибиторов свертывания крови использовались хромогенные методы. Активность протеина С определялась набором “Реахром-Протеин С”, норма составила 70-130%. Активность антитромбина определялась тест-системой “Хромогенный антитромбин жидкий” (“Helena Biosciences Europe”), норма составила 83-128%. Активность ФВ определялась при помощи тест-системы “Ристоцетин-кофактор”, норма составила 69-116%. Активность плазминогена определялась набором “Реахром-плазминоген”, норма составила 80-135%. Уровень гомоцистеина определялся иммуноферментным методом с помощью диагностических наборов фирмы Axis (Великобритания) по стандартным методикам, за норму приняты показатели 4,1-10,2. Забор образцов крови производился на 4±1 день от момента госпитализации.

Для количественного определения IgG/IgM-антител к кардиолипину с целью диагностики АФС в образцах сыворотки крови использовался иммунофер-

Таблица 1

Клинико-anamnestическая характеристика пациентов

Показатель	ИМБОКА, n=16	ИМОКА, n=21	p-value
Мужчины, n (%)	7 (43,7)	17 (80,9)	0,02
Возраст, Ме (Q25; Q75)	66,0 (54;71)	60 (56;68)	0,33
ГБ, n (%)	13 (81,3)	16 (76,1)	0,71
Дислипидемия, n (%)	14 (87,5)	17 (80,9)	0,89
Ожирение, n (%)	4 (25)	11 (52,3)	0,15
Наследственность*	7 (43,7)	13 (61,9)	0,27
Курение, n (%)	5 (31,3)	11 (52,3)	0,26
Сахарный диабет 2 тип, n (%)	0	4 (19,0)	0,02
СКФ, мл/мин/1,73 м ² , Ме (Q25; Q75)	71,5 (54,0;80,0)	79,0 (65,0;89,0)	0,20
Стенокардия в анамнезе, n (%)	10 (62,5)	6 (28,5)	0,04
Инсульт в анамнезе, n (%)	1 (5,2)	2 (9,5)	0,71
Периферический атеросклероз, n (%)	4 (25)	7 (33,3)	0,58
Время поступления в стационар, мин, Ме (Q25; Q75)	390 (146,5;870)	180 (98;240)	0,02
STEMI, n (%)	10 (62,5)	19 (90,4)	0,01
Риск по шкале GRACE, Ме (Q25; Q75)	2,0 (2,0;3,5)	2,3 (2,0;5,0)	0,26
ТЛТ на ДГЭ, проведена/эффективная	3 (18,7/18,7)	11 (52,3)/7 (33,3)	0,007
ЗКК по данным иКАГ (TIMI II), n (%)	9 (56,3)	1 (4,7)	0,01
ИНЛС ЛЖ**, баллы	1,0 (1,0;1,2)	1,2 (1,2;1,5)	0,04
ФВ ЛЖ, %	60,0 (45,0;60,0)	56,0 (50,0;60,0)	0,51
Острая аневризма верхушки ЛЖ с пристеночным тромбозом	3 (18,7)	0	0,03
Острая аневризмы верхушки ЛЖ	0	2 (9,5)	0,62

Примечание: * — отягощенная наследственность по сердечно-сосудистой патологии, ** — индекс нарушения локального сокращения левого желудочка.

Сокращения: ГБ — гипертоническая болезнь, ДГЭ — догоспитальный этап, ЗКК — замедление коронарного кровотока, иКАГ — инвазивная коронарная ангиография, ИМБОКА — инфаркт миокарда с необструктивным атеросклерозом коронарных артерий, ИМОКА — инфаркт миокарда с обструктивным поражением коронарных артерий, ИНЛС — индекс нарушения локальной сократимости, ЛЖ — левый желудочек, СКФ — скорость клубочковой фильтрации, ТЛТ — тромболитическая терапия, ФВ — фракция выброса, STEMI — инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST.

ментный набор ORGENTEC Anti-Cardiolipin IgG/IgM. Для количественного определения IgG/IgM-антител к β2-гликопротеину с целью диагностики АФС в образцах сыворотки крови использовался иммуноферментный набор ORGENTEC Anti-β2-Glycoprotein I IgG/IgM ELISA. Исследование крови на волчаночный антикоагулянт проводилось с использованием анализатора ACL-Top 700 (Werfen) с реагентами HemosIL SynthASil dRVVT screen/dRVVT confirm и с кварцевым активатором SCT screen/SCT confirm. Сбор образцов крови производился на 4±1 день от момента госпитализации после отмены приема антикоагулянта.

При поступлении все больные получали стандартную терапию острого коронарного синдрома согласно национальным рекомендациям: двойную дезагрегантную терапию (100%) получали пациенты обеих групп, бета-адреноблокаторы — у 14 (87,5%) пациентов с ИМБОКА и 20 (95,2%) пациентов с ИМОКА; ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента — 12 (75,0%) пациентов с ИМБОКА и 20 (95,2%) пациентов с ИМОКА; блокаторы кальциевых каналов получали 7 (36,8%) пациентов с ИМБОКА и 1 (4,7%) пациент с ИМОКА; нефрак-

ционированный гепарин получали 11 (68,7%) пациентов с ИМБОКА и 19 (90,4%) пациентов с ИМОКА, с последующим переводом на низкомолекулярные гепарины. После дообследования пероральные антикоагулянты назначались 3 (18,7%) пациентам с ИМБОКА и 2 (9,5%) пациентам с ИМОКА.

Анализ полученных результатов проводился в программе STATISTICA 10. Проверка гипотезы нормального распределения осуществлялась с помощью теста Шапиро-Уилка. Количественные признаки представлены в виде медианы и квартилей (Ме (Q25; Q75)). Для качественных показателей указывали n (%), где n — абсолютное число, % — относительная величина в процентах. Номинативные данные были проанализированы с использованием критерия χ² Пирсона и двустороннего точного теста Фишера (при ожидаемых частотах <5). В связи с тем, что изучаемые величины не имели согласия с нормальным законом, для оценки различий в независимых выборках использовался непараметрический критерий МаннаУитни. Для оценки корреляции между переменными использовался непараметрический тест Спирмена. Значение p<0,05 рассматривалось как статистически значимое.

Таблица 2

Показатели системы гемостаза

Показатель (норма)	ИМБОКА, n=16	ИМОКА, n=21	p-value
Протеин С, % (70-130)	111,6 (101,9;120,1)	127 (122;132)	0,36
Антитромбин, % (83-128)	101,6 (96,6;110,2)	124 (119;129)	0,86
Фактор Виллебранда, % (69-116)	106,5 (90,0;116,0)	117 (114;121)	0,35
Гомоцистеин, мкмоль/л (4,1-10,2)	12,1 (11,0;14,0)	10,4 (8,7;12,5)	0,03
Плазминоген, % (80-135)	113,1 (101,3;119,8)	122 (115;127)	0,007
Д-димер, н (%) с >250 нг/мл	4 (25)	0	0,02
АТ к кардиолипину, IgG, н (%)	0	0	-
АТ к кардиолипину, IgM, н (%)	2 (25)	2 (9,5)	0,62
АТ к β 2-гликопротеину-I, IgG, н (%)	0	0	-
АТ к β 2-гликопротеину-I, IgM, н (%)	2 (25)	2 (9,5)	0,65
Волчаночный антикоагулянт, н (%)	9 (56,2)	11 (52,3)	0,62

Сокращения: АТ — антитела, ИМБОКА — инфаркт миокарда с неструктуривным атеросклерозом коронарных артерий, ИМОКА — инфаркт миокарда с обструктивным поражением коронарных артерий.

Результаты

В исследование включено 40 пациентов с ИМ с подъемом и без подъема сегмента ST (19 пациентов в основной группе и 21 пациент в группе контроля). Медиана возраста пациентов в основной и контрольной группах составила 66 (54;71) лет и 60 (56;68) лет, соответственно. После проведения дифференциального диагноза из заключительного анализа было исключено 3 (15,7%) пациента, у которых был диагностирован острый миокардит, подтвержденный с помощью магнитно-резонансной томографии сердца и эндомикардиальной биопсии.

По клинико-anamnestическим характеристикам в исследуемых группах выявлены различия по полу, стенокардии в анамнезе, сахарному диабету, времени поступления в стационар, проведению тромболитической терапии на догоспитальном этапе, ЗКК по данным иКАГ, наличию острой аневризмы верхушки левого желудочка с пристеночным тромбозом. Основные клинико-anamnestические характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Согласно полученным данным показателей системы гемостаза выявлено, что у пациентов ИМБОКА определяется статистически более низкий уровень плазминогена ($p=0,007$), а также более высокий уровень гомоцистеина ($p=0,03$). По таким показателям, как протеин С, антитромбин, ФВ различий между группами не выявлено, $p<0,05$. При этом дефицит протеина С выявлен у 2 (12,5%) пациентов ИМБОКА и у 1 (5,3%) пациента в группе контроля. Дефицит антитромбина определен у 2 (12,5%) пациентов ИМБОКА и у 2 (9,5%) пациентов с ИМОКА. Повышение уровня ФВ обнаружено у 6 (37,5%) пациентов в основной группе и у 7 (33,3%) пациентов в группе контроля. Положительный Д-димер определялся у 4 (25%) пациентов с ИМБОКА. Различий по наличию волчаночного антикоагулянта, антител к кардиолипину и β 2-гликопротеину не выявлено,

$p>0,05$. Показатели системы гемостаза представлены в таблице 2.

Согласно полученным лабораторным данным выявлено, что у пациентов ИМБОКА в течение всего периода наблюдения определялись различия в уровне КФК-МВ на 2-е и 4-е сут. от ОИМ, тропонина I на 2-е, 4-е и 7-е сут., ($p<0,05$). Отмечается более высокий уровень тромбоцитов у пациентов с ИМБОКА на 2-е и 4-е сут. ОИМ ($p=0,046$ и $p=0,01$), однако уровень гемоглобина у пациентов ИМБОКА был статистически ниже при поступлении, на 4-е и 7-е сут. ОИМ, ($p=0,02$, $p=0,03$ и $p=0,04$). Лабораторные показатели крови представлены в таблице 3.

При выписке пациенты основной группы были выписаны со следующими диагнозами: 13 (68,4%) пациентов с диагнозом ОИМ, 3 (15,7%) пациента с диагнозом нестабильной стенокардии. В группе контроля при выписке все пациенты имели ОИМ, из них у 1 (4,8%) пациента было выявлено миелопролиферативное заболевание.

В соответствии с полученными данными в основной группе выявлена умеренная корреляция протеина С и антитромбина ($r=0,65$, $p=0,0001$), антитромбина и ФВ ($r=0,54$, $p=0,0001$), между протеином С и уровнем тромбоцитов на 4-е сут. ($r=-0,49$, $p=0,04$). Также обнаружена средней силы отрицательная корреляция между гомоцистеином и плазминогеном ($r=-0,69$, $p=0,002$).

В группе контроля обнаружена сильная корреляция между протеином С и антитромбином ($r=0,96$, $p=0,0001$), средней силы корреляция между протеином С и плазминогеном ($r=0,47$, $p=0,03$). Корреляция между ФВ и уровнем тромбоцитов при поступлении ($r=0,47$, $p=0,03$), на 2-е сут. ($r=0,49$, $p=0,02$), 7-е сут. ($r=0,64$, $p=0,02$). Кроме того, выявлена взаимосвязь между наличием тромбоза по данным иКАГ и уровнем ФВ ($r=0,46$, $p=0,04$) у пациентов ИМОКА, а также между наличием тромбо-

Таблица 3

Лабораторные показатели крови

Показатель (норма)	Сутки	ИМБОКА, n=16	ИМОКА, n=21	p-value
КФК-МВ, ед./л (до 25)	1-е	37 (26,0;79,5)	73,5 (60,1;260,5)	0,54
	2-е	25,7 (13,7;50,0)	173,5 (60,1;260,5)	<0,0001
	4-е	18,9 (12,5;24,3)	36,4 (19,5;59,5)	0,008
	7-е	16,4 (13,7;20,0)	16,4 (11,8;22,1)	0,83
Тропонин I нг/мл (0,00-0,040)	2-е	0,5 (0,11;8,3)	4,9 (1,0;25,2)	0,02
	4-е	0,4 (0,07;1,7)	0,7 (0,5;4,4)	0,04
	7-е	0,08 (0,02;0,2)	0,4 (0,2;0,9)	0,0003
Фибриноген г/л (2,00-4,00)	1-е	3,2 (3,05;3,85)	3,2 (2,9;3,8)	0,29
	2-е	3,4 (2,8;3,9)	3,6 (2,9;3,8)	0,49
	4-е	3,4 (2,9;3,8)	3,6 (3,3;4,0)	0,14
	7-е	3,5 (2,9;4,1)	3,7 (3,4;4,9)	0,29
МНО отн. ед. (0,85-1,15)	1-е	0,9 (0,9;1,1)	0,9 (0,9;1,0)	0,73
	2-е	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (0,9;1,0)	0,20
	4-е	1,0 (1,0;1,0)	1,0 (0,9;1,0)	0,2
	7-е	1,1 (1,0;1,2)	1,0 (0,9;1,1)	0,30
АЧТВ сек (25,0-35,0)	1-е	32,0 (28,8;10,5)	63,4 (36,5;80,8)	0,13
	2-е	30,9 (27,2;34,5)	31,6 (28,9;43,8)	0,39
	4-е	28,5 (26,2;30,3)	30,3 (28,0;33,0)	0,13
	7-е	28,9 (28,2;)	30,0 (27,0;31,6)	0,64
Эритроциты 10E12/л (3,90-4,70)	1-е	4,7 (4,1;5,0)	4,8 (4,6;5,0)	0,28
	2-е	4,5 (4,0;4,9)	4,6 (4,3;4,9)	0,56
	4-е	4,5 (4,0;5,1)	4,6 (4,3;4,9)	0,40
	7-е	4,1 (3,9;4,7)	4,5 (4,3;4,9)	0,04
Гемоглобин, г/л (120,0-140,0)	1-е	135,0 (129,5;144,0)	146,0 (140,0;151,0)	0,02
	2-е	139,0 (127,5;147,0)	145,0 (139,0;148,0)	0,32
	4-е	129,5 (127,5;146,0)	143,0 (138,0;148,0)	0,03
	7-е	129,0 (123,5;145,0)	143,0 (138,0;152,0)	0,04
Гематокрит л/л (0,360-0,420)	1-е	0,4 (0,4;0,43)	0,4 (0,4;0,45)	0,17
	2-е	0,4 (0,4;0,43)	0,4 (0,4;0,45)	0,14
	4-е	0,4 (0,37;0,43)	0,4 (0,4;0,44)	0,30
	7-е	0,39 (0,37;0,43)	0,4 (0,4;0,45)	0,06
Тромбоциты 10E9/л (180-350)	1-е	259,5 (200,8;289,0)	228,0 (193,0;264,0)	0,20
	2-е	244,5 (224;279,5)	212,0 (180,0;240,0)	0,03
	4-е	267,5 (236,5;289,0)	224 (193,0;239,0)	0,01
	7-е	241,5 (212,0;283,0)	224,0 (198,5;261,5)	0,22

Сокращения: АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время, ИМБОКА — инфаркт миокарда с необструктивным атеросклерозом коронарных артерий, ИМОКА — инфаркт миокарда с обструктивным поражением коронарных артерий, КФК-МВ — креатинфосфокиназа-МВ, МНО — международное нормализованное отношение.

за и уровнем фибриногена при поступлении ($r=0,55$, $p=0,008$).

Обсуждение

В настоящем исследовании пациенты с ИМБОКА имеют более старший возраст, меньший профиль факторов риска (ФР), более позднее поступление в стационар, а также менее выраженное повреждение миокарда. Это позволяет предполагать более благоприятное течение ИМ, однако остается неясным, почему при таком благоприятном течении у 3 пациентов с ИМБОКА сформировалась аневризма верхушки с тромбозом, а в группе ИМОКА тромбоза

за верхушки не выявлено. Вероятно, эти пациенты имеют разные механизмы развития ОИМ и формирования тромбоза верхушки левого желудочка. При наличии сопоставимого носительства полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла важно изучить другие показатели тромботической активности, которые смогли бы объяснить эти механизмы.

При дефиците антитромбина и протеина С возникает увеличение генерация тромбина и повышенная тромбогенность. Эти показатели увеличивает риск развития венозных тромбозов, но о связи с артериальными тромбозами данные ограничены [12].

В проспективном исследовании у пациентов с ОИМ в возрасте до 45 лет изучали данные показатели, а также фактор V Лейдена, метилентетрагидрофолатредуктазы и ФР ишемической болезни сердца (ИБС). Был сделан вывод, что только ФР ИБС повышают риск развития ОИМ [13]. В противоположность этим данным, дефицит антитромбина увеличивает риск ОИМ в испанском исследовании в 5,6 раза, но не оказывает влияния на развитие ОИМ у населения Китая [14]. В проведенном нами исследовании дефицит протеина С и антитромбина выявлен у 12,5% с ИМБОКА, что сопоставимо с группой контроля. Эти результаты выше, чем по результатам Pasupathy S, et al., где дефицит этого показателя выявлен у 8% пациентов [1] и ниже, чем по результатам Da Costa A, et al., где дефицит этих показателей выявлен в 15% случаев [2]. Расхождения между этими данными могут быть объяснены различиями в распространенности среди населения в зависимости от этнической принадлежности, различиями в критериях включения, вариациями в методах дозирования или в зависимости от времени забора проб. Однако во всех этих исследованиях в сравнении с обструктивным атеросклерозом, как и в нашем исследовании, различий в уровне дефицита протеина С, антитромбина не выявлено.

Помимо вышеизложенных наследственных нарушений естественных антикоагулянтов следует учитывать и другие факторы, способствующие тромбообразованию, такие как ГГЦ, повышенная вязкость крови, эндотелиальная дисфункция. При сравнении уровня гомоцистеина в исследуемых группах выявлено, что он повышен у пациентов ИМБОКА, ($p=0,03$). По данным метаанализов у пациентов с ГГЦ риск смерти от сердечно-сосудистых причин выше в 1,7 раза, а от ОИМ — в 3,4 раза в сравнении со здоровыми лицами [15]. Согласно результатам других исследований у пациентов с ОИМ и ГГЦ выявлена ассоциация с ранним ОИМ и повышенным риском тромбообразования [16]. Под действием ГГЦ происходит ингибирование тромбомодулин-тромбинового взаимодействия, снижается активация протеина С, нарушается превращение плазминогена в плазмин, что, в свою очередь, ведет к снижению фибринолитической активности [8]. Эти данные подтверждаются выявленной в нашем исследовании отрицательной корреляцией между гомоцистеином и плазминогеном.

Нарушение эндотелиальной функции является еще одним фактором для повышенного тромбообразования, которое возникает в результате ГГЦ или других причин [17]. В результате эндотелиальной дисфункции происходит снижение устойчивости к тромбозу из-за уменьшения доступности оксида азота, повышение агрегации тромбоцитов и образование коронарного тромба без обструкции коро-

нарных артерий [18]. В клинической практике эндотелиальная дисфункция может приводить к ЗКК по данным иКАГ. В нашем исследовании у 9 (47,3%) пациентов определялось ЗКК, что выше, чем в группе контроля ($p=0,01$), что говорит об еще одном факторе для тромбообразования у пациентов ИМБОКА независимо от наличия наследственных тромбофилий [19].

Другим маркером дисфункции эндотелия является ФВ, который выделяется при повреждении эндотелия. Этот фактор поддерживает адгезию тромбоцитов к субэндотелиальному матриксу поврежденных стенок сосудов, усиливает агрегацию тромбоцитов и способствует образованию фибринового сгустка. Увеличение этого показателя рассматривается как один из ФР развития ОИМ при стенозирующем атеросклерозе коронарных артерий [20]. Эти данные согласуются с более высоким уровнем ФВ в группе ИМОКА ($p<0,001$) (табл. 2). Данные о повышении этого показателя у пациентов с ИМБОКА представлены отдельными литературными источниками [7]. В нашем исследовании повышение уровня ФВ выявлено у 6 пациентов ИМБОКА (37,5%) и у 7 (33,3%) пациентов группы контроля. Обнаруженная нами взаимосвязь между наличием тромбоза и ФВ в группе контроля еще раз подтверждает, что увеличение ФВ влияет на развитие ОИМ.

Также у пациентов с ИМБОКА чаще был выявлен положительный Д-димер, который является продуктом фибринолиза и высокочувствительным маркером тромбозов, преимущественно, венозных. Однако имеются данные, что Д-димер может свидетельствовать о высоком риске ОИМ у больных с сердечно-сосудистой патологией и является предиктором неблагоприятных исходов у пациентов с ИБС и инсультами [21], но судить о прогностической значимости на небольшой выборке больных сложно, поэтому требуется выборка большей мощности.

По результатам исследования антител АФС и волчаночного антикоагулянта различий между группами в нашем исследовании не выявлено, при этом целью было провести скрининг для дальнейшего дообследования этих пациентов. Полагают, что в основе развития ОИМ у пациентов с АФС лежит нарушение эндотелиальной функции с последующим каскадом нарушения коагуляции, как и при ГГЦ [4]. Согласно литературным данным у пациентов моложе 50 лет с ОИМ частота выявления антител АФС составила 18% из 85 пациентов [22], в другом исследовании — у 20% пациентов с ОИМ и АФС был выявлен ОИМ без обструктивного атеросклероза [10]. Эти данные подтверждаются другим исследованием, в котором проводился скрининг на АФС у пациентов с ИМБОКА в сравнении с пациентами с криптогенным инсультом и у пациентов ИМБОКА чаще выявлялся АФС [23]. Это вероятно связано с более

высокой частотой встречаемости ИМБОКА у пациентов с АФС, чем без данного заболевания в общей популяции, что акцентирует внимание о важности выявления АФС у этой группы больных. Для того, чтобы оценить роль АФС у пациентов с ИМБОКА, требуется повторное исследование на антитела, проведение исследований большей мощности, т.к. редкая встречаемость приобретенных тромботических нарушений скорее связана с недостаточной диагностикой у этой группы больных.

Повышение уровня тромбоцитов у пациентов с ИМБОКА на 2-е и 4-е сут. раннего постинфарктного периода в сравнении с группой контроля связано с активной выработкой провоспалительных цитокинов на фоне нестенозирующего атеросклероза и эндотелиальной дисфункции, которые активируют тромбоциты [24, 25]. Различия в уровне гемоглобина связаны с половыми различиями, т.к. в группе контроля чаще встречались мужчины. Различий по данным коагулограммы выявлено не было.

Исходя из полученных данных, где у пациентов основной группы отмечается ГГЦ, эндотелиальная дисфункция, более высокий уровень тромбоцитов на 2-е и 4-е сут. (табл. 3), отрицательная взаимосвязь между протеином С и уровнем тромбоцитов на 4-е сут. ($r=-0,49$, $p=0,04$), взаимосвязь между гомоцистеином и плазминогеном ($r=-0,69$, $p=0,002$), можно говорить о повышенном риске тромбообразования у пациентов с ИМБОКА, что, в свою очередь, способствует развитию коронарного тромбоза при равной частоте встречаемости полиморфных вариантов генов системы гемостаза и фолатного цикла.

Полученные результаты протромботической активности у пациентов ИМБОКА в нашем исследовании, вероятно, связаны с более жесткими критериями включения, чем в ранее проведенных исследованиях. Несмотря на небольшую выборку больных, такие показатели, как гомоцистеин, плазминоген, антитела

на АФС и волчаночный антикоагулянт, по нашему мнению, могут играть важную роль в развитии ОИМ у данной группы больных. Поэтому их следует рассмотреть в качестве еще одних параметров, которые могут быть включены в протокол обследования так же, как и определение полиморфных вариантов генов системы гемостаза и ферментов фолатного цикла. Для разработки диагностической панели необходимо проведение исследования большей мощности.

Заключение

По результатам исследования у пациентов с ИМБОКА и ИМОКА выявлены различия показателей тромботической активности сыворотки крови. Определяется более высокий уровень гомоцистеина и более низкий уровень плазминогена у пациентов с ИМБОКА. По таким показателям, как протеин С, антитромбин, ФВ, наличие антител на АФС различий между группами не определено. Согласно лабораторным данным у пациентов с ИМБОКА выявлены более высокие уровни тромбоцитов и форменных микроэлементов крови, но более низкий уровень гемоглобина в раннем постинфарктном периоде.

Благодарности. Хотелось бы выразить благодарность заведующему отделением неотложной кардиологии Демьянову С.В., заведующей лабораторией клинической лабораторной диагностики Кулагину И.В., анестезиологам-реаниматологам группы реанимации и интенсивной терапии отделения неотложной кардиологии за участие в лечении пациентов, включенных в анализ: Пантелееву О.О., Столярову В.А., Панасюк С.С., Шароварникову С.И., Аникину Д.Ю., Филиппову А.Ю., Слободянскому В.Ю., Корниенко Б.М., Свиридову Н.Ю., Оюнарову Э.О., Кирилину В.В., Невдаху А.Е.

Отношения и деятельность. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-315-90106.

Литература/References

1. Spronk HMH, Padro T, Siland JE, et al. Atherothrombosis and Thromboembolism: Position Paper from the Second Maastricht Consensus Conference on Thrombosis. *Thromb Haemost.* 2018;118(2):229-50. doi:10.1160/TH17-07-0492.
2. Pustjens TFS, Appelman Y, Damman P, et al. Guidelines for the Management of Myocardial infarction/injury With Non-Obstructive Coronary Arteries (MINOCA): A Position Paper From the Dutch ACS Working Group. *Neth Heart J.* 2020;28(3):116-30. doi:10.1007/s12471-019-01344-6.
3. Momot AP. The problem of thrombophilia in clinical practice. *Russian Journal of Children Hematology and Oncology.* 2015;2(1):36-48. (In Russ.) Момот А.П. Проблема тромбофилии в клинической практике. *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* 2015;2(1):36-48. doi:10.17650/2311-1267-2015-1-36-48.
4. Prediman K. Shah Thrombotic risk factors for atherothrombosis. *Rev. Cardiovasc Med.* Winter. 2006;7(1):10-6.
5. Pasupathy S, Air TM, Dreyer RP, et al. Systematic Review of Patients Presenting With Suspected Myocardial Infarction and Nonobstructive Coronary Arteries. *Circulation.* 2015;131(10):861-70. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.114.011201.
6. Da Costa A, Tardy B, Haouchette K, et al. Long term prognosis of patients with myocardial infarction and normal coronary angiography: impact of inherited coagulation disorders. *Thromb Haemost.* 2004;91(2):388-93.
7. Fedorova SB, Kulagina IV, Ryabov VV. Hemostatic Gene Polymorphisms in Acute Coronary Syndrome with Nonobstructive Coronary Atherosclerosis. *Kardiologija.* 2019;59(10):14-22. (In Russ.) Федорова С.Б., Кулагина И.В., Рябов В.В. Полиморфизмы генов факторов системы гемостаза у пациентов с невыраженными изменениями коронарных артерий при остром коронарном синдроме. *Кардиология.* 2019;59(10):14-22.
8. Ryabov VV, Gomboeva SB, Lugacheva YuD, et al. Unfavorable variants of folate metabolism genes in patients with acute coronary syndrome in non-obstructive coronary atherosclerosis. *Russian Journal of Cardiology.* 2018;23(10):33-42. (In Russ.) Рябов В.В., Гомбоева С.Б., Лугачева Ю.Г. и др. Неблагоприятные варианты генов метаболизма фолатов у пациентов с острым коронарным синдромом при необструктивном коронарном атеросклерозе. *Российский кардиологический журнал.* 2018;23(10):33-42. doi:10.15829/1560-4071-2018-10-33-42.
9. Nazir S, Tachamo N, Lohani S, et al. Acute myocardial infarction and antiphospholipid antibody syndrome: a systematic review. *Coron Artery Dis.* 2017;28(4):332-5. doi:10.1097/MCA.0000000000000476.
10. Gandhi H, Ahmed N, Spevack DM. Prevalence of Myocardial Infarction With Non-Obstructive Coronary Arteries (MINOCA) Amongst Acute Coronary Syndrome in Patients With Antiphospholipid Syndrome. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2019;22:148-9. doi:10.1016/j.ijcha.2018.12.015.
11. Sharif-Yakan A, Divchev D, Trautwein U, Nienaber ChA. The coronary slow flow phenomena or "cardiac syndrome Y": Reviews in Vascular Medicine. 2014;2(4):118-22. doi:10.1016/j.rvm.2014.07.001.

12. Boekholdt S, Kramer M. Arterial Thrombosis and the Role of Thrombophilia. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 2007;33(6):588-96. doi:10.1055/s-2007-985755.
13. Celik M, Altintas A, Celik Y, et al. Thrombophilia in young patients with acute myocardial infarction. *Saudi Med J*. 2008;29(1):48-54.
14. Roldán V, Ordoñez A, Marín F, et al. Antithrombin Cambridge II (A384S) supports a role for antithrombin deficiency in arterial thrombosis. *Thromb Haemost*. 2009;101(3):483-6.
15. Yang B, Fan S, Zhi X, et al. Prevalence of Hyperhomocysteinemia in China: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2015;7:74-90. doi:10.3390/nu7010074.
16. Ma Y, Li L, Geng XB, et al. Correlation Between Hyperhomocysteinemia and Outcomes of Patients With Acute Myocardial Infarction. *Am J Ther*. 2016;23(6):e1464-e1468. doi:10.1097/MJT.0000000000000130.
17. Huynh DTN, Heo KS. Therapeutic targets for endothelial dysfunction in vascular diseases. *Arch Pharm Res*. 2019;42(10):848-61. doi:10.1007/s12272-019-01180-7.
18. Fefelova EV, Tereshkov PP, Isakova NV, et al. Some ways of hypercoagulation development in ischemic heart disease patients. *ENI Trans-Baikal Medical Bulletin*. 2019;2:90-8. (In Russ.) Фефелова Е. В., Терешков П. П., Исакова Н. В. и др. Роль гипергомоцистеинемии в механизмах развития гиперкоагуляции у больных ИБС. *ЭНИ Забайкальский медицинский вестник*. 2019;2:90-8.
19. Demirci E, Çelik O, Kalçık M, et al. Evaluation of homocystein and asymmetric dimethyl arginine levels in patients with coronary slow flow phenomenon. *Interv Med Appl Sci*. 2019;11(2):89-94. doi:10.1556/1646.11.2019.07.
20. Wang X, Zhao J, Zhang Y, et al. Kinetics of plasma von Willebrand factor in acute myocardial infarction patients: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(52):90371-9. doi:10.18632/oncotarget.20091.
21. Dobrovolsky AB, Titaeva EV. Screening of clotting system disorders by laboratory tests. *Russ J Cardiol*. 2015;(3):52-7. (In Russ.) Добровольский А. Б., Титаева Е. В. Лабораторная диагностика нарушений системы гемостаза — скрининговые тесты. *Российский кардиологический журнал*. 2015;(3):52-7. doi:10.15829/1560-4071-2015-03-52-57.
22. Svenungsson E, Antovic A. The antiphospholipid syndrome — often overlooked cause of vascular occlusions? *J Intern Med*. 2020;287(4):349-72. doi:10.1111/joim.13022.
23. Stepień K, Nowak K, Wypasek E, et al. High prevalence of inherited thrombophilia and antiphospholipid syndrome in myocardial infarction with non-obstructive coronary arteries: Comparison with cryptogenic stroke Comparative Study. *Int J Cardiol*. 2019;290:1-6. doi:10.1016/j.ijcard.2019.05.037.
24. Szmítko PE, Wang Ch-H, Weise RD, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation*. 2003;108(16):1917-23. doi:10.1161/01.CIR.0000089190.95415.9F.
25. Hjort M, Eggers KM, Lindhagen L, et al. Increased Inflammatory Activity in Patients 3 Months after Myocardial Infarction with Nonobstructive Coronary Arteries. *Clin Chem*. 2019;65(8):1023-30. doi:10.1373/clinchem.2018.301085.