

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА — СКРИНИНГОВЫЕ ТЕСТЫ

Добровольский А. Б., Титаева Е. В.

В обзоре обсуждается диагностическая значимость основных скрининговых коагулологических тестов в свете современных представлений о роли компонентов стенки сосудов, белков плазмы и клеток крови в динамике образования тромбина и регуляции его активностей.

Российский кардиологический журнал 2015, 3 (119): 52–57

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-03-52-57>

Ключевые слова: образование тромбина, коагулологические тесты, тромбозы, кровотечения.

ФГБУ Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ РФ, Москва, Россия.

Добровольский А. Б.* — д.б.н., профессор, в.н.с. лаборатории клинических проблем атеротромбоза, Титаева Е. В. — к.б.н., с.н.с. лаборатории клинических проблем атеротромбоза.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
abdobrovolsky@inbox.ru

ТФ — тканевый фактор, АЧТВ — активированное частичное тромбопластиновое время, ПТ-тест — протромбиновый тест, ИПТФ — ингибитор пути тканевого фактора, ЭРПС — эндотелиальный рецептор протеина С, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ДВС — диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови, ВТЭ — венозный тромбозмоллизм.

Рукопись получена 18.02.2015

Рецензия получена 02.03.2015

Принята к публикации 09.03.2015

SCREENING OF CLOTTING SYSTEM DISORDERS BY LABORATORY TESTS

Dobrovolsky A. B., Titaeva E. V.

The review takes into consideration the diagnostic significance of the main screening coagulologic tests under the light of modern views on the role of vessel wall, plasma proteins and blood cells in the dynamics of thrombin formation and its activities regulation.

Russ J Cardiol 2015, 3 (119): 52–57

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-03-52-57>

Key words: thrombin formation, coagulologic tests, thrombosis, bleedings.

FSBI Russian Cardiological Scientific-Production Complex of HM RF, Moscow, Russia.

Система гемостаза обеспечивает сохранение жидкого состояния крови в пределах кровеносных сосудов, быстрое образование локальных тромбов в зоне повреждения стенки сосуда и их растворение после восстановления поврежденной области. Традиционно процесс гемостаза было принято подразделять на последовательные и дополняющие друг друга этапы: локальная вазоконстрикция и образование тромбоцитарной пробки (первичный гемостаз), активация образования тромбина, завершающаяся формированием фибрина, стабилизирующего тромбоцитарные агрегаты и составляющего структурную основу тромба (вторичный гемостаз), и, наконец, растворение тромбов (фибринолиз), обеспечивающее восстановления кровотока после регенерации стенки сосуда. Основанием для выделения отдельных этапов служило то, что в условиях *in vitro* каждый из них можно моделировать независимо от других. Однако в действительности перечисленные этапы тесно взаимосвязаны, *in vivo* протекают скорее параллельно, чем последовательно и во многом регулируются одним ферментом — тромбином.

Образование тромбина

Представление о наличии 2-х альтернативных путей активации свертывания крови: “внутреннего”,

инициирующегося при контакте крови с чужеродной поверхностью (стекло, каолин) и “внешнего”, инициатором которого является тканевой фактор (ТФ), содержащийся в стенке сосуда, сформировалось в середине 60-х годов прошлого века. Оно хорошо согласовалось с данными о влиянии дефицита того или иного фактора свертывания на скорость образования фибрина в одном из 2-х скрининговых тестов — активированном частичном тромбопластиновом времени (АЧТВ) или протромбиновом тесте (ПТ-тест) и легло в основу относительно простого алгоритма выявления дефектного звена в системе свертывания крови, который используется до настоящего времени. Однако эта схема не позволяла объяснить почему дефицит фактора XII не связан с повышенной кровоточивостью, в то время как дефицит факторов VIII и IX (гемофилии А или В), находящихся ниже в каскаде свертывания, проявляется в виде тяжелых геморрагий.

Объяснить эти факты удалось благодаря исследованиям, выполненным в 80-90-е годы прошлого века, которые показали, что:

1) комплекс ТФ-фактор VIIa — “теназа внешнего пути” активирует не только фактор X, но и фактор IX;

2) комплекс факторов VIIa и IXa — “теназа внутреннего пути” активирует фактор X со скоростью в 50-100 раз большей, чем “теназа внешнего пути”;

3) фактор XI может активироваться тромбином при участии гликопротеина Iba тромбоцитов или полифосфатов.

Эти данные послужили основанием для внесения существенных модификаций в схему реакций активации свертывания крови (рис. 1). Основным физиологическим активатором свертывания крови является тканевый фактор (ТФ), который постоянно экспрессируется клетками стенки сосудов (гладкомышечные клетки, фибробласты), которые в норме с кровью не контактируют. Повреждение эндотелия открывает доступ плазменных факторов свертывания к этим клеткам. Связывание фактора VIIa с ТФ инициирует активацию факторов VII, IX и X. Образующийся фактор Xa может на мембранах этих клеток активировать протромбин, хотя и с низкой скоростью. Тромбин, образующийся в результате этих реакций, далее значительно усиливает свое образование, активируя тромбоциты, факторы V и VIII, а затем и фактор XI.

Тромбоциты играют очень важную роль в усилении образования тромбина *in vivo*. Во-первых, благодаря способности к адгезии и наличию множественных механизмов активации эти клетки скапливаются в области повреждения сосуда. Во-вторых, обладая участками специфического связывания факторов свертывания и экспрессируя при активации прокоагулянтные фосфолипиды, они обеспечивают оптимальные условия для образования “теназного” (факторы VIIa-IXa+X) и “протромбиназного” (факторы Va-Xa+протромбин) комплексов, в которых активация фактора X и протромбина протекает в тысячи раз быстрее, чем в растворе.

Следствием такой последовательности реакций является наличие двух фаз в образовании тромбина — инициации и распространения (тромбиновой вспышки). Причем эти фазы обеспечиваются разными факторами, протекают на разных клетках и регулируются разными ингибиторами. Инициация образования тромбина происходит в результате тех реакций, которые по классической схеме относятся к “внешнему” пути, а фаза распространения обеспечивается реакциями “внутреннего” пути активации свертывания крови. Существенным дополнением классической схемы является то, что ключевая роль в активации реакций “внутреннего” пути принадлежит тромбину. Причем усилить свое образование тромбин может только в области повреждения стенки сосудов. Обеспечивается это системой противосвертывания, компоненты которой контролируют образование и активность тромбина на нескольких уровнях.

Реакции инициации образования тромбина (“внешнего” пути) блокируются ингибитором пути тканевого фактора (ИПТФ). Ингибирование протекает в две стадии. На первой ИПТФ образует обратимый комплекс с фактором Xa, который затем связывается с комплексом фактор VIIa-ТФ, что приводит к значительному повышению прочности взаимодействия ингибиторных доменов ИПТФ с активными центрами факторов Xa и VIIa. Недавно показано, что протеин S, который до последнего времени рассматривался как компонент системы протеина С, на порядок повышает эффективность связывания ИПТФ с факторами Xa и VIIa.

Реакции усиления образования тромбина (“внутреннего” пути) контролируются антитромбином (приставка III в настоящее время не используется)

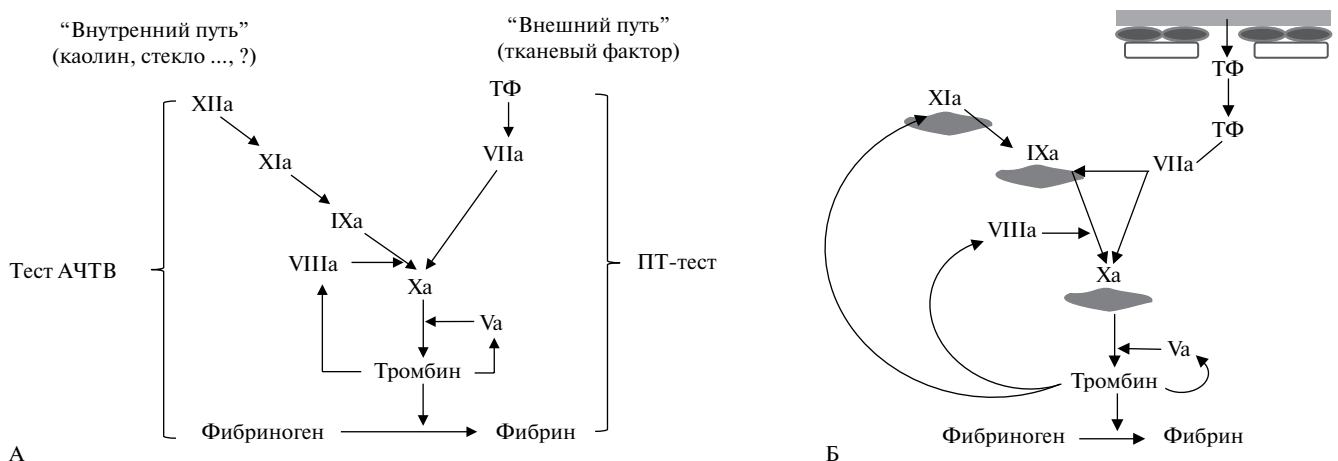


Рис. 1. А — классическая схема системы свертывания крови, описывающая последовательность реакций активации факторов, происходящих при контакте крови с отрицательно заряженной поверхностью (“внутренний” путь, тест АЧТВ), или при добавлении избытка тканевого фактора (“внешний” путь, протромбиновый тест).

Б — клеточная модель активации свертывания крови. Пусковой реакцией является связывание ТФ с фактором VIIa. Этот комплекс активирует факторы IX и X. Образующийся фактор Xa обеспечивает начальную генерацию тромбина, который активирует тромбоциты и часть факторов V и VIII. Фактор VIIIa формирует на поверхности активированных тромбоцитов комплекс с фактором IXa — “теназу внутреннего пути”, которая значительно повышает скорость образования фактора Xa и тромбина. Тромбин далее усиливает свое образование, активируя факторы V, VIII и XI.

и системой протеина С. Антитромбин ингибирует протеазы системы свертывания, образуя с ними ковалентный комплекс. Скорость ингибирования повышается в тысячи раз в присутствии сульфатированных олигосахаридов, одним из которых является гепарин. Молекулы гепарина, содержащие более 18 звеньев, могут еще на порядок повышать скорость ингибирования, выполняя роль матрицы, обеспечивающей эффективное взаимодействие протеазы с ингибитором. Эффект матрицы проявляется в случае ингибирования тромбина и факторов IXa и XIa, но не фактора Xa, который с гепарином не связывается. В кровеносных сосудах активация антитромбина обеспечивается гликопротеидами люминальной поверхности эндотелия, содержащими гепарансульфат.

Эндотелий сосудов не только инактивирует тромбин, но и может с помощью тромбина прерывать каскад коагуляции. Осуществляется это с помощью системы протеина С, основными компонентами которой являются два циркулирующих в плазме витамин К-зависимых белка — протеины С и S и два компонента мембран эндотелия — тромбомодулин и рецептор протеина С (ЭРПС). Тромбин, вымывающийся из зоны тромбообразования, при контакте с неповрежденным эндотелием связывается с тромбомодулином. Это связывание изменяет субстратную специфичность тромбина. Он теряет прокоагулянтные свойства (способность активировать тромбоциты, факторы V и VIII, свертывать фибриноген), но приобретает способность активировать связанный с ЭРПС протеин С. Активированный протеин С при участии протеина S расщепляет факторы Va и VIIIa, что приводит к распаду “теназного” и “протромбиназного” комплексов и входившие в их состав протеиназы инактивируются антитромбином. Помимо ингибирования образования тромбина система протеина С участвует в регуляции проницаемости эндотелия, процессов воспаления и экспрессии генов.

От количества образующегося тромбина зависит механическая и протеолитическая стабильность фибрина. С повышением концентрации тромбина увеличивается степень ветвления протофибрилл и плотность их упаковки в 3^д-мерную структуру. Другой механизм стабилизации заключается в активации фактора XIII, который “сшивает” между собой мономеры фибрина и “сшивает” с фибрином ингибиторы фибринолиза — α 2-антиплазмин, ингибитор активаторов плазминогена типа-1 и активируемый тромбином ингибитор фибринолиза. О важной роли тромбина в регуляции протеолитической стабильности фибрина свидетельствует то, что практически все антитромботические препараты, ингибирующие фазу распространения в образовании тромбина, повышают скорость стимулированного тканевым активатором плазминогена лизиса фибрина.

Таким образом, тромбин был открыт как фермент, образующий фибрин — структурную основу тромба и его первым историческим названием было “фибрин-фермент”. Дальнейшие исследования показали, что функции тромбина много шире. Кроме непосредственного участия в процессах свертывания, противосвертывания и фибринолиза тромбин выполняет и ряд других функций — таких, как регуляция проницаемости и тонуса сосудов, пролиферации и миграции клеток, процессов воспаления и регенерации тканей. Разнообразие функций обеспечивается тем, что, помимо активного центра, тромбин обладает участками специфического узнавания многочисленных субстратов и кофакторов, связывание с которыми определяет направленность его действия.

Вышеизложенное представляет собой очень краткое и упрощенное описание системы гемостаза, необходимое для обоснования значимости основных коагулологических тестов, используемых в лабораторной диагностике. Для желающих получить более полное представление о системе гемостаза можем рекомендовать ряд обзоров и специальные выпуски “State of the Art” J Thromb. Haemost., которые находятся в фондах свободного доступа PubMed и ISTH [1-5].

Скрининговые тесты

Коагулологические исследования назначаются с целью определения риска кровотечений и/или тромбозов, диагностики возможных причин геморрагических или тромботических эпизодов, мониторинга течения заболевания и проводимой терапии.

Перечень необходимых анализов, а также последовательность их выполнения (алгоритм диагностики) зависят от цели исследования и предполагаемого диагноза. Особенностью коагулологических исследований является наличие глобальных (скрининговых) тестов, в которых анализируется протекание определенной последовательности реакций активации системы свертывания крови. Нормальные результаты этих тестов свидетельствуют об отсутствии клинически значимых отклонений в содержании факторов свертывания, а патологические позволяют определить направление дальнейших исследований с целью выявления дефективного звена. Глобальными тестами для выявления повышенной активации свертывания крови являются определения маркеров образования фибрина, из которых наиболее информативным оказался Д-димер.

Основными скрининговыми тестами являются:

- протромбиновый тест (ПТ-тест);
- активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ);
- определение фибриногена;
- определение Д-димера.

Измеряемым показателем в ПТ-тесте и АЧТВ является время появления сгустка (фибрина) после добавления избытка активаторов свертывания. Следует отме-

титель, что *in vitro* свертывание фибриногена происходит после активации всего ~5% протромбина (рис. 2). Поэтому в этих тестах определяется только продолжительность начальной фазы образования тромбина [6]. Наиболее частыми причинами удлинения показателей этих тестов является дефицит факторов свертывания, лечение антикоагулянтами, наличие патологических ингибиторов к факторам свертывания или полимеризации фибрина. Дефицит ингибиторов свертывания и другие протромботические изменения в системе гемостаза приводят к увеличению количества образующегося тромбина и в этих тестах не выявляются.

Нормальные результаты ПТ-теста и АЧТВ позволяют с высокой степенью вероятности исключить наличие клинически значимых отклонений всех плазменных факторов свертывания за исключением дефицита фактора XIII и фактора фон Виллебранда, если его аномалия не является причиной дефицита фактора VIII. В случае выявления патологических значений ПТ-теста и АЧТВ у больных, не получающих антикоагулянты, целесообразно в качестве следующего шага в диагностике определения тромбинового или рептилазного времени. Нормальные значения этих тестов будут свидетельствовать о дефиците факторов свертывания или наличии ингибиторов к факторам свертывания, или фосфолипид-зависимых реакций, а патологические — о дисфибриногемии, или наличии ингибиторов полимеризации фибрина.

Необходимость включения определения фибриногена в перечень скрининговых тестов определяется тем, что он является:

- белком острой фазы;
- маркером коагулопатии потребления при развитии синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови [7];
- фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ).

Значимость фибриногена, как фактора риска ССЗ, была установлена во многих исследованиях и подтверждена в мета-анализе, показавшем, что добавление данных по фибриногену к таким классическим факторам как возраст, пол, курение, липиды, артериальное давление и диабет повышает точность прогноза риска ССЗ [8].

Роль фибриногена в развитии сердечно-сосудистых осложнений может быть обусловлена тем, что он в значительной степени определяет вязкость плазмы, участвует в адгезии клеток, агрегации тромбоцитов, проникает в атеросклеротические бляшки, где превращается в фибрин, связывающий тромбин и стимулирующий миграцию и пролиферацию гладкомышечных клеток и моноцитов [9].

Коагулогические факторы риска тромбозов

Тромбозы являются ведущей причиной смертности и инвалидизации населения развитых стран мира.

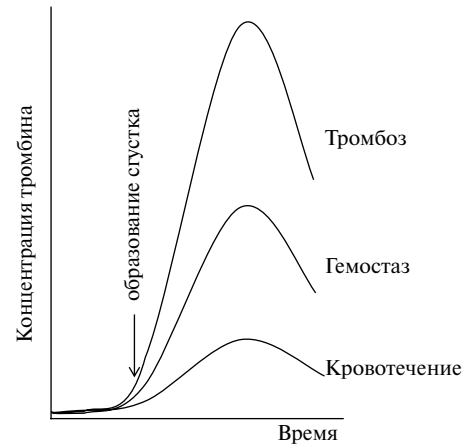


Рис. 2. Динамика образования тромбина при активации системы свертывания крови *in vitro*.

В клоттинговых тестах — ПТ и АЧТВ, в которых регистрируется образование сгустка, определяется только начальная скорость образования тромбина; последняя снижается при дефиците факторов. Дефицит естественных антикоагулянтов и другие протромботические изменения в системе гемостаза проявляются преимущественно в увеличении количества образующегося тромбина.

Тромбы могут формироваться внутри артерий, вен, полостей сердца, а при синдроме диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови (ДВС) — и в капиллярной системе. Три основных фактора, предрасполагающих к образованию тромбов: 1) нарушения тока крови, 2) повреждение стенки сосуда и 3) гиперкоагуляционные изменения крови, были определены Р. Вирховым еще в середине XIX века. Дальнейшие исследования показали, что в зависимости от места образования структура и состав тромбов, а также значимость компонентов триады Р. Вирхова и провоцирующего заболевания в их патогенезе могут существенно различаться. Артериальные тромбы образуются обычно в области поврежденных атеросклеротических бляшек и состоят преимущественно из агрегатов тромбоцитов, скрепленных нитями фибрина. Венозные тромбы могут образовываться в участках без видимых повреждений стенки сосуда, но с замедленной скоростью тока крови и состоят преимущественно из фибрина, эритроцитов и небольшого количества тромбоцитов [10]. Несмотря на различия в составе и структуре венозных и артериальных тромбов их формирование и стабилизация в значительной степени зависит от образования тромбина.

Тромбофилии

Повышенное образование тромбина (гиперкоагуляция) может быть обусловлено как генетическими дефектами (врожденные тромбофилии), так и следствием воздействия неблагоприятных факторов внешней среды и многих заболеваний (приобретенные тромбофилии). Тот факт, что у носителей врожденных тромбофилий первые эпизоды тромбозов выявляются уже в молодом возрасте и нередко при

Таблица 1

Тромбофилии и риск венозных тромбозов (по данным Lijfering et al.) [15]

Тромбофилия		Частота выявления (%)		ОР 1-го эпизода ВТЭ vs популяции	Частота 1-го эпизода ВТЭ (%/год)	Частота повторных ВТЭ (%)
		Популяция	Больные ВТЭ			
Высокий риск	↓ Антитромбин ↓ Протеин С ↓ Протеин S	<0,5%	<5%	15-19	1,5-1,9	2 г. — 19% 5 л. — 40% 10 л. — 55%
Средний риск	фактор V-Лейден протромбин G20210A ↑ фактор VIII	1-15%	5-25%	3-5	0,3-0,5	2 г. — 7% 5 л. — 11% 10 л. — 25%

Таблица 2

Коагулогические факторы риска ИБС [28]

Фактор	ОШ* (95% ДИ)
Фибриноген	1,78 (1,69-1,86)
Протромбин G20120A	1,31 (1,12-1,52)
Фактор V-Лейден (V G1691A)	1,17 (1,08-1,28)
Антиген фактора Виллебранда	1,16 (1,1-1,22)
Д-димер	1,23 (1,16-1,32)
Антиген тАП	1,13 (1,06-1,21)

Примечание: * — на 1 SD, или аллель с поправкой на клинические факторы риска.

отсутствии других провоцирующих факторов свидетельствует о том, что тромбофилии сами по себе повышают риск тромбозов, а их значимость может существенно повышаться при сочетании с другими факторами риска [11-13].

Совершенствование биохимических и генетических методов исследования сделало возможным рутинное определение большого количества тромбофилий. Несомненно, что изучение их патогенетической значимости необходимо для разработки новых методов диагностики и профилактики тромбозов. Однако для практикующего врача решение о целесообразности тестирования на тромбофилии должно зависеть от того, могут ли результаты анализов повлиять на проводимую терапию [14].

К настоящему времени описано большое количество дефектов белков плазмы, мембран клеток крови и стенки сосудов, приводящих к протромботическим изменениям в системе гемостаза. Однако по риску развития тромбозов, степени нарушения функциональной активности компонентов, частоте встречаемости в популяции и уровню доказанности связи с риском тромбозов они значительно различаются.

Носительство тромбофилий в большей степени ассоциируется с повышением риска венозных, чем артериальных тромбозов (табл. 1 и 2). Наиболее опасными тромбофилиями являются снижение активности компонентов системы противосвертывания — антитромбина, протеинов С и S. Гомозиготный дефицит этих белков встречается крайне редко, большинство младенцев погибает от синдрома ДВС

вскоре после рождения. У носителей гетерозиготного дефицита компонентов системы противосвертывания риск венозных тромбозов в 10-20 раз выше, чем в популяции (табл. 1). Однако следует отметить, что абсолютная частота возникновения первого эпизода тромбозов даже у носителей тромбофилий высокого риска не превышает 2% в год, что ниже частоты больших кровотечений при длительной антикоагулянтной терапии [15]. Поэтому само по себе выявление тромбофилии не является достаточным основанием для назначения антикоагулянтной терапии, если клинические признаки тромбозов отсутствуют.

Данные популяционных исследований о связи тромбофилий с риском рецидива тромбозов оказались противоречивыми. В исследовании Lijfering et al. было выявлено значительное увеличение риска повторных тромбозов даже у носителей тромбофилий среднего риска [15], в то время как в двух других исследованиях наличие врожденных тромбофилий ассоциировалось только с риском первого эпизода тромбозов, но не их рецидивов [17, 18].

Маркеры тромбозов

Активация свертывания крови сопровождается изменением структуры компонентов, участвующих в этом процессе. Благодаря значительному прогрессу в методах исследования сегодня, измеряя уровень соответствующих маркеров, можно определять активацию практически любой из реакций системы гемостаза. Наиболее информативными для клинической практики оказались маркеры, отражающие образование фибрина. Одним из них является Д-димер, что неудивительно, т.к. фибрин является важным компонентом, определяющим объем и стабильность тромбов.

Д-димер является высокочувствительным маркером венозных тромбозов. Благодаря разработке экспресс-методов анализа, приближающихся по чувствительности к 100%, определение Д-димера стало первым шагом в алгоритме диагностики ВТЭ. При нормальном уровне Д-димера и невысокой клинической вероятности диагноз исключается, а при повышенном Д-димере больному проводятся дальнейшие исследования. Анализ большого числа наблюдений показал, что вероятность невыявления ВТЭ при

таком подходе достаточно низкая, и определение Д-димера позволяет на ~30% снизить назначение инструментальных исследований для подтверждения диагноза и локализации места образования тромбов [19, 20]. При интерпретации результатов определения Д-димера необходимо учитывать, что при длительности симптомов более 2 недель чувствительность Д-димера как маркера ВТЭ снижается [21, 22].

При высокой чувствительности Д-димера его специфичность как маркера ВТЭ не превышает 50% и снижается при многих заболеваниях. Это обусловлено тем, что свертывание крови повышается с возрастом, у лежащих больных, при травмах, у беременных [23]. Повысить значимость теста для исключения диагноза ВТЭ у пожилых пациентов можно путем определения характерной для возраста “отрезной точки” по формуле: возраст, умноженный на 10 (если результат Д-димера представляется в эквивалентах фибриногена) [24].

Уровень Д-димера является предиктором осложненного течения многих заболеваний. У больных, перенесших ВТЭ, повышенный уровень Д-димера свидетельствует о высоком риске рецидива и целесообразности возобновления антикоагулянтной терапии [25-27]. В проспективных исследованиях Д-димер проявил себя как фактор риска ИБС, инсульта и смерти [28-30]. Тот факт, что Д-димер оказался предиктором неблагоприятных исходов даже в исследованиях, в которых наблюдались практически здоровые лица, свидетельствует о том, что этот маркер позволяет выявить нарушения, предшествующие развитию клинических признаков заболевания. Однако вопрос о том, что можно рекомендовать больным, у которых выявлено повышение Д-димера, но клинические показания для назначения антикоагулянтов отсутствуют, остается пока открытым.

Литература

- Mann KG, Brummel K, Butenas S. What is all that thrombin for? *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1504-14.
- Crawley JTB, Zanardelli S, Chion CKNK, et al. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 95-101.
- Furie B., Furie B.C. Mechanisms of Thrombus Formation. *N Engl J Med* 2008; 359: 938-49.
- Maureen McMichael. New Models of Hemostasis. *Topics in Companion An Med* 27 (2012) 40-45.
- Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, et al. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol Rev* 2013; 93: 327-58.
- Butenas S, Mann KG. Blood coagulation (review). *Biochemistry (Moscow)* 2002; 67: 5-15. Russian (Бутенас С., Манн КГ. Свертывание крови (обзор). *Биохимия* 2002, 67, 5-15).
- Di Nisio M, Baudo F, Cosmi B, et al. on behalf of the Italian Society for Thrombosis and Haemostasis. Diagnosis and treatment of disseminated intravascular coagulation: Guidelines of the Italian Society for Haemostasis and Thrombosis (SISET). *Thromb Res* 2011doi: 10.1016/j.thrombres.2011.08.028.
- Kaptoze S., Di Angelantonio E., Pennells L. The Emerging Risk Factors Collaboration. C-Reactive Protein, Fibrinogen, and Cardiovascular Disease Prediction. *N Engl J Med*. 2012; 367(14): 1310-20.
- Ariens R.A.S. Fibrin(ogen) and thrombotic disease. *J Thromb Haemost* 2013; 11 (Suppl. 1) 294-305.
- Turpie A.G.G., Esmon C. Venous and arterial thrombosis — pathogenesis and the rationale for anticoagulation. *Thromb Haemost* 2011; 105: 586-96.
- Mahmoodi BK, Brouwer JL, Veeger NJ, et al. Hereditary deficiency of protein C or protein S confers increased risk of arterial thromboembolic events at a young age: results from a large family cohort study. *Circulation* 2008; 118: 1659-67.
- Kenet G, Lütthoff LK, Albiseti M, et al. Impact of thrombophilia on risk of arterial stroke or cerebral sinovenous thrombosis in neonates and children: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Circulation* 2010; 121: 1838-47.
- Yilmaza S, Gunaydin S. Inherited risk factors in low-risk venous thromboembolism in patients under 45 years. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2015; 20: 21-3.
- Keeling D. Thrombophilia screening or screaming. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 1191-2.
- Lijfering WM, Brouwer J-LP, Veeger NJGM, et al. Selective testing for thrombophilia in patients with first venous thrombosis: results from a retrospective family cohort study on absolute thrombotic risk for currently known thrombophilic defects in 2479 relatives. *Blood*. 2009; 113: 5314-22.
- Ruff CT, Giugliano RP, Braunwald E. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2013; published online Dec 4. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62343-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62343-0).
- Pabinger I, Vossen CY, Lang J, et al. Mortality and Inherited Thrombophilia: results from the European Prospective Cohort on Thrombophilia (EPCOT). *J Thromb Haemost* 2012; 10: 217-22.
- Christiansen SC, Cannegieter SC, Koster T, et al. Thrombophilia, clinical factors, and recurrent venous thrombotic events. *J Am Med Assoc* 2005; 293: 2352-61.
- Righini M, Perrier A, De Moerloose P, et al. D-Dimer for venous thromboembolism diagnosis: 20 years later. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 1059-71.
- Dobrovolsky AB, Titaeva EV. Haemostatic risk factors of thrombosis and laboratory control of anticoagulant therapy. *Atherothrombosis* 2009; 2 (1): 2-14. Russian (Добровольский А. Б., Титаева Е. В. Коагулогические факторы риска тромбозов и лабораторный контроль антикоагулянтной терапии. *Атеротромбоз*, 2009, 2, 1, 2-14).
- Vorobyeva NM, Panchenko EP, Dobrovolsky AB, et al. Factors associated with D-dimer elevation in patients with venous thromboembolic events. *Russ J Cardiol* 2012; 4(96): 18-24. Russian (Воробьева Н. М., Панченко Е. П., Добровольский А. Б., и др. Факторы, ассоциирующиеся с повышением Д-димера у больных венозными тромбозомболическими осложнениями. *Российский кардиологический журнал* 2012; 4(96): 18-24).
- de Bastos MRD, Bogutchi T, Carneiro-Proietti ABF, et al. Duration of symptoms and D-dimer testing in the ruling-out of venous thromboembolism. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 2079-80.
- Vorobyeva NM, Panchenko EP, Dobrovolsky AB, Titaeva EV. Elevated D-dimer in patients with cardiovascular diseases free from thromboembolic complications: what is it associated with and what has to be done? *Angiology and Vascular Surgery* 2010; 16 (4): 34-42. Russian (Воробьева Н. М., Панченко Е. П., Добровольский А. Б., Титаева Е. В. Повышение Д-димера у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями без тромбозомболических осложнений: с чем это связано и что делать? *Ангиология и сосудистая хирургия* 2010; 16 (4): 34-42).
- Douma RA, Tan M, Schutgens REG, et al. Using an age-dependent D-dimer cut-off value increases the number of older patients in whom deep vein thrombosis can be safely excluded. *Haematologica* 2012; 97(10): 1507-13.
- Palareti G, Cosmi B, Legnani C, et al. for the PROLONG Investigators. D-dimer testing to determine the duration of anticoagulation therapy. *N Engl J Med* 2006; 355: 1780-9.
- Eichinger S, Heinze G, Jandeck LM, et al. Risk Assessment of Recurrence in Patients With Unprovoked Deep Vein Thrombosis or Pulmonary Embolism. The Vienna Prediction Model. *Circulation* 2010; 121: 1630-6.
- Tosetto A, Iorio A, Marcucci M, et al. Predicting disease recurrence in patients with previous unprovoked venous thromboembolism: a proposed prediction score (DASH). *J Thromb Haemost* 2012; 10: 1019-5.
- Lowe G, Rumley A. The relevance of coagulation in cardiovascular disease: what do the biomarkers tell us? *Thromb Haemost* 2014; 112: 860-7.
- Christersson C, Wallentin L, Andersson U, et al. D-dimer and risk of thromboembolic and bleeding events in patients with atrial fibrillation — observations from the ARISTOTLE trial. *J Thromb Haemost*. 2014; 12: 1401-12.
- Castellnuovo A, Agnoli C, de Curtis A, et al. Elevated levels of D-dimers increase the risk of ischaemic and haemorrhagic stroke Findings from the EPICOR Study. *Thromb Haemost* 2014; 112: 941-6.