

**Медицински Университет
„Проф. д-р Параскев Стоянов“-Варна
Факултет по медицина
Първа катедра по вътрешни болести
УС по Кардиология**

Доц. д-р Мария Негринова Негрева, д.м.

**ПАРОКСИЗМАЛНО ПРЕДСЪРДНО МЪЖДЕНЕ -
РАННИ ОТКЛОНЕНИЯ В КОАГУЛАЦИОННА
И ФИБРИНОЛИТИЧНА СИСТЕМА**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на научна степен
„Доктор на науките“

Научна специалност: Кардиология, шифър 03.01.47

Варна, 2022

**Медицински университет
„Проф. д-р Параскев Стоянов“ - Варна
Факултет по медицина
Първа катедра по вътрешни болести
УС по кардиология**

Доц. д-р Мария Негринова Негрева, д.м.

**ПАРОКСИЗМАЛНО ПРЕДСЪРДНО МЪЖДЕНЕ -
РАННИ ОТКЛОНЕНИЯ В КОАГУЛАЦИОННА
И ФИБРИНОЛИТИЧНА СИСТЕМА**

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на научна степен
„Доктор на науките“

Научна специалност: Кардиология, шифър 03.01.47

Официални рецензенти:

проф. д-р Светослав Георгиев, д.м. – Председател на НЖ
проф. д-р Арман Постаджиян, д.м.
проф. д-р Тошко Лисичков, д.м.н.

Варна, 2022

Дисертационният труд съдържа 213 страници и е онагледен с 69 фигури и 24 таблици. Библиографията включва 577 литературни източника, от които 5 на кирилица и 572 на латиница. Проучването е извършено в Първа клиника по кардиология на УМБАЛ „Света Марина“ – Варна.

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита на катедрен съвет на Първа катедрата по вътрешни болести при Медицински Университет „Проф. д-р П. Стоянов“-Варна.

Защитата на дисертационния труд ще се състои на2022г.
от часа в зала
..... на открито заседание на Научното жури. Материалите по защитата са на разположение в библиотеката на Медицински Университет „Проф. д-р П. Стоянов“-Варна.

СЪДЪРЖАНИЕ

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ	5
I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР	7
1. Предсърдно мъждене – епидемиологични данни и тромбоемболичен риск.....	7
2. Оценка на тромбоемболичния риск при предсърдно мъждене. Антикоагулантна профилактика	8
3. Протромбозни промени при предсърдно мъждене - данни от клинични и експериментални проучвания върху коагулационна и фибринолитична система	11
4. Структура и нормално функциониране на коагулационна и фибринолитична система	12
5. Основни изводи от литературния обзор.....	15
II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ПРОУЧВАНЕТО	17
1. ЦЕЛ.....	17
2. ЗАДАЧИ	17
III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ.....	19
1. Дизайн на изследването	19
2. Участници в изследването.....	19
3. Получаване и съхраняване на пробите. Лабораторни методи. Изследвани показатели.....	21
4. Ехокардиографски методи.....	21
5. Статистически анализ – използвани методи	22
IV. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ	23
1. Демографска и клинична характеристика на участниците в изследването	23
2. Отклонения в показатели на коагулационна система	25
3. Отклонения в основни регулатори и показатели на фибринолиза - плазминоген, t-PA, PAI-1, α 2-антиплазмин и витронектин и плазмено ниво на Д-димер	38
4. Адекватност на обема на изследваните групи – анализ на мощността на t-критерий за коагулационни и фибринолитични отклонения	44
5. Тромбоемболична рискова характеристика дефинирана от оценъчен модел CHA ₂ DS ₂ -VASc score – влияние върху коагулационни и фибринолитични показатели	46

6. Зависимост на коагулационни и фибринолитични показатели от продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене	52
7. Моделиране на данни от изследвани хемостазни показатели чрез логистична регресия. Оценка на получените модели чрез ROC анализ ..	67
8. Предиктори за артериален тромбоемболизъм - моделиране на данни от изследвани хемостазни показатели чрез Кокс регресионен модел	75
9. Заключително обсъждане.....	80
V. ИЗВОДИ	87
VI. НАУЧНИ ПРИНОСИ	89
VII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	92
1. Пълнотекстови публикации в реферирани и индексирани списания	92
2. Пълнотекстови статии в нереперирани списания с научно рецензиране .	93
3. Публикувани резюмета от международни конгреси в реферирани и индексирани списания	93
4. Публикувани резюмета от международни конгреси в нереперирани списания с научно рецензиране	94
5. Участия в конгреси, симпозиуми, конференции	94
VIII. ЗАБЕЛЯЗАНИ ЦИТИРАНИЯ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	95
IX. СПРАВКА ЗА ИМПАКТ ФАКТОР.....	97

ЧЕСТО ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

АНА	- Американска сърдечна асоциация
АТ III	- антитромбин III
Acc	- точност
BMI	- индекс на телесна маса
Ca ²⁺	- калциеви йони
F1+2	- протромбинов фрагмент 1+2
FDP	- фибрин деградационни продукти
FM	- фибринови мономери
FPA	- фибринопептид А
FPB	- фибринопептид В
Gp IIb/IIIa	- тромбоцитен гликопротеин IIb/IIIa
HMK	- високомолекулен кининоген
IL-6	- интерлевкин-6
MPV	- среден обем на еритроцити
NT-proBNP	- N-терминален про-натриуретичен пептид тип В
PAI-1	- инхибитор на плазминогенния активатор – 1
PK	- прекаликреин
SD	- стандартно отклонение
SE	- стандартна грешка на средната
Se	- сензитивност
Sp	- специфичност
TAFI	- тромбин активируем инхибитор на фибринолизата
TAT III комплекс	- тромбин-антитромбин III комплекс
TF	- тъканен фактор
TFPI	- инхибитор на пътя на тъканния фактор
TNF α	- тумор-некротизиращ фактор-алфа
t-PA	- тъканен плазминогенен активатор
u-PA	- урокиназен плазминоген активатор
uPAR	- рецептор на урокиназия плазминоген активатор
TnT	- високосензитивен тропонин T
TnI	- високосензитивен тропонин I

I. ЛИТЕРАТУРЕН ОБЗОР

1. Предсърдно мъждене – епидемиологични данни и тромбоемболичен риск

Предсърдното мъждене е най-често диагностицираното ритъмно нарушение в клиничната практика. Данни от епидемиологични изследвания показват почти удвоена честота на заболяването за период от десет години, достигаща до 3% от цялата популация над 20 годишна възраст (Krijthe et al., 2013; Benjamin et al., 2019). Тревожни са както настоящите епидемиологични данни за заболяването, така и прогнозираните за следващите няколко десетилетия. Очаква се в Европа броят на засегнатите от ритъмното нарушение през 2060 год. да надмине 17 милиона души, а на новодиагностицираните случаи - до 215 хиляди годишно (Krijthe et al., 2013). Същата неблагоприятна тенденция се предвижда и в Световен мащаб (Zulkifly et al., 2018).

Основен клиничен проблем при заболяването са тромбоемболичните инциденти - мозъчносъдови и периферни артериални (Pasciaroni et al., 2019). Рискът от инсулт при предсърдно мъждене, макар и коригиран спрямо възрастта, е пет пъти по-висок сравнено с популацията без аритмия (Friberg et al., 2010). В Световен мащаб 20% до 30% от всички инсулти се реализират в условия на предсърдно мъждене (Cha et al., 2014). Екстракраниалните системни емболични инциденти са по-редки, но смъртността при тях до тридесетия ден достига 25% (Wolf et al., 1991).

Най-често използваната клинична класификация на заболяването е базирана на продължителността на епизодите и тяхната времева характеристика (3P-AF класифициране) (Hindricks et al., 2021):

1. *диагностицирано за първи път предсърдно мъждене*, независимо от продължителността на аритмията или наличието/тежестта на симптоматиката;
2. *пароксизмално предсърдно мъждене* – предсърдно мъждене прекратено спонтанно или следствие на интервенция в рамките на 7 дни от началото;
3. *персистиращо предсърдно мъждене* – предсърдно мъждене с продължителност повече от седем дни, вкл. епизодите прекратени чрез кардиоверсия (фармакологично или електрическо) след ≥ 7 дни;
4. *продължително персистиращо предсърдно мъждене* – предсърдно мъждене с продължителност > 12 месеца и взето решение за възстановяване на синусов ритъм;

5. **перманентно предсърдно мъждене** – предсърдно мъждене с приета терапевтична стратегия за контрол на сърдечната честота.

Пароксизмалното предсърдното мъждене представлява не малка част от всички регистрирани случаи на заболяването – около 30% (Zoni-Berisso et al., 2014). Счита се, че действителното му разпространение е много по-значимо от установяваното, поради често асимптомното протичане. В някои проучвания честотата му достига до 2.5% от общата изследвана популация (Primo et al., 2017). Въпреки кратките епизоди и често леката клинична изява, честотата на тромбоемболични усложнения при него е не само значима, но и определяща за смъртността и инвалидизацията при заболяването като цяло (Chen et al., 2015; Christensen et al., 2014; Nieuwlaat et al., 2008). Пароксизмалното предсърдно мъждене е една от основните причини за остър исхемичен мозъчен инсулт. Всеки пети исхемичен инсулт се асоциира със заболяването (Wohlfahrt et al., 2014). В някои проучвания дори по-често - всеки трети (Arauz et al., 2019).

Представените епидемиологични данни относно пароксизмалното предсърдно не само, че не позволяват то да бъде подценявано поради кратката продължителност на епизодите, но подчертават социалната му и клинична значимост. Нещо повече, те налагат прецизна оценка на тромбоемболичния риск и тромбопрофилактиката при пароксизмално предсърдно мъждене, като същевременно показват необходимост от надеждната му предикция.

2. Оценка на тромбоемболичния риск при предсърдно мъждене. Антикоагулантна профилактика

2.1. Клиничен подход в дългосрочен план

Тромбоемболичният риск в дългосрочен план и продължителната тромбопрофилактика при пароксизмално предсърдно мъждене, така както при останалите форми, са дефинирани като функция пряко и основно от рисковата характеристика на пациента и са определени като независими от времевия модел предсърдно мъждене. *CHA₂DS₂-VASc score* остава най-често използваната стратифицираща скала за оценка на дългосрочния тромбоемболичен риск и необходимостта от продължителна антикоагулантна терапия (L. Chen et al., 2018; Hindricks et al., 2021) (Таблица 2). Въз основа на нея се дефинират нискорисковите пациенти, за които не е необходимо лечение с антикоагулант в дългосрочен план – това

са мъже с CHA₂DS₂-VASc score = 0 и жени с CHA₂DS₂-VASc score = 1.

Таблица 2. Компоненти на CHA₂DS₂-VASc score (по Camm et al., 2010)¹

Рискови фактори	Точки
Застойна сърдечна недостатъчност / Левокамерна дисфункция	1
Хипертония	1
Възраст ≥75 год.	2
Захарен диабет	1
Инсулт / Транзиторна исхемична атака	2
Съдова болест (предшествващ миокарден инфаркт, периферна артериална болест)	1
Възраст 65-74 год.	1
Женски пол	1

Сравнено с по-рано създадените скали, CHA₂DS₂-VASc score значимо подобрява рисковата стратификация на пациентите. Въпреки това обаче, са налични дискусии относно прецизността ѝ (Friberg et al., 2015; Fox et al., 2017; Lip et al., 2018). Според становище на Американската сърдечна асоциация тромбоемболичният риск при предсърдно мъждене е явление с динамичен характер и времевата характеристика на заболяването е ключов фактор за тромбоемболичния му потенциал (L. Chen et al., 2018). В този смисъл бинарното представяне на заболяването (липса/наличие на предсърдно мъждене), на което е базирана приложимостта на CHA₂DS₂-VASc score, е некоректно (L. Chen et al., 2018). Представени са редица доказателства от клиничната практика относно ролята на времевата характеристика за тромбоемболичния потенциал на заболяването, включително и в рамката на кратката клинична форма пароксизмално предсърдно (Disertori et al., 2013; Ganesan et al., 2016; Go et al., 2018; Inoue et al., 2014; Primo et al., 2017). Европейското дружество по кардиология също възприема времевата характеристика като важен домейн от клиничното представяне на заболяването и предлага 4S-AF структуриран патофизиологично-базиран подход към него, в който ключов компонент е товарът предсърдно мъждене (Hindricks et al., 2021; Potpara et al., 2020). Времева характеристика безспорно има принос към тромбоемболичния потенциал на заболяването, включително при непродължителните пароксизмални епизоди и е уместно границите му да бъде прецизирани.

¹ Номерирането на таблиците в автореферата съответства на това в дисертационния труд

2.2. Перипроцедурни решения при кардиоверсио

Пациенти с предсърдно мъждене, подложени на кардиоверсио, имат повишен риск от перипроцедурен тромбоемболизъм, особено при липса на провеждана орална антикоагулация (Airaksinen et al., 2013; Hansen et al., 2015; Nuotio et al., 2014). Той произтича пряко от прокоагулантните нарушения, възникнали при самия епизод предсърдно мъждене - най-значими по време на ритъмното нарушение и непосредствено след него (Lip, 1995a). Според клинични наблюдателни проучвания те отшумяват в рамките на четири седмици след задържане на синусов ритъм (Goldman et al., 1999; Kleemann et al., 2009; Oltrona et al, 1997; Rankin & Rankin, 2017; Stoddard et al., 1995).

Острото кардиоверсио при пароксизмално предсърдно мъждене с давност <48 часа е стандартен клиничен подход, представен още през 2001 год. в препоръките на Европейското дружество по кардиология (Fuster et al., 2001). Перипроцедурната антикоагулантна профилактика остава дискусабилна години след въвеждането му (Fuster et al., 2006). През 2010 год. Дружеството излиза с категорично становище, че четири седмична антикоагулация след епизод предсърдно мъждене с продължителност до 48 часа не е необходима при липса на рискови фактори (Camm et al., 2010). Натрупват се обаче клинични данни за перипроцедурен тромбоемболичен риск и в тези случаи (Cotter et al., 2013; Glotzer & Ziegler, 2015; Kleemann et al., 2009; Sposato et al., 2015). Становището е ревизирано и в последните препоръки, представени през 2020 год., за първи път най-нискорисковият прозорец е дефиниран преди 48-я час на заболяването, като е дадена възможност постпроцедурната антикоагулация да бъде пропусната само след кратки (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене при нисък CHA₂DS₂-VASc score риск (CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже и CHA₂DS₂-VASc score = 1 при жени) (IIb клас препоръка; C ниво на доказателство) (Camm et al., 2010; Hindricks et al., 2021). Ясно се очертава тенденцията за стесняване на нискорисковата времева рамка, което е индиректно доказателство за значимостта на продължителността на епизода за перипроцедурния тромбоемболичен потенциал на заболяването. Същевременно големи клинични проучвания показват повишен перипроцедурен тромбоемболичен риск и при най-нискорисковите епизоди (Airaksinen et al., 2013; Jaakkola et al., 2016; Kaplan et al, 2019). Те стават предпоставка за прецизиране значимостта на CHA₂DS₂-VASc score рисковата характеристика при решението за перипроцедурна тромбoproфилактика в условия на остро кардиоверсио.

Безспорно перипроцедурният тромбоемболичен потенциал на кратките епизоди пароксизмално предсърдно мъждене (≤ 24 часа) все още е дискутабилен. Липсата на категоричност в решението за перипроцедурна тромбoproфилактика при тях налага уточняване ролята на рисковия профил на пациентите и времевата характеристика на епизода.

3. Протромбозни промени при предсърдно мъждене - данни от клинични и експериментални проучвания върху коагулационна и фибринолитична система

Както при всички протромботични състояния, така и при предсърдно мъждене тромбообразуването се подчинява на триадата на Virchow (Rastegar et al., 2003). Безспорно стазата на кръвта и структурната миокардна увреда са част от механизмите на тромбообразуване при предсърдно мъждене. Коагулационният дисбаланс обаче остава ключов за тромбообразуването при предсърдно мъждене. Обективно доказателство за това е установеното изобилие на фибрин в структурата на тромбите, образувани в хода на предсърдно мъждене, надвишаващо многократно тромбоцитното съдържание (Wysokinski et al., 2004). Това определя значимия експериментален и клиничен интерес към коагулационната и фибринолитична система при предсърдно мъждене. През последните години са натрупани редица проучвания в тази насока, оценяващи системите при заболяването, ролята им в процеса на тромбообразуване, както и връзката със самото заболяване.

В обобщение на данните от проучванията върху коагулационна и фибринолитична система при предсърдно мъждене, бихме могли да кажем, че системите са обект на значим научно-изследователски и клиничен интерес. Резултатите недвусмислено показват наличие на хиперкоагулабилитет при продължителните форми на заболяването - персистиращо и перманентно предсърдно мъждене (Fu et al., 2011; Gustafsson et al., 1990; Kahn et al., 1997; Lip et al., 1995c; Lopez-Castaneda et al., 2018; Toth et al., 2017; Wang et al., 2001). Той е свързан със значимо активиране на коагулационната система, като интимните механизми за това остават неизяснени. Данните относно фибринолитичната активност обаче са недостатъчни и същевременно противоречиви, представящи я в двете й крайности – от хипофункция до хиперфункция (Berge et al., 2013; Drabik et al., 2015; Jabati et al., 2018; Marin et al., 1999; Toth et al., 2017; Wang et al., 2001). Изследванията относно пароксизмалната форма

са изключително недостатъчни. *Непроучени остават коагулационна и фибринолитична система при епизодите пароксизмално предсърдно мъждене с продължителност ≤ 24 часа. Считаме, че липсата на познания относно патофизиологичния субстрат на тромбоемболизма, а именно на коагулационния баланс, е причина перипроцедурният тромбоемболичен потенциал на кратките епизоди (≤ 24 часа) пароксизмално предсърдно мъждене да бъде неуточнен и все още обект на дискусии.*

Коагулационни и фибринолитични показатели са анализирани и от гледна точка предиктивната им стойност за изява на тромбоемболични усложнения - съвсем логично и естествено предвид безспорната причинно-следствена връзка между ритъмното нарушение и тромбоемболизма (Ehrlich et al., 2011; Freynhofer et al., 2013a; Siegbahn et al., 2016; You et al., 2018). Все по-често е проучвано значението им и за предикция на самото заболяване, обосновка за което е ключовата им роля при различни патологични процеси като оксидативен стрес, възпаление, атеросклероза и др. (Alonso et al., 2012; Ellis et al., 2018; Wu et al., 2015; Zolu et al., 2012). Проучванията и в двете насоки безспорно поражда научен интерес, но данните остават недостатъчни.

4. Структура и нормално функциониране на коагулационна и фибринолитична система

За да бъдат правилно анализирани установени отклонения в коагулационна и фибринолитична система е необходимо познаване на структурата и функциите на системите във физиологични условия.

4.1. Коагулационна система

Въпреки, че концепцията за каскадна коагулация е успешен модел няколко десетилетия, напредъкът в провеждането на лабораторни и клинични проучвания показва, че каскадната хипотеза не отразява адекватно *in vivo* хемостазата (Becker, 2005; Roberts et al., 2006). Слабостите на каскадния модел се очертават ясно от редица факти (Cimmino & Cirillo, 2018; Riddell et al., 2007). Все по-отчетливо се оформя идеята, че двата пътя за активиране на коагулацията не действат независимо и самостоятелно като две алтернативни възможности. Създаден е клетъчно-базиран коагулационен модел, изместващ каскадната теория за коагулация. В светлината на съвременната хемостазаология, коагулацията е сложно взаимодействие между различни физични, клетъчни и биохимични

процеси в серия от етапи, а не два самостоятелни инициращи пътя, сливащи се в краен общ път. Клетъчно-базираният модел представя коагулацията като процес със застъпващи се фази на инициране, усилване и разпространение, и крайна фаза на терминация, протичащи основно върху повърхността на тромбоцитите. Централно място в него остава да заемат плазмените фактори на коагулационна каскада. От него е редно да подчертаем няколко факта:

- Приема се, че TF е абсолютно задължителен за *in vivo* инициране на коагулационния процес. Достатъчно данни вече съществуват, че TF е наличен и в кръвотока (blood-born TF, б.пр. произхождащ от кръвта TF) в поне няколко пула (Chiva-Blanch et al., 2017). Някои автори дори считат, че именно циркулиращият в кръвта TF е ключов участник в процеса на тромбообразуване (Brambilla et al., 2015; Cugno et al., 2014). Веднъж свързан с FVII, TF бързо го активира;
- FXII и други контактни фактори не винаги са необходими за коагулационния процес, както счита каскадният модел;
- Източниците на FIXa са два - директното активиране от комплекса TF/FVIIa и тромбоцитно свързаният XIa. Това позволява сформирание на функционален теназен и протромбиназен комплекс, респективно функционален тромбин, дори при дефицит на FXI.
- Ранните маркери на коагулация остават високосензитивни маркери, регистриращи нарушения в коагулационния профил на много ранен етап, наричан субклиничен стадий. Повишеното ниво на тези показатели е сигурен критерий за хиперкоагулабилитет, а понижението - за хипокоагулабилитет или тенденция за такъв (Borris et al., 2011; Dasgupta et al., 2007).

*В обобщение можем да кажем, че клетъчно-базираният модел дава възможност по-добре да бъдат разбрани както коагулационния процес *in vivo*, така и някои клинични симптоми в хода на различни коагулационни нарушения. Той убедително показва, че считаните от каскадния модел FXII и FXI като неотменни за коагулацията, не са основни за синтеза на тромбин. Тези данни пораждат необходимост от прецизиране интимните механизми на коагулация при конкретното протромбно състояние и изследване на коагулационната каскада в нейната цялост.*

4.2. Фибринолитична система

Според класическата представа фибринолизата е система с основна функция да локализира и ограничава образуването на тромби, лизира фибриновите съсиреци и възстановява проходимостта на съдовете. По-нови проучвания показват, че тази система е ангажирана и в други физиологични и патологични процеси, а именно участва в разграждането на екстрацелуларния матрикс, ембриогенезата, клетъчната миграция, ангиогенезата, активира растежни фактори на миелопоезата, апоптозата и др. (Mahmood et al., 2018).

Прецизният баланс между системите за фибринолиза и коагулация има многоаспектно значение. Преди всичко той обезпечава локално, в областта на тромба, значимо нарастване на фибринолитична активност в точно определен момент. Този момент съвпада с възстановяване на увредения съд и е свързан с повишена секреция на t-PA и намалена на PAI-1 (Khalafallah et al., 2014). Плазминът е основната протеолитична протеаза, която медира лизиса на фибриновия коагулум и фибриногена до фибрин/фибриноген деградационни продукти (FDP), сред които особено място заема Д-димер (Kolodziejczyk et al., 2013). Д-димер е най-малкия и специфичен FDP, открит в циркулацията (Favresse et al., 2018; Olson, 2015). Известен е като „уникален биологичен маркер за хемостазни аномалии“ поради следните факти:

- продукт е единствено на плазмин-медирано разграждане на стабилизирани фибрин, за който е известно, че бележи момента на превръщане на коагулума в стабилен;
- поради висока чувствителност Д-димер е ценен маркер при съмнение за активиране на коагулацията и фибринолизата (за диагностициране и проследяване на редица клинични състояния, при които пациентът е изложен на висок риск от кървене или тромбоза);
- нарастващото ниво на Д-димер след антикоагулация при тромботично събитие показва повишен риск от повтаряща се тромбоза (Tripodi, 2011; Weitz et al., 2017).

Коагулационна и фибринолитична система са многокомпонентни, тясно свързани и прецизно взаимнорегулиращи се системи. Същността на нарушения баланс между тях, в условия на тромбообразуване, може да се установи само при детайлното им изследване.

5. Основни изводи от литературния обзор

1. *Честите тромбоемболични инциденти, водещи до значима инвалидизация и смъртност, са основен клиничен проблем при пароксизмално предсърдно мъждене, така както при непароксизмалните форми. Ключови за тяхната ефективна профилактика са правилно оцененения тромбоемболичен потенциал на заболяването и оптималната антикоагулация.*
2. *Тромбообразуването при предсърдно мъждене е структурна изява на хиперкоагулабилитет, следствие на дисбаланс между многокомпонентните и прецизно взаимнорегулиращи се системи на коагулация и фибринолиза. Това налага детайлно им едновременно изследване при проучване коагулационния статус на пациенти с предсърдно мъждене.*
3. *Проведени са множество проучвания върху коагулационна и фибринолитична система при предсърдно мъждене, които представят следните факти:*
 - *Системите остават непълно характеризирани, поради проучения малък брой показатели. Най-често те са анализирани едностранно (коагулация или фибринолиза), обичайно в коморбидни популации и същностните механизми на коагулационен дисбаланс са неизяснени.*
 - *Изследвани са предимно персистираща и перманентна форма на предсърдно мъждене, където безспорно е установен хиперкоагулабилитет с повишена активност на коагулационната система, често придружавана от сходни отклонения във фибринолизата;*
 - *Данните при пароксизмално предсърдно мъждене са недостатъчни, особено при кратките епизоди (≤ 24 часа) на заболяването. Отклоненията в коагулационния баланс при тях остават неуточнени.*
4. *Липсва клинично изследване, което детайлно и комплексно да анализира системите на коагулация и фибринолиза в хода на кратките епизоди (≤ 24 часа) пароксизмално предсърдно мъждене.*
5. *Неуточнен остава перипроцедурният тромбоемболичен потенциал на кратките епизоди (≤ 24 часа) пароксизмално предсърдно мъждене и необходимостта от постпроцедурна антикоагулация при много ниско рискови пациенти (CHA₂DS₂-VASc score 0 за мъже или 1 за жени).*

6. Дискутабилно е значението на CHA₂DS₂-VASc score и продължителността на епизода за перипроцедурния тромбоемболичен потенциал на кратките епизоди (≤ 24 часа) пароксизмално предсърдно мъждене.
7. *Неизяснена* е предиктивната стойност на коагулационни и фибринолитични показатели за изява на пароксизмално предсърдно мъждене, както и на тромбоемболични инциденти, свързани с него.

С оглед клиничната значимост на тромбоемболичните инциденти при предсърдно мъждене и безспорната необходимост от прецизна антикоагулация при тях, направените изводи от литературния обзор са аргумент в полза на необходимостта от комплексно проучване върху коагулационна и фибринолитична система в ранните часове (първите 24 часа) от клиничната изява на пароксизмално предсърдно мъждене.

II. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ НА ПРОУЧВАНЕТО

1. ЦЕЛ

Да изследва коагулационния статус на пациенти при пароксизмално предсърдно мъждене и продължителност на епизода ≤ 24 часа, като се проучат системите на коагулация и фибринолиза.

2. ЗАДАЧИ

За постигане на целта бяха набелязани следните задачи:

1. Да се проучи външният път на хемокоагулация, като се изследват плазмени нива на TF и коагулационна активност на FVII.
2. Да се проучи вътрешният път на хемокоагулация чрез коагулационни фактори XII, XI, IX, VIII и плазмен гликопротеин vWF.
3. Да се изследва общият път на коагулационна каскада като се определят:
 - 3.1. активност на основните елементи на протромбиназен комплекс - FX и FV, както и на самия тромбин (FIIa);
 - 3.2. нива на F1+2 и FPA – ранни маркери за хемокоагулация.
4. Да се изследват основни регулатори и показатели на фибринолиза: плазминоген, t-PA, PAI-1, $\alpha 2$ -антиплазмин и витронектин, както и плазмено ниво на специфичния краен продукт на фибринолизата – Д-димер.
5. Да се анализира мощността на t-критерий за тестване хипотеза за равенство на средни стойности на коагулационни и фибринолитични показатели при изследвания обем на пациентска и контролна група.
6. Да се проучи влиянието на тромбоемболичната рискова характеристика на пациентите, дефинирана от CHA₂DS₂-VASc score, върху коагулационни и фибринолитични показатели.
7. Да се потърси и оцени възможната функционална зависимост на стойностите на изследваните хемостазни показатели от продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене.
8. Да се оцени прогностичната стойност на коагулационни и фибринолитични показатели чрез вероятността за поява на пароксизмално предсърдно мъждене.
9. Да се анализира предиктивната стойност на изследвани коагулационни и фибринолитични показатели за изява на артериални тромбоемболични инциденти.

III. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

1. Дизайн на изследването

Проучването беше проведено в Първа клиника по кардиология с интензивно кардиологично отделение към УМБАЛ “Св. Марина” - Варна въз основа на одобрение от Комисиите по етика на научните изследвания към същата болница (№35/29.10.2010) и Медицински университет „проф. д-р П. Стоянов“ (№9/14.10.2010), и в съответствие с изискванията на Хелзинкската декларация (The World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008).

Формирани бяха две групи, пациентска и контролна, в периода м. октомври 2010 г. - м. май 2012 г. въз основа на ясно формулирани „Включващи и изключващи от проучването критерии“ (виж по-долу). Пациентската група беше формирана при селектиране на последователно постъпили в отделението пациенти с първи епизод на пароксизмално предсърдно мъждене. Контролите бяха доброволци, насочени от личен лекар за скриниране за участие в проучването след посещение при него за годишен профилактичен преглед.

Ключов момент в дизайна на изследването беше изравняване на демографски и клинични характеристики на двете групи (пациентска и контролна) с цел осигуряване максимално обективно съпоставяне и минимизиране възможността за грешка при подбора (Kang et al., 2008; Suresh, 2011).

За целта на проучването при всеки участник еднократно бяха изследвани общо двадесет показатели на коагулационна и фибринолитична система в периферна венозна кръв, взета от кубитална вена.

Пациентите бяха наблюдавани за изява на исхемичен мозъчен инсулт чрез годишни медицински прегледи до края на м. декември 2020 година или по-рано в случай на спиране на наблюдението по причини различни от мозъчен инсулт, но преди той да е настъпил (отказ от участие, смърт или установяване на онкологично заболяване).

2. Участници в изследването

В проучването бяха включени 51 пациенти (26 мъже и 25 жени) с първи епизод на пароксизмално предсърдно мъждене и средна възраст 59.84 ± 1.60 г. (31-77 г.). Те бяха последователно селектирани от общо 338 скринирани пациенти, постъпили в отделението по повод пароксизмално

предсърдно мъждене за периода на проучването.

Включени бяха и 52 контроли, мъже и жени по равен брой 26 (50%), на средна възраст 59.50 ± 1.46 г. (30-76 г.) без анамнестични или ЕКГ данни за предсърдно мъждене до момента. От 378 доброволци, насочени от личен лекар към изследователите, след проверка на „Включващи и изключващи“ критерии, бяха избрани 169 контроли. От тях, за балансиране на двете изследвани групи (пациентска и контролна), в проучването останаха 52 участника.

Включващи критерии за участници в пациентска група

1. Предсърдно мъждене с давност не повече от двадесет и четири часа;
2. Ясно дефинирано начало на аритмията, персистираща и към момента на вземане на кръвни проби;
3. Липса на анамнестични или ЕКГ данни за предшестващи епизоди на предсърдно мъждене;
4. Липса на изключващи критерии.

Включващи критерии за участници в контролна група

1. Липса на анамнестични или ЕКГ данни за предсърдно мъждене до момента;
2. Липса на изключващи критерии.

Изключващи от проучването критерии

1. Сърдечно-съдови заболявания - исхемична болест на сърцето, тежка/резистентна хипертония; хронична и остра сърдечна недостатъчност, имплантиран дивайс за лечение на ритъмно-проводни нарушения, възпалителни заболявания на сърцето (миокардит, перикардит, инфекциозен ендокардит), вродени сърдечни пороци, умерени или тежки придобити клапни пороци, кардиомиопатии;
2. Други заболявания – остро или хронично бъбречно заболяване, остро или хронично чернодробно заболяване, исхемичен/хеморагичен мозъчен инсулт, възпалителни, и/или инфекциозни заболявания през последните три месеца, неопластични или автоимунни заболявания, хронични белодробни страдания, заболявания на ендокринната система (с изключение на захарен диабет тип 2, неинсулинозависим, с добър контрол, тромбоемболичен инцидент (инсулт, периферна артериална емболия, дълбока венозна тромбоза, белодробна тромбоемболия), хеморагична диатеза;
3. Прием на медикаменти - хормонозаместителна терапия, контрацепти-

ви, антикоагуланти, антиагреганти и системен прием на аналгетици и НСПВС; прием на алкохол >2 пъти седмично; BMI >35;

4. Бременност и спонтанни аборти (за жените);
5. Невъзможност да се определи началото на аритмията (при пациенти);
6. Невъзстановен синусов ритъм след приложение на proprafenone по установената за него схема (критерии само за пациентската селекция).

3. Получаване и съхраняване на пробите. Лабораторни методи. Изследвани показатели

Количеството кръв, вземано за всяка кръвна проба, беше 14 мл във вакутейнери за коагулация с натриев цитрат 3.2% (Vacuette Tube, Greiner Bio-One North America, inc.) и хепаринов вакутейнер (Vacuette Tube 4.0 ml/Li Hep, Greiner Bio-One North America, inc.). Кръвта беше незабавно центрофугирана според изискванията на използваните тестове, а получената плазма – замразявана и съхранявана съобразно използваните тестове.

При всеки участник бяха изследвани общо двадесет коагулационни и фибринолитични показатели, а именно: активност на FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX, FXI, FXII, плазминоген, α 2-антиплазмин, PAI-1; активност и нива на vWF; плазмени нива на TF, FVIII, FPA, F 1+2, t-PA, витронектин Д-димер. Използвани бяха реактиви на Technoclone (Austria), Diagnostica Stago (France), Siemens Diagnostics (Germany), Sekisui Diagnostics (USA), BioMedica Diagnostics (USA) и USCN Life Science (China), базирани на кинетични, фотометрични или ELISA методи.

4. Ехокардиографски методи

Едноразмерна (M-mode), двуразмерна (B-mode) и Doppler ехокардиография на всички участници в проучването беше извършена с помощта на апарат Aloka ProSound SSD-4000, Aloka, Япония. Всички използвани ехокардиографски методи и направените с тях измервания са съгласно препоръките за оценка сърдечните кухини, предложени и описани от Европейското дружество по Кардиология и Американската сърдечна асоциация (Evangelista et al., 2008; Galiuto et al., 2011; Lang et al., 2006).

5. Статистически анализ – използвани методи

Статистически анализ на данните беше направен с помощта на специализиран софтуерен продукт STATISTICA 13.3.0, StatSoft Inc., USA и пакет “R core”.

За изчисляване на средни стойности, стандартни отклонения, стандартни грешки на средната, относителни дялове и централна тенденция (Мо=мода) беше използвана дескриптивна статистика. Тестването на хипотези за равенство на средни стойности и на показатели за относителен дял в дисертационния труд беше направено чрез t-критерий на Стюdent при ниво на значимост $p=0.05$ (Jobson, 1991). Нормалното разпределение на извадките на изследваните от нас показатели на коагулационна и фибринолитична система беше потвърдено чрез теста на Колмогоров-Смирнов-Лилефорс (Lilliefors, 1965). Направен беше анализ на мощността на t-критерий за отклоненията в коагулационни и фибринолитични показатели при изследваните групи с цел установяване адекватност на обема на извадката (Suresh & Chandrashekar, 2012). ANOVA анализът беше използван за сравняване на стойностите на плазмените показатели на коагулационна и фибринолитична система в зависимост от качествените променливи пол (жена/мъж) и тромбоемболичната рискова характеристика на пациента, дефиниран чрез CHA₂DS₂-VASc score. Линейна регресия беше използвана за моделиране на всеки един от изследваните хемостазни показатели от предикторите възраст, BMI и продължителност на предсърдното мъждене. Едномерна логистична регресия беше приложена за моделиране на наличие/отсъствие на усложнението пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от променливите плазмени показатели на коагулационна и фибринолитична система. В дисертационния труд бяха построени ROC-криви със съответните им оптимални прагови точки, определени по критерия на Юден, за оценка предиктивната стойност на показателите за изява на пароксизмално предсърдно мъждене. Оценка на функцията на преживяемост беше направена чрез оценителя на Каплан-Майер. Моделът на Кокс в дисертационния труд беше използван за оценка значимостта на изследваните хемостазни показатели като предиктори за възникване на исхемичен мозъчен инсулт.

IV. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

1. Демографска и клинична характеристика на участниците в изследването

Както е видно от представените резултати на Таблица 5 и Таблица 6 между пациентска и контролна група нямаше статистически значими различия по отношение на демографска и клинична характеристика. Тромбоемболичната клинична рискова характеристика на пациентите беше дефинирана според наложената в клиничната практика оценъчна скала CHA₂DS₂-VASc score в двете категории, а именно: нискорискови пациенти без необходимост от антикоагулант (CHA₂DS₂-VASc score 0 при мъже и 1 при жени) и всички останали, които имат показания на антикоагулантна превенция (CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 при мъже и ≥ 2 при жени) (Hindricks et al., 2021).

Таблица 5. Демографска характеристика на пациентска и контролна група

	Пациентска група	Контролна група	P стойности
Брой участници в група	51	52	0.89
Средна възраст (години)	59.84 \pm 1.60	59.50 \pm 1.46	0.87
Мъже/Жени	26/25	26/26	1/0.93
ВМІ (kg/m ²)	23.85 \pm 0.46	24.95 \pm 0.45	0.09

Таблица 6. Клинична характеристика на пациентска и контролна група

	Брой пациенти (%)	Брой контроли (%)	P стойност
Придружаващи заболявания			
Хипертонична болест	37 (72.54)	34 (65.38)	0.44
Захарен диабет тип 2	3 (5.88)	2 (3.84)	0.62
Дислипидемия	4 (7.84)	3 (5.77)	0.69
Медикаментозно лечение			
Бета-блокери	19 (37.25)	17 (32.69)	0.62
АСЕ-инхибитори/Сартани	26 (50.98)	23 (44.23)	0.68

	Брой пациенти (%)	Брой контроли (%)	P стойност
Други антихипертензивни медикаменти (Калциеви антагонисти, Диуретици)	11(21.56)	15 (28.84)	0.43
Статини	4 (7.84)	3 (5.77)	0.69
Metformin	3 (5.88)	2 (3.84)	0.62
CHA₂DS₂-VASc score		Неприложимо	
CHA ₂ DS ₂ -VASc score 0*	13		
CHA ₂ DS ₂ -VASc score ≥1**	38		

* *нискорискови пациенти без необходимост от антикоагулант (CHA₂DS₂-VASc score 0 при мъже и 1 при жени)*

***всички, при които има показания на антикогулантна превенция (CHA₂DS₂-VASc score ≥1 при мъже и ≥2 при жени)*

Изравняването на групите по представените по-горе демографски и клинични характеристики беше заложено в дизайна на проучването (виж „Материал и методи“). Това осигури баланс между групите и обективно съпоставяне на получените данни.

Проведената трансторакална ехокардиография не показа статистически значима разлика между двете групи по отношение на стойностите на изследваните показатели (Таблица 8).

Таблица 8. Данни от трансторакална ехокардиография

Ехокардиографски показатели	Пациентска група	Контролна група	P стойности
LVEDD (mm)	52.57 ± 0.58	52.29 ± 0.57	0.73
LVESD (mm)	34.43 ± 0.56	34.73 ± 0.48	0.69
EF (%)	62.98 ± 0.70	61.54 ± 0.58	0.12
IVS (mm)	10.37 ± 0.23	9.92 ± 0.26	0.20
PW (mm)	10.24 ± 0.21	9.73 ± 0.28	0.16
LA обем (ml/m ²)	22.81 ± 0.45	23.82 ± 0.48	0.13
RVEDD (mm)	30.54 ± 1.58	29.17 ± 1.52	0.18

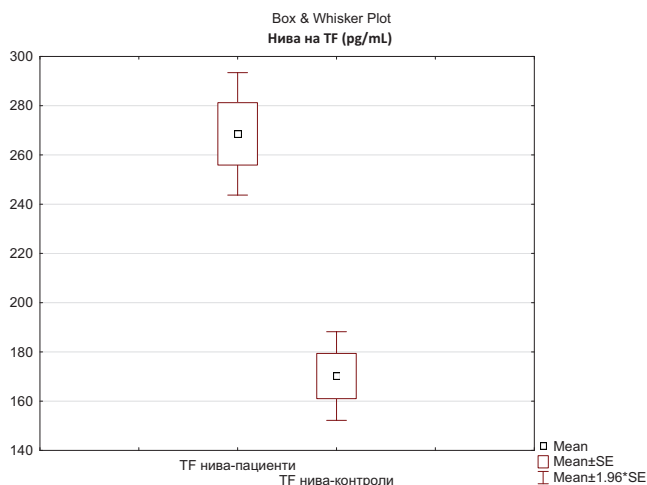
Продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене беше детайлно анализирана във връзка с поставените цел и задачи

на дисертационния труд. Средната стойност беше 8.14 ± 0.76 часа, минималната - 2 часа, а максималната - 24 часа. Хемостазните показатели бяха най-често изследвани при епизоди с продължителност 5 часа (Mo=5; 10 от всички 51 пациенти).

2. Отклонения в показатели на коагулационна система

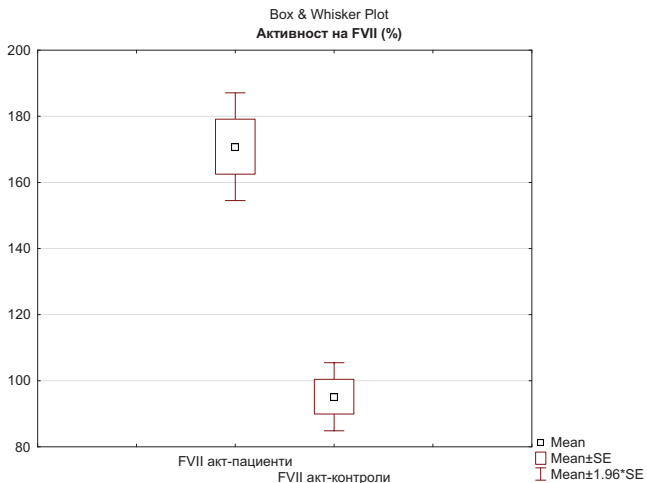
2.1. Плазмени нива на TF и коагулационна активност на FVII

Стойностите на TF, представени на Фигура 14, бяха значимо по-високи в пациентската група сравнено с контролната (268.63 ± 12.69 pg/mL vs 170.21 ± 9.18 pg/mL, $p < 0.001$). В условия на пароксизмално предсърдно мъждене значимо по-висока беше и плазмената активност на FVII ($170.82 \pm 8.32\%$ vs $95.17 \pm 5.26\%$ vs, $p < 0.001$; Фигура 15).



Фигура 14. Сравнение на плазмени нива на TF при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли²

2 Номерирането на фигурите в автореферата съответства на това в дисертационния труд



Фигура 15. Сравнение на коагулационна активност на FVII при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FVII акт – FVII активност)

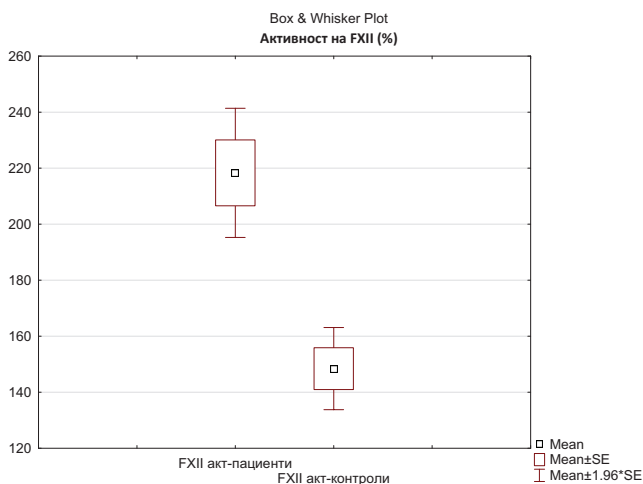
Установените отклонения показват значимо активиране на външния път на коагулационната каскада в изследваната от нас пациентска популация. В първите двадесет и четири часа от клиничната изява на ритъмното нарушение е налице безспорно инициране на коагулацията следствие на повишена експресия на TF. Това е абсолютно необходимата предпоставка за фазите на усилване и пропация на коагулационния сигнал, но не и достатъчна компонента за фибринообразуване. Повишените нива на TF и плазмена активност FVII предполагат усилено активиране на FX и FIX, но не и на коагулационния процес като цяло. То е следствие на синхронното и допълващо се действие на факторите от вътрешния и общ път на коагулация. Многокомпонентността на коагулационната каскада и сложните механизми за инхибиране на всяко стъпало налагат проследяване на фазите на коагулационния процес поотделно.

Редица проучвания доказват активиран коагулационен процес при предсърдно мъждене. Както е видно от представения по-горе литературен обзор, въпреки големия научен и клиничен интерес са изследвани единични показатели и същността на установените промени не е разкрита. Много малко са данните относно TF и FVII/FVIIa при пароксизмално предсърдно мъждене. Като инициращи коагулационната

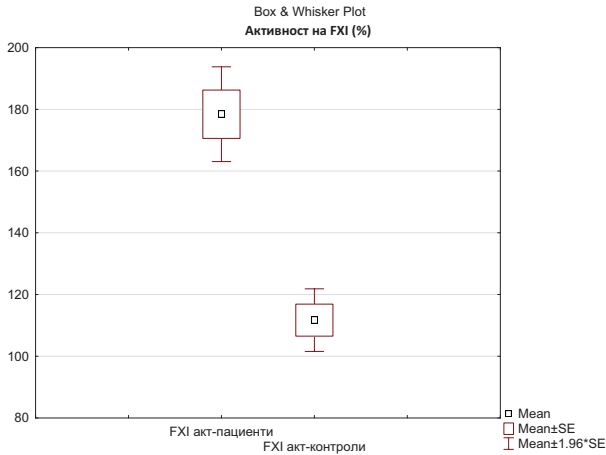
каскада молекули, изследването им позволява уточняване на пусковите механизми на процеса и неговото начало. Представените от нас резултати са основание да направим някои важни изводи, а именно за *ранно инициране на коагулационния процес при пароксизмално предсърдно мъждене, проявяващо се още при кратките епизоди (продължителност ≤ 24 часа) на заболяването*. То е следствие на активиран външен път на коагулация при повишена *TF експресия*.

2.2. Коагулационни фактори XII, XI, IX, VIII и плазмен гликопротеин vWF

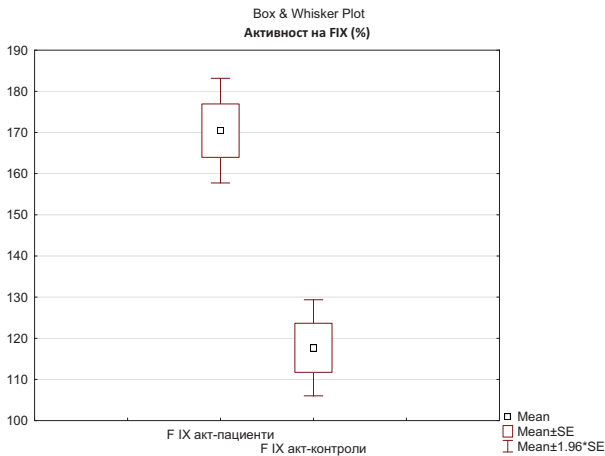
При пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене беше установена повишена коагулационна активност на FXII ($218.31 \pm 11.77\%$ vs $148.41 \pm 7.48\%$, $p < 0.001$; Фигура 16). По-висока беше и активността на FXI ($178.41 \pm 7.99\%$ vs $111.75 \pm 5.50\%$, $p < 0.001$; Фигура 17), и FIX спрямо контролната група ($170.43 \pm 6.62\%$ vs $117.72 \pm 5.95\%$, $p < 0.001$; Фигура 18).



Фигура 16. Сравнение на коагулационна активност на FXII при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FXII акт – FXII активност)



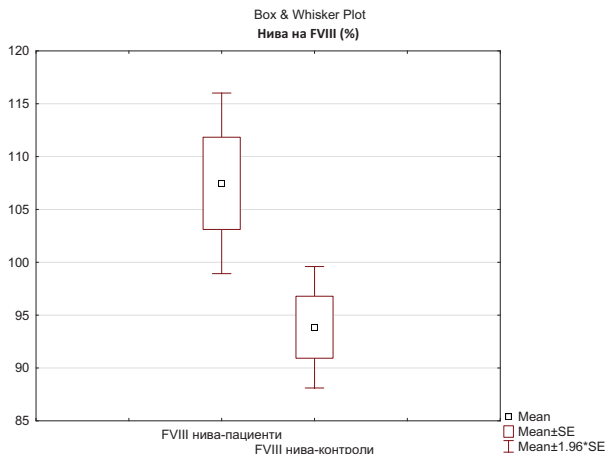
Фигура 17. Сравнение на коагулационна активност на FXI при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FXI акт – FXI активност)



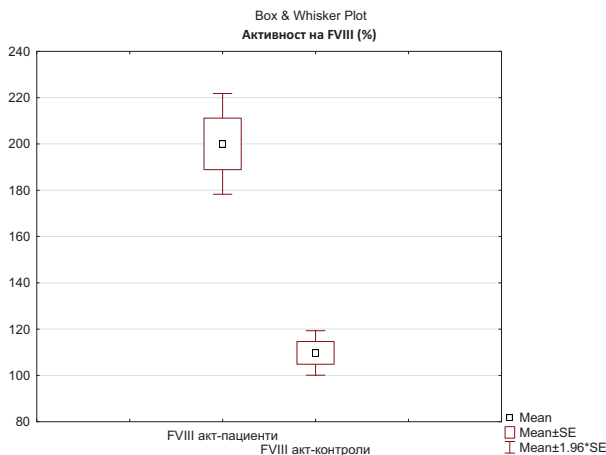
Фигура 18. Сравнение на коагулационна активност на FIX при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FIX акт – FIX активност)

Сред пациентската група значимо по-високи бяха и плазмени нива и активност на FVIII ($107.52 \pm 4.36\%$ vs $93.85 \pm 2.93\%$, $p < 0.05$; $200.03 \pm 11.11\%$

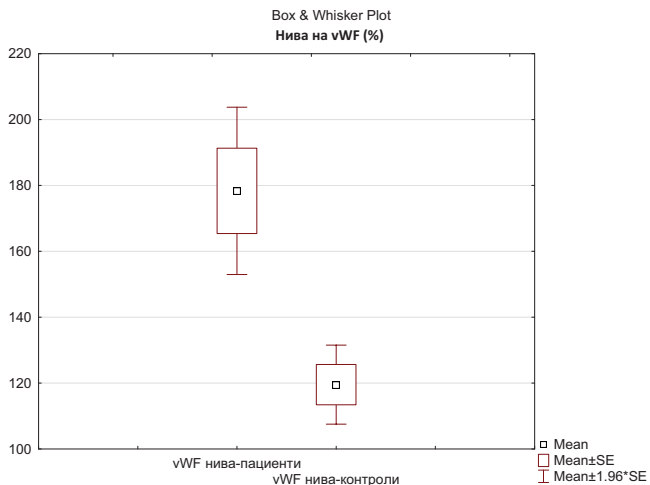
vs $109.73 \pm 4.90\%$, $p < 0.001$), представени съответно на Фигура 19 и Фигура 20. Плазмените нива на vWF ($178.40 \pm 12.95\%$ vs $119.53 \pm 6.12\%$, $p < 0.001$; Фигура 21) и колаген-свързващата активност на гликопротеина ($200.92 \pm 12.45\%$ vs $110.80 \pm 5.14\%$, $p < 0.001$; Фигура 22) показаха същите отклонения.



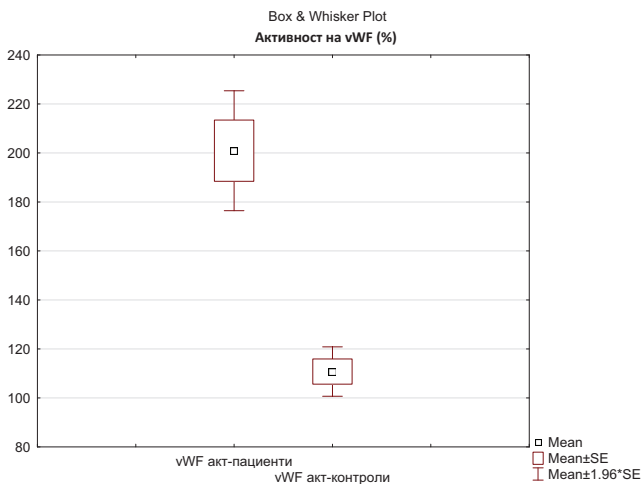
Фигура 19. Сравнение на плазмени нива на FVIII при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли



Фигура 20. Сравнение на коагуляционна активност на FVIII при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FVIII акт – FVIII активност)



Фигура 21. Сравнение на плазмени нива на vWF при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли



Фигура 22. Сравнение на колаген-свързваща активност на vWF при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (vWF акт – vWF активност)

Дискутабилно е участието на FXII в *in vivo* коагулацията, след като е установен нормален хемостазен капацитет и липса на абнормно кървене при вроден дефицит на FXII (Geddings & Mackman, 2014). Обект на дискусии остава и ролята на FXI. Все по-често тя е дефинирана като „поддържаща“, а не главна, предвид клиничните наблюдения, които установиха леко кървене при дефицит на фактора (Voјasek, 2017). Клетъчно-базираната теория дава научно обяснение за това, като показва директно активиране FXI от тромбин в отсъствие на FXII. Комплексът TF/VIIa от своя страна може директно да активира FIX, дори при дефицит на FXI. Теоретично, FXI и FXII не са задължителни и абсолютно необходими участници в процеса на коагулация. Същевременно са натрупани достатъчно клинични доказателства за значимостта на вътрешния път при протромбозни състояния. Така например, проучването RE-ALIGN показва неприемливо висока честота на тромбоемболични инциденти при лечение с dabigatranе на пациенти с механична клапна протеза, поради генериране на тромбин по вътрешния път на коагулация с участие на FXII в количество, надвишаващо клинично приложимите концентрации на dabigatranе (Jaffer et al., 2015; Van de Werf et al., 2012). Това е пример и основание FXII и FXI да не бъдат negliжирани при протромбозни състояния, а изследването им е уместно при всяко протромбозно състояние. В нашето проучване те показаха значимо по-висока активността при предсърдно мъждене (Фигура 16 и Фигура 17; $p < 0.001$). Тези резултати имат изключително важно значение както от научна, така и от клинична гледна точка. Те показват *участието на FXII и FXI в коагулационния процес при заболяването*. Добре известно е, че веднъж активирани, FXII и FXI имат има по-голям принос към тромбообразуването, отколкото към физиологичната коагулация. В този смисъл се очаква инхибирането им да доведе до ефективно потискане на коагулационната активност. Същевременно се предполага това да бъде свързано с по-нисък риск от кървене сравнено с FXa- и FIIa-инхибицията. *Установеното значимо активиране на FXII и FXI в проведеното проучване е сериозна предпоставка за следващи експериментални изследвания и търсене на нов по-безопасен фармакологичен подход в антикоагулантната терапия при предсърдно мъждене чрез инхибиране активността на FXII и FXI.*

Съвременните представи за хемостаза определят FIX като първото звено, което свързва директно външния и вътрешния път на протромбинова активация, пряко отговорен за фазата на пропация при всяка прокоагулантна стимулация, независимо от характера и произхода ѝ (Smith, 2009; Tormoen et al., 2013). Неензимният кофактор FVIIIa е

ключов за функционалността и адекватността му. Свързани в рамката на вътрешния теназен комплекс, FIXa/FVIIIa са отговорна за критичното за коагулацията значимо активиране на FX и взрив в образуването на тромбин – молекулата, която директно стимулира фибриновия синтез (Girolami et al., 2004; Goodeve et al., 2010). Много често FVIII е изследван едновременно с гликопротеина vWF. Предпоставка за това е добре известният факт, свързан с vWF в съотношение 1:1 в нековалентен комплекс FVIII/vWF, FVIII е предпазен от ранно протеолитично разграждане. Това удължава полуживота му в циркулацията и определя по-ефективно прокоагулантно действие (Koster et al., 1995).

Ключовата роля на факторите IX и VIII във фазите на усилване и разпространение на коагулационния сигнал, определя големия научен и клиничен интерес към тях при протромбозни състояния (заболявания) (Bank et al., 2005; Bosma et al., 2007; Heikal et al., 2013; Kuo et al., 2015; Kyrle et al., 2000; Vecht et al., 2018). Тези резултати са предпоставка за научния интерес към FIX, FVIII и vWF и при предсърдно мъждене. (Hobbelt et al., 2016; Kusak et al., 2016; Wu et al., 2015). Изследваните популации обаче като цяло са значимо коморбидни и често хетерогенни по отношение давността на аритмията. Към момента няма данни относно FIX, FVIII и vWF в ранните часове (първите 24 часа) на заболяването, което да позволи оценка на прокоагулантната активност в този етап от заболяването. Нашето проучване е първото в тази насока. Резултатите, видни от Фигури 18 и 20, показаха значимо по-висока коагулационна активност както на FIX, така и на неговия кофактор FVIIIa ($p < 0.001$), което е предпоставка за генериране на значимо количество тромбин, определящ фибринообразуването.

Функционалната адекватност на FVIII, респективно неговият прокоагулантен ефект, зависят не само от активността, но и от нивата на молекулата (Kamikubo et al., 2017; Siegler et al., 2015; Wang et al., 2003). Въпреки, че обичайно между тях има пряка причинно-следствена връзка, всеки от тези показатели има своята стойност и предоставя специфична клинична информация (O'Donnell et al., 1997). Това ни даде основание те да бъдат изследвани едновременно. Установено беше, че подобно на плазмената активност, нивата на FVIII също бяха значимо по-високи сравнено с тези на контролите ($p < 0.05$, Фигура 19). Еднопосочните промени в двата показателя и известната причинно-следствена връзка между тях ни карат да считаме, че в изследваната пациентска популация е налице повишен синтез и секреция на FVIII в условия на прокоагулантна стимулация. Вероятно високата FVIII концентрация е свързана с удължен

плазмен полуживот и стабилизиране на молекулата, предвид високите плазмени нива на vWF ($p < 0.001$, Фигура 21).

Факторът на фон Вилебранд се освобождава в плазма основно от ендотелни клетки и в по-малка степен от активирани тромбоцити (De Meyer et al., 2009). Добре известни данни относно физиологичните и функционални особености на vWF дават основание да считаме високите нива на vWF в изследваната пациентска група като показателни за настъпване на *ендотелна увреда в хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди на ритъмното нарушение* (Фигура 21), а повишената активност – маркер за *засилена тромбоцитна адхезия* (Фигура 22). Добре известно е, че предсърдното мъждене само по себе си допринася за структурно ремоделиране на миокарда. Следствие на дисинхронната предсърдна контракция, електронната микроскопия установява „загрубяване“, оток и денудация на ендокарда, а в последствие миоцитна хипертрофия и моноцитна клетъчна инфилтрация (Khan, 2003). Високочестотната некоординирана контракция на предсърдията води до локално ендотелно натоварване и увреда (Guazzi & Arena, 2009). Високите плазмени нива на vWF в изследваната пациентска група най-вероятно са техен израз и неотменна част от прокоагулантното състояние, сформиращо се още при кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене.

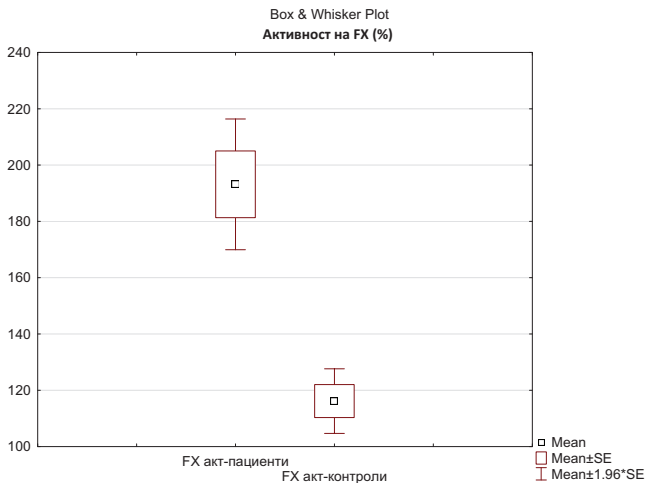
Както е видно от представените по-горе Фигури 16-22, при всички изследвани показатели от вътрешния път на коагулация се установяват значими еднопосочни промени, което е безспорно доказателство за неговото активиране. *В хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене настъпва прокоагулантно състояние*. То има своите специфични особености:

- асоциира се със значимо активирани FXII и FXI. Според съвременната клетъчно-базирана теория участието им в *in vivo* коагулацията е незадължително и дискутабилно. В този смисъл установеното им активиране предоставя възможности за търсене на нови фармакологични подходи за адекватна и безопасна антикоагулация при заболяването;
- значимо високи са плазмените нива и активност на vWF, което предполага наличие на ранна ендотелна увреда и засилена тромбоцитна адхезия.

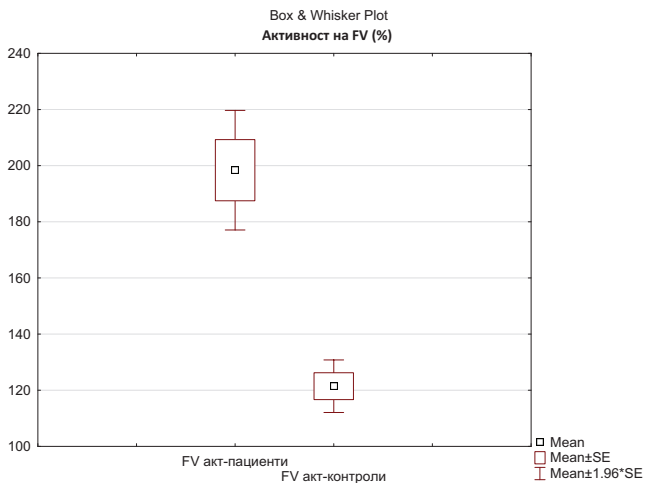
2.3. Активност на основни елементи на протромбиназен комплекс FX и FV и на самия тромбин (FIIa). Нива на F1+2 и FPA

Активност на основни елементи на протромбиназен комплекс FX и FV и на самия тромбин (FIIa)

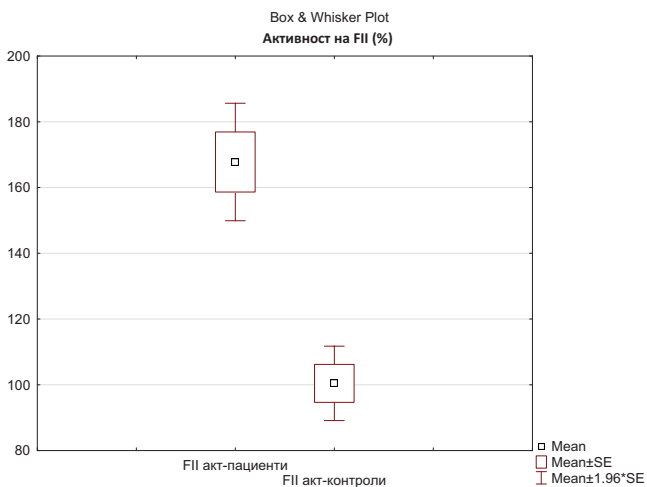
Установена беше по-висока коагулационна активност на FX ($193.20 \pm 11.85\%$ vs $116.20 \pm 5.86\%$, $p < 0.001$; Фигура 23) и FV в пациентската група сравнено с контролната ($198.47 \pm 10.88\%$ vs $121.53 \pm 4.79\%$, $p < 0.001$; Фигура 24). В същата беше измерена по-висока коагулационна активност и на FII ($167.81 \pm 9.12\%$ vs $100.43 \pm 5.77\%$, $p < 0.001$; Фигура 25).



Фигура 23. Сравнение на коагулационна активност на FX при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FX акт – FX активност)



Фигура 24. Сравнение на коагулационна активност на FV при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FV акт – FV активност)



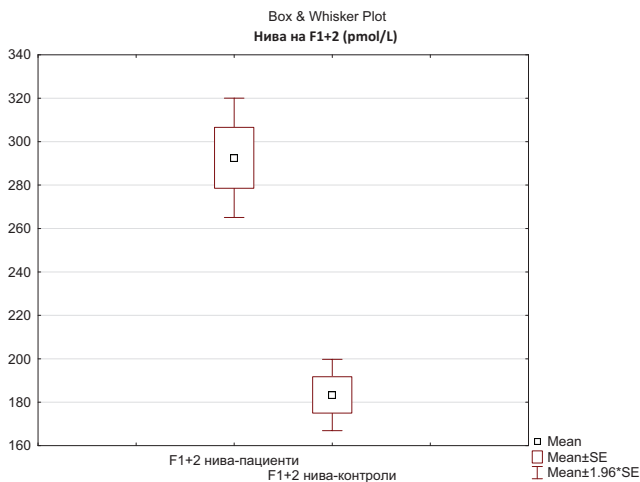
Фигура 25. Сравнение на коагулационна активност на FII при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (FII акт – FII активност)

Изследване коагулационната активност на FX, FV и FII в нашето проучване е абсолютно необходимо допълнение към представените в т.2.1 и т.2.2 фактори на коагулация, което произтича от отговорността им в крайния общ път на коагулация.

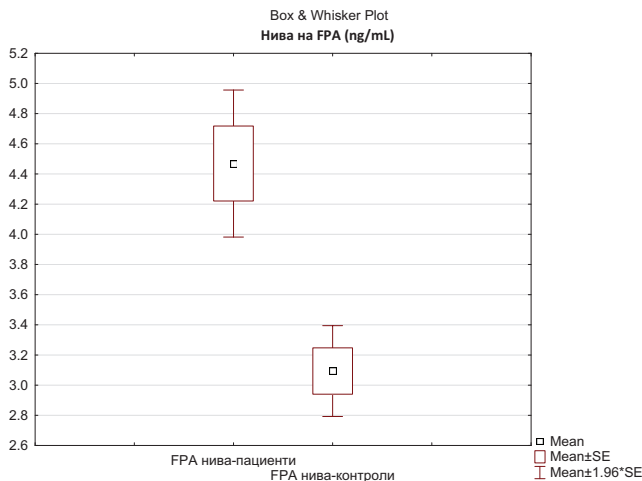
Нашите резултати показаха значимо по-високи стойности и на двете протеази, изграждащи протромбиновия комплекс, а именно FXa и FVa ($p < 0.001$, Фигура 23 и Фигура 24), както и на FIIa сред изследваните пациенти ($p < 0.001$, Фигура 25). Тези отклонения са доказателство за активиране на общия път на коагулационната каскада *още в първите двадесет и четири часа от клиничната изява* на пароксизмално предсърдно мъждене. Те са добра предпоставка за пропагация на коагулационния процес и усилено образуване на фибрин.

Нива на F1+2 и FPA

Плазмените нива на F1+2 бяха значимо по-високи в пациентската група сравнено с контролната (292.61 ± 14.03 pmol/L vs 183.40 ± 8.38 pmol/L, $p < 0.001$; Фигура 26). Фибринопептид А също показва по-високи стойности (4.47 ± 0.25 ng/mL vs 3.09 ± 0.15 ng/mL, $p < 0.001$; Фигура 27). Налице са еднопосочни отклонения в плазмените нива на F1+2 и FPA, следващи тенденцията на тези, установени при по-горе представените FX, FV и FII.



Фигура 26. Сравнение на плазмени нива на F1+2 при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли



Фигура 27. Сравнение на плазмените нива на FPA при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли

Добре известно е, че F1+2 се освобождава при превръщане на протромбин в активната му форма тромбин – ключова стъпка в общия краен път на коагулационната каскада. Протромбиновият фрагмент F1+2 има голяма клинична значимост, тъй като директното измерване на тромбин среща трудности (Haerberli, 1999). Количественото измерване на показателя е надежден метод за измерване на тромбиновия синтез, а стойностите ѝ - *специфичен и точен маркер на тромбин образуването in vivo* (Bauer et al., 1988; Van der Poll et al., 1990). Ето защо F1+2 позволява добро мониториране на тромбиновия синтез. От своя страна, плазмените нива на FPA се считат за *добър маркер на тромбиновата активност*. Получени при протеолитичното разграждане на фибриногеновата молекула под действието на тромбин, те дават възможност за индиректна оценка на последната стъпка на коагулационната каскада, а именно превръщането на фибриноген във фибрин (Haerberli, 1999).

Специфичните особености при получаване определят F1+2 и FPA като ранни маркери на активирана коагулация. Считат се като добър диагностичен показател при търсене на тромботични състояния. Прецизната селекция на участниците в нашето проучване ни дава сериозна предпоставка да считаме високите нива на F1+2 и FPA като свързани със самото заболяване и представящи прокоагулантни промени, произтичащи

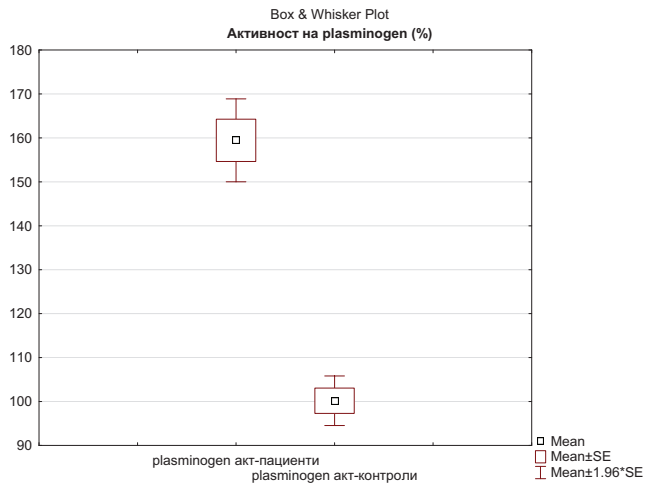
от него. Налице е безспорно засилено генериране на тромбин, видно от високите стойности на F1+2 – индиректен показател на тромбинов синтез ($p < 0.001$; Фигура 26). Установява се и повишена негова активност, водеща до усилено образуване на фибрин, в хода на което се генерира значимо количество FPA ($p < 0.001$; Фигура 27).

Еднопосочните отклонения в изследваните показатели FXa, FVa, FIIa, F1+2 и FPA дават основание да считаме, че кратката изява на пароксизмално предсърдно мъждене (продължителност на епизода ≤ 24 часа) има прокоагулантен ефект. Те показват *тенденция към хиперкоагулабилитет изключително рано* в хода на заболяването, което е безспорна предпоставка за тромбообразуване.

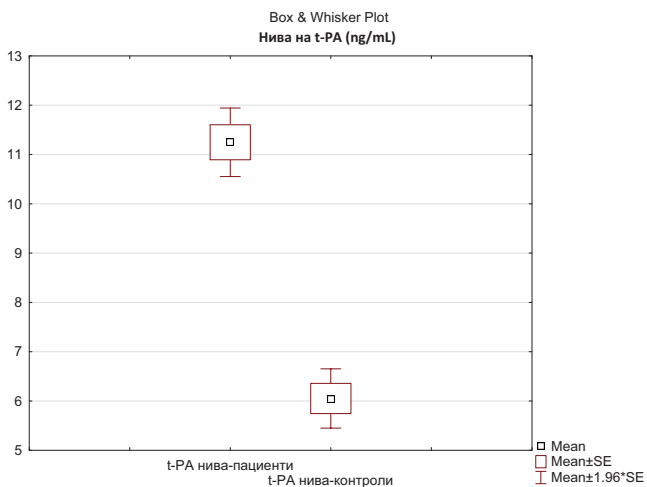
Обобщеният анализ на резултатите представени в т. 2.1, т. 2.2 и т. 2.3 дава обективно основание да считаме, че кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене се асоциират със значимо повишена активност на коагулационната система, която има своята специфика и системен характер. Наблюдава се хиперкоагулабилитет, който е безспорна предпоставка за тромбообразуване при кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене.

3. Отклонения в основни регулатори и показатели на фибринолиза - плазминоген, t-PA, PAI-1, $\alpha 2$ -антиплазмин и витронектин и плазмено ниво на Д-димер

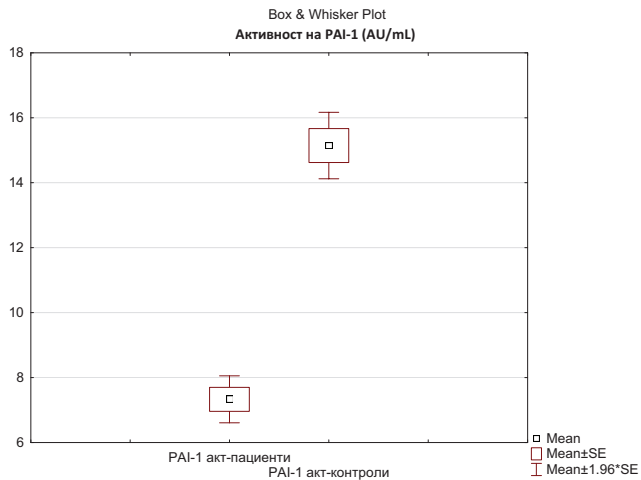
Както е видно от Фигура 28 и Фигура 29, активността на плазминоген ($159.40 \pm 4.81\%$ vs $100.20 \pm 2.88\%$, $p < 0.001$; Фигура 28) и нивата на t-PA (11.25 ± 0.35 ng/mL vs 6.05 ± 0.31 ng/mL, $p < 0.001$; Фигура 29) бяха значимо по-високи в пациентската група сравнено с контролната. Активността на PAI-1 (7.33 ± 0.37 AU/mL vs 15.15 ± 0.52 AU/mL, $p < 0.001$; Фигура 30) и $\alpha 2$ -антиплазмин ($112.92 \pm 2.80\%$ vs $125.60 \pm 3.74\%$, $p < 0.05$; Фигура 31), както и плазмените нива на витронектин (134.73 ± 5.83 mcg/mL vs 287.31 ± 10.44 mcg/mL, $p < 0.001$; Фигура 32) бяха по-ниски при предсърдно мъждене. Обратно на тях, нивата на Д-димер показаха значимо по-високи стойности сред пациентите (0.53 ± 0.07 mg/L vs 0.33 ± 0.02 mg/L, $p < 0.05$, Фигура 33).



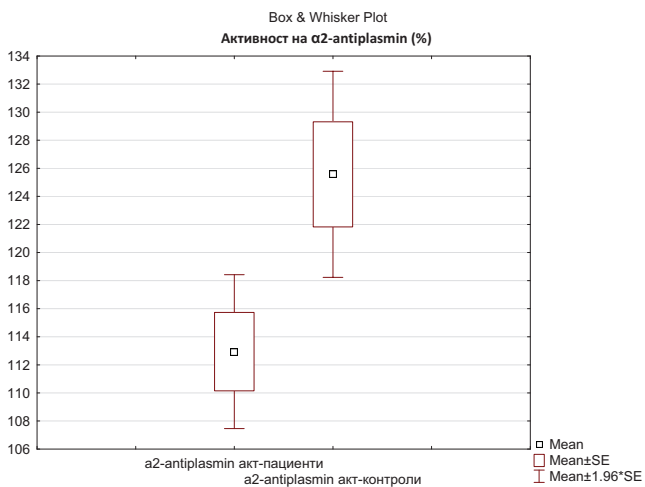
Фигура 28. Сравнение на плазминогенова активност при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (plasminogen акт – плазминогенова активност)



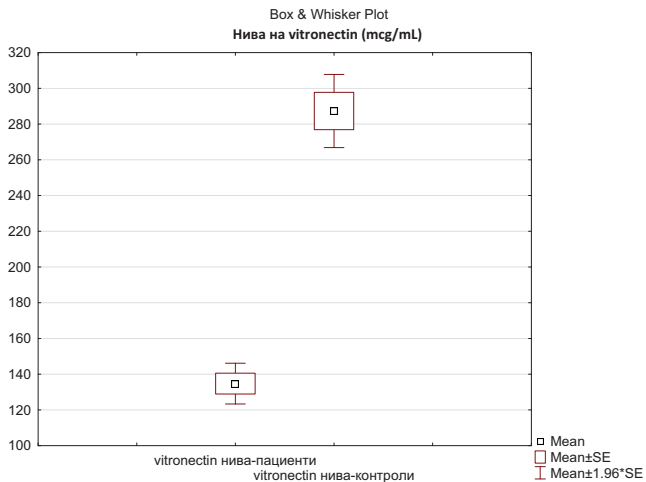
Фигура 29. Сравнение на плазмени нива на общ t-PA при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли



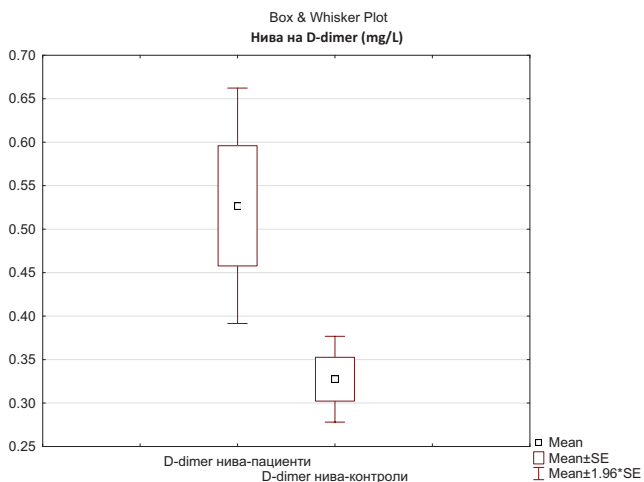
Фигура 30. Сравнение на плазмена активност на PAI-1 при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (PAI-1 акт – PAI-1 активност)



Фигура 31. Сравнение на плазмена активност на α 2-антиплазмин при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (α 2-antiplasmin акт - активност на α 2-антиплазмин)



Фигура 32. Сравнение на плазмени нива на витронектин при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (vitronectin - витронектин)



Фигура 33. Сравнение на плазмени нива на Д-димер при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене и контроли (D-dimer – Д-димер)

Като основен източник на плазмени протеини и основно място на техен клирънс, черният дроб изпълнява значима роля в регулиране функциите на фибринолитична система (Raum et al., 1980). Отговорен за плазминогеновия синтез, той има способността да повлиява фибринолитичната каскада още в нейното начало. Високите плазмени нива на плазминоген, установени при пациентите с пароксизмално предсърдно мъждене, предполагат засилен чернодробен синтез на проензима в ранните часове от клиничната изява на заболяването ($p < 0.001$; Фигура 28). Същевременно, добре известно е, че циркулиращият свободно в плазма плазминоген е ключова за фибринолизата молекула. Той представлява зимогенна форма на активната серинна протеаза плазмин, иницираща разцепване на фибриновата мрежа (Rijken & Lijnen, 2009; Al-Horani & Desai, 2014). В този смисъл, повишените нива на плазминоген сами по себе си са предпоставка за повишено образуване на плазмин и инициране на фибринолитичния процес.

Превръщането на плазминоген в плазмин става под действието на два имунологично различни физиологични активатора - t-PA и u-PA, като последният действа основно екстраваскуларно (Al-Horani, 2014). Това определя t-PA като основен инициатор на фибринолизата, в хода на която фибриновата мрежа се разцепва до разнообразие от разтворими FDPs в това число и Д-димер (Dobrovolsky & Titaeva, 2002; Mosnier & Bouma, 2006). Именно този факт беше предпоставка за избора на t-PA за целите на проучването, като бяха изследвани нивата на общия t-PA. Добре известно е, че той включва в себе си две форми, а именно активен свободен t-PA и неактивен, свързан основно в комплекс с PAI-1 (Chandler et al., 1990). Ето защо установените от нас високи плазмени нива на тъканния активатор ($p < 0.001$, Фигура 29) могат да бъдат следствие на промени във всяка една от двете фракции. Редно е да отбележим, че метаболизмът на t-PA в човешкия организъм притежава някои характерни особености. Значима част от него циркулира като неактивна форма в рамките на комплекса t-PA/PAI-1, причина за което са високите плазмени концентрации на специфичния за t-PA инхибитор PAI-1 (Chandler et al., 1997). Промени в активността и/или количеството на PAI-1 водят до промени в нивата на комплекса t-PA/PAI-1. В този смисъл измерената ниска активност на PAI-1 в пациентската група определя значимо намалена инхибиция на t-PA и съответно понижени нива на комплекса t-PA/PAI-1 ($p < 0.001$, Фигура 30). Ето защо считаме, че високите стойности на общия t-PA при пароксизмално предсърдно мъждене са за сметка преди всичко на повишени нива на свободния t-PA. Именно той проявява ензимна активност и се явява основен регулатор

при инициране на фибринолизата (Nordenhem & Wiman, 1998). Високите плазмени нива на общия t-PA, заедно с дискутираните вече ниска PAI-1 активност и високи стойности на плазминоген, предполагат усилено t-PA-активиране на проензимната форма на плазмин в изследваната от нас пациентска група.

Фибринолитичният процес зависи в голяма степен от деликатния баланс между протеази и инхибитори. Той може да се инхибира по два основни механизми: инхибиране на плазминогенова активация от инхибитори на плазмогенния активатор (PAIs) или инхибиране на плазмин от α 2-антиплазмин (Dubis & Witkiewicz, 2010). Физиологично най-важният t-PA инхибитор е PAI-1, тъй като активната му форма бързо и необратимо инхибира t-PA (Mehta & Shapiro, 2008). Алфа2-антиплазминът, отговорен за около 90% от плазминовата инхибиция, има способността бързо да инактивира плазмин, образувайки с него стабилен неактивен комплекс (Carpenter & Mathew, 2008; Mutch et al., 2007). Активността на PAI-1 и α 2-антиплазмин определят степента на инхибиране на протеазите t-PA и плазмин, есенциални за разцепване на фибриновата мрежа в тромба (Arroyo De Prada et al., 2002). В този смисъл едновременното изследване на t-PA и α 2-антиплазмин е неотменна част от оценката на фибринолитичната система. Подобно на PAI-1, α 2-антиплазмин проявява по-ниска активност в изследваната пациентска група сравнено с контролната ($p < 0.001$, Фигура 30; $p < 0.05$, Фигура 31, съответно). Тези данни имат изключително важно клинично значение. Те допълват представените вече резултати и дават точна информация за интимните регулаторни механизми на фибринолитичната каскада в изследваната от нас група с предсърдно мъждене. *Намалена е активността на двата основни пътя за инхибиране на фибринолизата, а именно тази на PAI-1 и на α 2-антиплазмин.*

В този смисъл следва да се разглеждат и понижените нива на витронектин в пациентската група ($p < 0.001$, Фигура 32). Както е добре известно той е индиректен, некаталитичен инхибитор на плазминогеновата протеолиза до плазмин (Zhou et al., 2004). Взаимодействието му с активния PAI-1 води до стабилизиране структурата на последния, удължаване и засилване инхибиторния му ефект върху t-PA (Zhou, 2007). Ниските стойности на показателя биха могли да обяснят намалената активност на PAI-1. Нещо повече, те допълват разгледаните вече фибринолитични показатели и заедно с тях дават основание да се приеме, че е налице повишено превръщане на плазминогена в плазмин, и следователно *повишена фибринолитична активност при кратките (≤ 24 часа) епизоди на ритъмното нарушение.*

Това предположение намира пряко потвърждение в резултатите, получени при изследване на Д-димер ($p < 0.05$; Фигура 33). Молекулата представлява директен продукт от образуване и последвало лизиране само на свързания с FXIII кръстосан фибрин в тромба, за разлика от други FDPs, получени при разграждане и на други коагулационни протеини като фибриноген. В този смисъл Д-димер е специфичен лабораторен маркер, представящ точно интраваскуларното образуване на фибрин и неговото последвало разцепване (Adam et al., 2009). Плазмените му нива отразяват както ефективно активирана коагулация (завършено фибринообразуване), така и процеса на фибринолиза (Sadanaga et al., 2010). *В този смисъл високите плазмени нива на Д-димер са абсолютно допълнение и потвърждение на представените резултати в т.2. и т.3 от „Резултати и дискусия“, а именно кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене са протромбозно състояние. Те се асоциират с хиперкоагулабилитет при повишена активност на коагулационна и фибринолитична система. Ранните промени във фибринолитичната активност, следствие на усилен синтез на плазмин и намалена активност на фибринолитичните инхибитори PAI-1 и $\alpha 2$ -антиплазмин, най-вероятно са патофизиологичен отговор на хиперкоагулация.*

4. Адекватност на обема на изследваните групи – анализ на мощността на t-критерий за коагулационни и фибринолитични отклонения

Критичен момент за всяко изследване е обемът на извадката, която е определяща за достоверността на направените изводи (Bland, 2000; Mungo, 2005). Анализът на неправилен размер извадка може напълно да компрометира проучване.

По-долу на Таблица 13 е показана мощността на t-критерия за тестване хипотезата за равенство на средните стойности (при пациенти и контроли) на всеки изследван хемостазен показател при ниво на съгласие 0.05. Резултатите показват, че е налице много добра статистическа мощност на t-критерия (> 0.9) при използвания от нас размер на извадката (обем на пациентска и контролна група), с изключение за плазмените нива на FVIII, където мощността е гранична (0.79).

Таблица 13. Мощност на *t*-критерия за две независими извадки при представените средни стойности и *SD* на изследваните хемостазни показатели

Хемостазен показател	Ср. стойност ±SD при пациенти	Ср. стойност ±SD при контроли	Мощност на критерия
FII акт (%)	167.81 ± 65.12	100.43 ± 41.61	0.99
FV акт (%)	198.47 ± 77.68	121.53 ± 34.45	0.99
FVII акт (%)	170.82 ± 59.39	95.17 ± 37.90	0.99
FVIII акт (%)	200.03 ± 89.18	109.73 ± 35.36	0.99
vWF акт (%)	200.92 ± 46.33	110.80 ± 37.10	0.99
FIX акт (%)	170.43 ± 84.61	117.72 ± 42.53	0.99
FX акт (%)	193.20 ± 84.61	116.20 ± 42.27	0.99
FXI акт (%)	178.41 ± 55.94	111.75 ± 37.33	0.99
FXII акт (%)	218.31 ± 84.04	148.41 ± 53.94	0.98
TF нива (pg/mL)	268.63 ± 90.62	170.21 ± 66.19	0.99
FVIII нива (%)	107.52 ± 31.13	93.85 ± 21.15	0.79
vWF нива (%)	178.40 ± 92.50	119.53 ± 44.15	0.89
F1+2 нива (pmol/L)	292.61±100.18	183.40 ± 60.41	0.99
FPA нива (ng/mL)	4.47 ± 1.78	3.09 ± 1.11	0.97
Плазминоген акт (%)	159.40 ± 34.36	100.20 ± 20.75	1.00
t-PA нива (ng/mL)	11.25 ± 2.53	6.05 ± 2.21	1.00
PAI-1 акт (AU/mL)	7.33 ± 2.63	15.15 ± 3.76	1.00
α2-антиплазмин акт (%)	112.95 ± 19.96	125.57 ± 26.74	0.85
Витронектин нива (mcg/mL)	134.70 ± 41.63	287.30 ± 75.27	1.00
Д-димер нива (mg/L)	0.53 ± 0.49	0.33 ± 0.18	0.80

В обобщение, направеният анализ на мощността показва, че *броят на селектираните участници за всяка група е достатъчен и адекватен при получените средни стойности и SD на изследваните коагулационни и фибринолитични показатели. Представените резултати и направени изводи са надеждни и описват коректно хемостазните промени в изследваните популации, а не са случайна находка или резултат от експериментална грешка.*

5. Тромбоемболична рискова характеристика дефинирана от оценъчен модел CHA₂DS₂-VASc score – влияние върху коагулационни и фибринолитични показатели

При пароксизмално предсърдно мъждане клиничната и демографска характеристика на пациента, представена в оценъчната скала CHA₂DS₂-VASc score, има безспорна роля за формиране на дългосрочен тромбоемболичен риск, така както при продължителните форми на заболяването (L. Chen et al., 2018; Hindricks et al., 2021). Липсва яснота обаче относно значението ѝ за перипроцедурния тромбоемболичен потенциал на пароксизмалните епизоди предсърдно мъждане и перипроцедурния антикоагулантен подход при тях, като уточняването на този въпрос е от съществена клинична значимост за пациентите, при които няма индикации за дългосрочна антикоагулация. Перипроцедурният тромбоемболичен риск е основно функция на протромбозните отклонения, възникнали в хода на самия епизод и в тази връзка решихме да проучим значението на тромбоемболичната рискова характеристика, представена чрез CHA₂DS₂-VASc score, за перипроцедурния тромбоемболичен потенциал като изследваме влиянието ѝ върху коагулационния статус на анализираната от нас пациентска група. За целта разделихме групата на две подгрупи, а именно подгрупа на нискорискови пациенти, непоказани за дългосрочна антикоагулация (CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже и 1 при жени) и подгрупа на всички останали пациенти, а именно с повишен тромбоемболичен риск и показания за дългосрочна антикоагулация (≥ 1 рисков фактор извън полова характеристика). Сравнихме стойностите на показателите при всяка една от подгрупите с контролната група, както и двете групи помежду им.

Таблица 14. Сравняване стойностите на коагулационни и фибринолитични показатели при пациенти с нисък риск спрямо контролна група

Изследван показател	Пациенти с CHA ₂ DS ₂ - VAsC score = 0 при мъже и 1 при жени	Контролна група	P стойност
FII акт (%)	151.57 ± 17.42	100.43 ± 5.77	<0.05
TF нива (pg/mL)	263.01 ± 25.55	170.21 ± 9.18	<0.05
FV акт (%)	175.82 ± 19.72	121.53 ± 4.79	<0.05
FVII акт (%)	184.33 ± 15.87	95.17 ± 5.26	<0.05
FVIII нива (%)	114.82 ± 8.62	93.85 ± 2.93	<0.05
FVIII акт (%)	177.63 ± 18.88	109.73 ± 4.90	<0.05
vWF нива (%)	163.00 ± 22.96	119.53 ± 6.12	<0.05
vWF акт (%)	184.61 ± 25.25	110.80 ± 5.14	<0.05
FIX акт (%)	166.41 ± 14.12	117.72 ± 5.95	<0.05
FX акт (%)	169.10 ± 23.37	116.20 ± 5.86	<0.05
FXI акт (%)	184.52 ± 15.69	111.75 ± 5.50	<0.05
FXII акт (%)	222.53 ± 24.12	148.41 ± 7.48	<0.05
F1+2 нива (pmol/L)	289.30 ± 29.18	183.40 ± 8.38	<0.05
FPA нива (ng/mL)	4.24 ± 0.47	3.09 ± 0.15	<0.05
Плазминоген акт (%)	158.72 ± 5.33	100.20 ± 2.88	<0.05
t-PA нива (ng/mL)	11.11 ± 0.45	6.05 ± 0.31	<0.05
PAI-1 акт (AU/mL)	7.30 ± 0.43	15.15 ± 0.52	<0.05
α2-антиплазмин акт (%)	108.80 ± 3.08	125.6 ± 3.74	<0.05
Витронектин нива (mcg/mL)	135.07 ± 6.73	287.31 ± 10.44	<0.05
Д-димер нива (mg/L)	0.47 ± 0.09	0.33 ± 0.02	<0.05

Резултатите, получени при сравняване стойностите на показателите в двете подгрупи с контролната група, са представени на Таблица 14 и Таблица 15. В пациентската подгрупа с нисък риск стойностите на всички двадесет показатели се различаваха значимо от тези на контролите ($p < 0.05$, Таблица 14), като отклоненията бяха еднопосочни с тези установени между цялата пациентска група и контролната ($p < 0.05$, Фигури 14-33).

Това даде основание за считаме, че при нискорисковите пациенти в хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене настъпват протромбозни отклонения в коагулационния статус, подобно на цялата пациентска група. Почти идентични отклонения се установяват и в пациентската подгрупа с повишен тромбоемболичен риск. Всички изследвани показатели, с изключение на плазмена активност на $\alpha 2$ -антиплазмин ($p > 0.05$, Таблица 15) се различаваха значимо от тези в контролната ($p < 0.05$, Таблица 15), като отклоненията отново бяха еднопосочни с тези при цялата пациентска популация ($p < 0.05$, Фигури 14-33). Налице е протромбозно отклонение в коагулацията и при пациентската подгрупа с CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 (извън полова характеристика). Оказва се, че кратките епизоди (≤ 24 часа) на заболяването се асоциират с хиперкоагулабилитет както при нискорисковите пациенти, така и при тези с повишен тромбоемболичен риск. Определящ за тромбоемболичния потенциал на заболяването по време на самия епизод и непосредствено след него, той дава основание да приемем, че кратките епизоди пароксизмално предсърдно мъждене обуславят повишен перипроцедурен тромбоемболичен риск дори при пациенти с CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже и 1 при жени.

Сравняване стойностите на изследваните хемостазни показатели между двете подгрупи пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене установи значима разлика единствено в плазмената активност на $\alpha 2$ -антиплазмин, която се оказва значимо по-ниска в нискорисковата подгрупа, непоказана за дългосрочна антикоагулантна превенция ($p < 0.05$, Таблица 16). Останалите показатели не представиха съществени различия в двете подгрупи ($p > 0.05$, Таблица 16). Тези резултати ни дават основание да приемем, че в хода на ранната (≤ 24 часа) клинична изява на заболяването между нискорисковите пациенти (CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже и 1 при жени) и тези с повишен тромбоемболичен риск (CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 рисков фактор извън полова характеристика) няма съществени различия в коагулационния статус, определящ хиперкоагулабилитет и в двете подгрупи.

Таблица 15. Сравняване стойностите на коагулационни и фибринолитични показатели при пациенти с повишен тромбоемболически риск спрямо контролна група

Изследван показател	Пациенти с CHA ₂ DS ₂ -VASc score \geq 1 (извън пол)	Контролна група	P стойност
FII акт (%)	173.32 \pm 10.67	100.43 \pm 5.77	<0.05
TF нива (pg/mL)	270.53 \pm 14.81	170.21 \pm 9.18	<0.05
FV акт (%)	206.11 \pm 12.85	121.53 \pm 4.79	<0.05
FVII акт (%)	166.21 \pm 9.76	95.17 \pm 5.26	<0.05
FVIII нива (%)	105.00 \pm 5.06	93.85 \pm 2.93	<0.05
FVIII акт (%)	207.70 \pm 13.34	109.73 \pm 4.90	<0.05
vWF нива (%)	183.62 \pm 15.58	119.53 \pm 6.12	<0.05
vWF акт (%)	206.53 \pm 14.45	110.80 \pm 5.14	<0.05
FIX акт (%)	171.76 \pm 7.58	117.72 \pm 5.95	<0.05
FX акт (%)	201.44 \pm 13.67	116.20 \pm 5.86	<0.05
FXI акт (%)	176.34 \pm 9.39	111.75 \pm 5.50	<0.05
FXII акт (%)	216.90 \pm 13.65	148.41 \pm 7.48	<0.05
F1+2 нива (pmol/L)	293.70 \pm 16.20	183.40 \pm 8.38	<0.05
FPA нива (ng/mL)	4.55 \pm 0.29	3.09 \pm 0.15	<0.05
Плазминоген акт (%)	161.65 \pm 11.03	100.20 \pm 2.88	<0.05
t-PA нива (ng/mL)	11.67 \pm 0.46	6.05 \pm 0.31	<0.05
PAI-1 акт (AU/mL)	7.46 \pm 0.74	15.15 \pm 0.52	<0.05
α 2-антиплазмин акт (%)	125.17 \pm 5.07	125.6 \pm 3.74	>0.05
Витронектин нива (mcg/mL)	133.90 \pm 12.12	287.31 \pm 10.44	<0.05
Д-димер нива (mg/L)	0.55 \pm 0.09	0.33 \pm 0.02	<0.05

Таблица 16. Средни стойности \pm SE на коагулационни и фибринолитични показатели при пациенти с нисък и с повишен тромбоемболичен риск*

Изследван показател	Пациенти с CHA ₂ DS ₂ -VASc score = 0 при мъже и 1 при жени*	Пациенти с CHA ₂ DS ₂ -VASc score \geq 1 (извън пол)*	P стойност
ФП акт (%)	151.57 \pm 17.42	173.32 \pm 10.67	>0.05
TF нива (pg/mL)	263.01 \pm 25.55	270.53 \pm 14.81	>0.05
FV акт (%)	175.82 \pm 19.72	206.11 \pm 12.85	>0.05
FVII акт (%)	184.33 \pm 15.87	166.21 \pm 9.76	>0.05
FVIII нива (%)	114.82 \pm 8.62	105.00 \pm 5.06	>0.05
FVIII акт (%)	177.63 \pm 18.88	207.70 \pm 13.34	>0.05
vWF нива (%)	163.00 \pm 22.96	183.62 \pm 15.58	>0.05
vWF акт (%)	184.61 \pm 25.25	206.53 \pm 14.45	>0.05
FIX акт (%)	166.41 \pm 14.12	171.76 \pm 7.58	>0.05
FX акт (%)	169.10 \pm 23.37	201.44 \pm 13.67	>0.05
FXI акт (%)	184.52 \pm 15.69	176.34 \pm 9.39	>0.05
FXII акт (%)	222.53 \pm 24.12	216.90 \pm 13.65	>0.05
F1+2 нива (pmol/L)	289.30 \pm 29.18	293.70 \pm 16.20	>0.05
FPA нива (ng/mL)	4.24 \pm 0.47	4.55 \pm 0.29	>0.05
Плазминоген акт (%)	158.72 \pm 5.33	161.65 \pm 11.03	>0.05
t-PA нива (ng/mL)	11.11 \pm 0.45	11.67 \pm 0.46	>0.05
PAI-1 акт (AU/mL)	7.30 \pm 0.43	7.46 \pm 0.74	>0.05
α 2-антиплазмин акт (%)	108.80 \pm 3.08	125.17 \pm 5.07	<0.05
Витронектин нива (mcg/mL)	135.07 \pm 6.73	133.90 \pm 12.12	>0.05
Д-димер нива (mg/L)	0.47 \pm 0.09	0.55 \pm 0.09	>0.05

* Дефинирането на тромбоемболичната рискова характеристика на пациентите е извършено в съответствие с препоръките на Европейското дружество по кардиология от 2020 год

Обобщавайки данните представени на Таблицы 14-16, считаме за основателно да направим извода, че клиничната изява на кратките (\leq 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене се асоциира със значими протромбозни отклонения в коагулационния статус, които не се предопределят от влошената тромбоемболична рискова характеристика

на пациентите (CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 рисков фактор извън полова характеристика), основна детерминанта за тромбоемболичния риск в дългосрочен план. Тромбоемболичната рискова характеристика не обуславя ранния хиперкоагулабилитет, възникващ в хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждане, което е основа да считаме, че тя няма значимо отношение към произтичащия от него повишен перипроцедурен тромбоемболичен риск. В този смисъл считаме, че е уместно провеждане на перипроцедурна антикоагулация до възстановяване на коагулационния баланс при всички пациенти с кратък епизод предсърдно мъждане (≤ 24 часа), вкл. при нискорисковите, при които липсват индикации за дългосрочна такава. Относно продължителността ѝ, допустимо е да се приеме 4 седмичен период след възстановяване на синусов ритъм, което ще бъде в съответствие с установените времеви интервали за лизиране на всяко хиперкоагулантно състояние, към момента възприети в добрата клинична практика (Goldman et al., Hindricks et al., 2021; 1999; Kleemann et al., 2009; Oltrona et al., 1997; Rankin & Rankin, 2017; Stoddard et al., 1995). Приложението ѝ разбира се трябва да е съобразено изцяло с добрата клинична практика и в този смисъл обсъждано само при приемлив HAS-BLED score риск от кървене (Hindricks et al., 2021).

Относно наблюдаваните изключения в активността на $\alpha 2$ -антиплазмин от общата тенденция (Таблица 15, Таблица 16) считаме, че не противоречат на направения обобщаващ анализ, но предполагат допълнителни подългосрочни проучвания за изясняване научната им и клинична стойност.

Съвременните препоръки на Европейското дружество по кардиология за профилактика на перипроцедурните тромбоемболични инциденти след кратки (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждане при пациенти нисък тромбоемболичен риск (CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже и 1 при жени) не са категорични и дават възможност тя да бъде пропусната (IIb клас препоръка; C ниво на доказателство) (Hindricks et al., 2021). Основание за това са противоречивите резултати относно честотата на тромбоемболични инциденти след такива епизоди (Airaksinen et al., 2013; Garg et al., 2016; Hansen et al., 2015; Kleeman et al., 2009; Palomäki et al., 2016; Själander et al., 2016). Една от вероятните причини за това е клиничната хетерогенност на изследваните пациентски популации и обичайно значимо по-високия CHA₂DS₂-VASc score риск при пациенти с антикоагулантно лечение. Прави впечатление също така, че провежданите проучвания в тази насока сравняват директно честотата на тромбоемболични инциденти в различни категории на тромбоемболичен риск според CHA₂DS₂-VASc score, най-често дефиниран съобразно IA клас

препоръките на Европейското дружество по кардиология за необходимост от дългосрочна орална антикоагулация. Не е изследвана обаче пряко връзката между патофизиологичния субстрат, предопределящ изявата им, а именно коагулационният статус, и клиничната тромбоемболична рискова характеристика на пациентите, дефинирана обичайно от CHA₂DS₂-VASc score модела. Нашето проучване е първото, което представя резултати в тази насока, а изследваните пациенти са селектирани при спазване на строги критерии с цел да бъде избегнат ефекта от обичайната коморбидност на проучваните популации. Това прави резултатите обективни и надеждни.

6. Зависимост на коагулационни и фибринолитични показатели от продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене

С помощта на линеен регресионен анализ представихме стойностите на всички изследвани показатели като функция на времето. Използвахме уравнението на проста линейна регресия с един предиктор (*виж „Материал и методи“*) за да създадем модели за прогнозиране на промените в изследваните показатели в зависимост от продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене.

На Таблица 17 са показани изчислените коефициенти b_0 и b_1 от получените уравнения на проста линейна регресия, както и стойностите на r и r^2 . Графично са представени само моделите на уравненията със статистически значима корелация, в които продължителността на епизода е значим предиктор за отклонения в стойностите на показателите (Фигури 37 - 43). Силна корелация беше установена при коагулационната активност на FII ($r=0.83$, $p(b_1)<0.001$; Фигура 37, Таблица 17). Такава беше налице и при плазмените нива и коагулационна активност на FVIII ($r=0.85$, $p(b_1)<0.001$; $r=0.83$, $p(b_1)<0.001$; Фигури 38 и 39, Таблица 17). FIXа показа по-слаба зависимост ($r=0.39$, $p(b_1)=0.04$; Фигура 40, Таблица 17). Линеините регресионни модели относно коагулационната активност на FXII ($r=0.78$, $p(b_1)<0.001$; Фигура 41, Таблица 17), плазмените нива на F1+2 ($r=0.83$, $p(b_1)<0.001$ (Фигура 42, Таблица 16) и FPA ($r=0.84$, $p(b_1)<0.001$; Фигура 43, Таблица 17) също представиха силна взаимовръзка между показателите и продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене. Коефициентът на детерминация r^2 , изчислен за всеки показател, сочи, че 68%, 69% и 61% от измененията в плазмената активност на FII, FVIII и FXII съответно се дължат именно на изменението на давността на

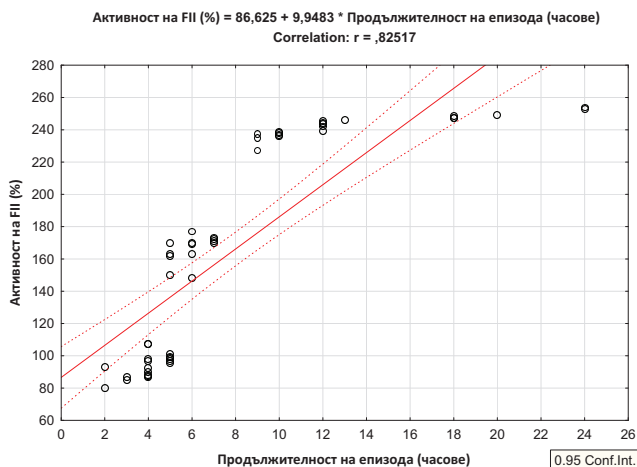
аритмията. Относно плазмените нива на FVIII, F1+2 и FPA този процент беше 72%, 68% и 70%, докато при FIX - едва 15%.

Таблица 17. *Параметри на регресионния модел за линейна зависимост между изследвани хемостазни показатели и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене*

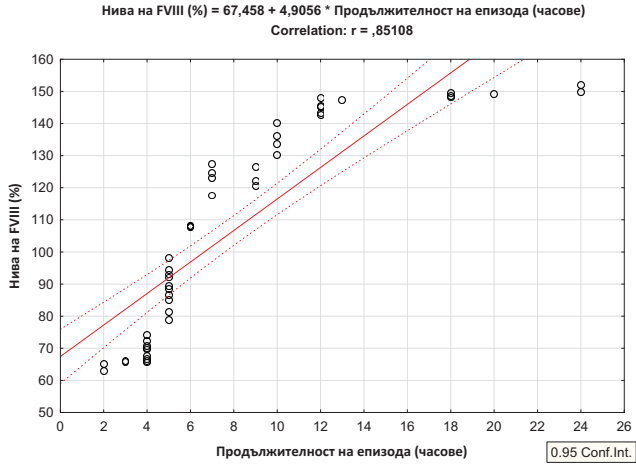
Изследван показател	b_0^*	b_1^*	r^*	r^2^*
FP акт (%)	86.63, p<0.001	9.95, p<0.001	0.83	0.68
TF нива (pg/mL)	245.53, p<0.001	2.83, p=0.24	0.16	0.03
FV акт (%)	211.23, p<0.001	1.57, p=0.44	0.10	0.01
FVII акт (%)	189.01, p<0.001	2.23, p=0.15	0.20	0.04
FVIII нива (%)	67.46, p<0.001	4.91, p<0.001	0.85	0.72
FVIII акт (%)	100.29, p<0.001	12.23, p<0.001	0.83	0.69
vWF нива (%)	198.97, p>0.05	-2.53, p=0.30	-0.14	0.02
vWF акт (%)	217.79, p<0.001	-2.07, p=0.38	-0.12	0.01
FIX акт (%)	150.48, p<0.001	2.45, p=0.04	0.39	0.15
FX акт (%)	207.26, p<0.001	-1.73, p=0.44	-0.11	0.01
FXI акт (%)	195.63, p<0.001	2.11, p=0.15	0.20	0.04
FXII акт (%)	118.84, p<0.001	12.20, p<0.001	0.78	0.61
F1+2 нива (pmol/L)	167.68, p<0.001	15.31, p<0.001	0.83	0.68
FPA нива (ng/mL)	2.22, p<0.001	0.28, p<0.001	0.84	0.70
Плазминоген акт (%)	158.34, p=0.09	0.14, p=0.88	0.02	0.01
t-PA нива (ng/mL)	11.11, p=0.10	0.02, p=0.80	0.04	0.01
PAI-1 акт (AU/mL)	7.61, p=0.20	-0.03, p=0.63	-0.07	0.01
α 2-антиплазмин акт (%)	110.27, p=0.06	0.33, p=0.54	0.09	0.01
Витронектин нива (mcg/mL)	125.24, p=0.08	1.16, p=0.29	0.15	0.02
Д-димер нива (mg/L)	0.65, p=0.33	-0.01, p=0.69	-0.16	0.03

** b_0 – константа (свободен член в регресионното уравнение); b_1 – регресионен коефициент за независимата променлива; r – коефициент на корелация; r^2 – коефициент на детерминация)*

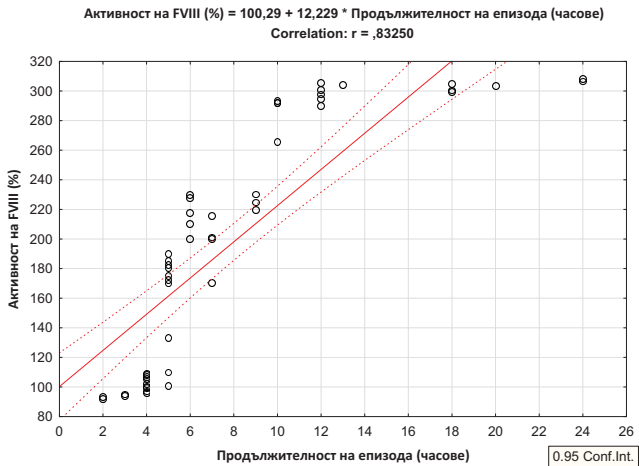
Динамичният характер на установените отклонения съвсем логично поражда специфичен интерес към техния ход, а именно доколко зависимостта е налице за целия наблюдаван период или съществува времеви праг, определящ промяна в него. При получените модели се вижда, че разсейването на наблюденията при пациенти с давност на аритмията >6 часа повлиява точното моделиране на данните от пациентите с давност на пароксизмално предсърдно мъждене ≤6 часа (при 28 пациенти давността на епизода беше ≤6 часа). Ето защо, разделихме пациентите на две подгрупи съобразно времевата характеристика на заболяването: пациенти с давност на ритъмното нарушение ≤6 часа и пациенти с давност на аритмията >6 часа. Така бяха сформирани подгрупи от 28 и 23 пациенти съответно.



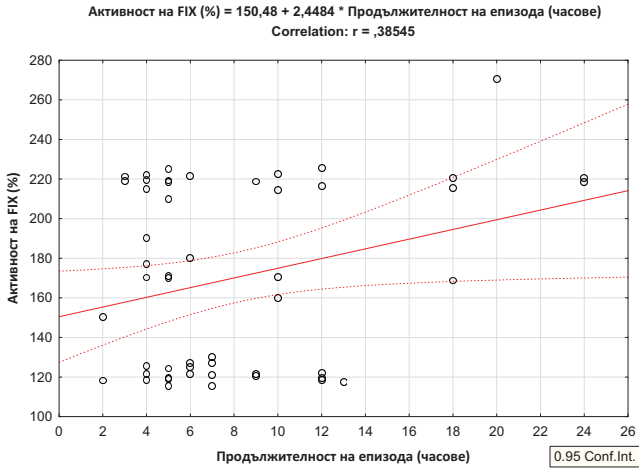
Фигура 37. Корелация между коагулационна активност на FII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



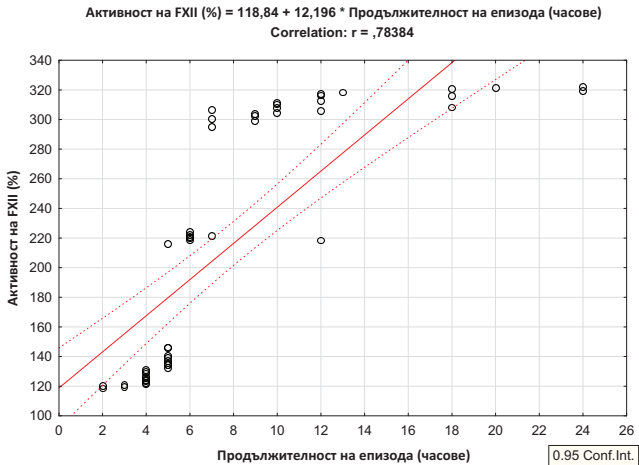
Фигура 38. Корелация между плазмени нива на FVIII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



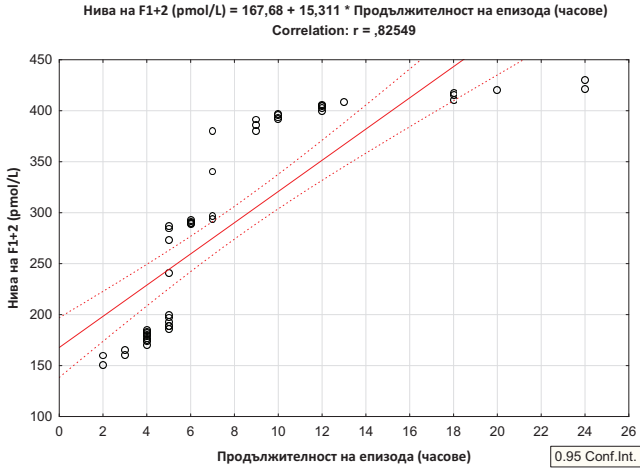
Фигура 39. Корелация между коагулационна активност на FVIII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



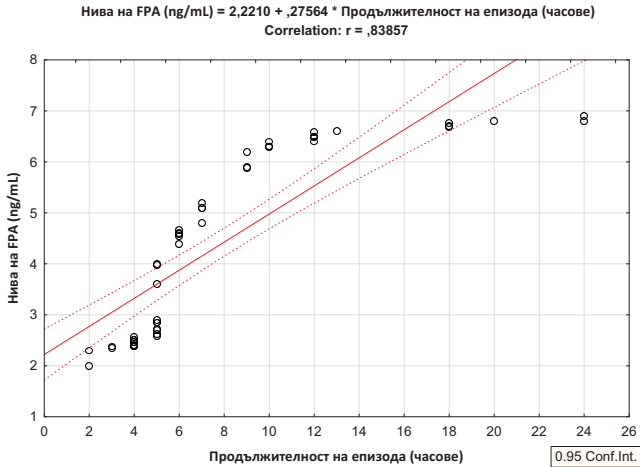
Фигура 40. Корелация между коагулационна активност на FIX и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



Фигура 41. Корелация между коагулационна активност на XII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



Фигура 42. Корелация между плазмени нива на F1+2 и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене



Фигура 43. Корелация между плазмени нива на FPA и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене

Таблица 18. *Параметри на регресионния модел за линейна зависимост между изследвани хемостазни показатели и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването*

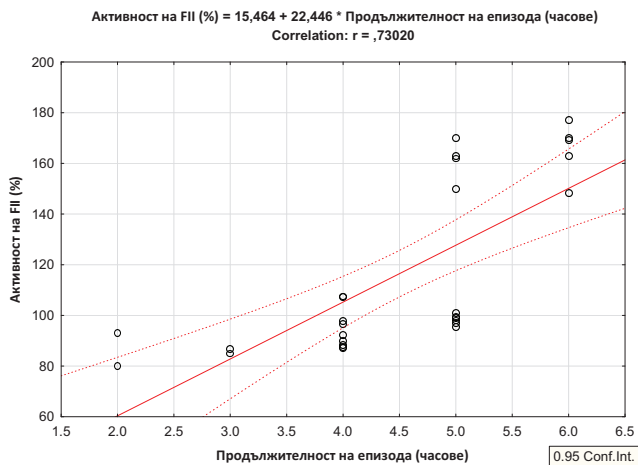
Изследван показател	b_0^*	b_1^*	r^*	r^{2*}
FII акт (%)	15.46, $p < 0.05$	22.45, $p < 0.001$	0.73	0.53
TF нива (pg/mL)	165.05, $p < 0.05$	19.66, $p = 0.04$	0.25	0.06
FV акт (%)	204.82, $p = 0.11$	2.10, $p = 0.88$	0.03	0.01
FVII акт (%)	116.71, $p < 0.05$	14.01, $p = 0.04$	0.25	0.06
FVIII нива (%)	24.66, $p < 0.001$	12.85, $p < 0.001$	0.89	0.79
FVIII акт (%)	-23.89, $p < 0.05$	36.92, $p < 0.001$	0.83	0.69
vWF нива (%)	255.41, $p = 0.08$	-14.52, $p = 0.21$	-0.17	0.03
vWF акт (%)	315.64, $p = 0.11$	-22.29, $p = 0.11$	-0.31	0.10
FIX акт (%)	183.17, $p = 0.07$	3.11, $p = 0.69$	0.08	0.01
FX акт (%)	207.87, $p = 0.09$	-3.79, $p = 0.81$	-0.05	0.01
FXI акт (%)	31.04, $p < 0.05$	26.26, $p < 0.001$	0.75	0.57
FXII акт (%)	27.78, $p < 0.05$	26.95, $p = 0.04$	0.25	0.06
F1+2 (pmol/L)	44.29, $p < 0.05$	37.25, $p < 0.001$	0.81	0.65
FPA (ng/mL)	0.20, $p < 0.05$	0.63, $p < 0.001$	0.81	0.65
Плазминоген акт (%)	132.73, $p = 0.09$	5.80, $p = 0.30$	0.21	0.04
t-PA нива (ng/mL)	13.22, $p = 0.08$	-0.47, $p = 0.24$	0.23	0.05
PAI-1 акт (AU/mL)	8.72, $p = 0.06$	-0.23, $p = 0.62$	-0.10	0.01
$\alpha 2$ -антиплазмин акт (%)	85.02, $p = 0.10$	5.69, $p = 0.15$	0.28	0.08
Витронектин нива (mcg/mL)	77.44, $p = 0.07$	12.72, $p = 0.32$	0.13	0.02
Д-димер нива (mg/L)	0.76, $p = 0.06$	-0.05, $p = 0.49$	-0.13	0.02

** b_0 – константа (свободен член в регресионното уравнение); b_1 – регресионен коефициент за независимата променлива; r – коефициент на корелация; r^2 – коефициент на детерминация)*

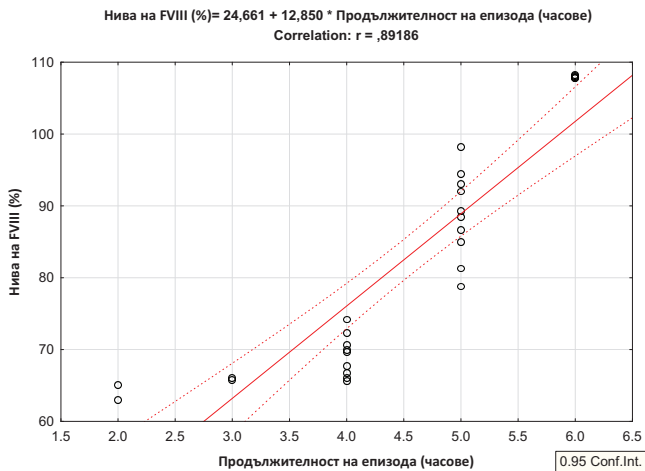
Данните от регресионния анализ, касаещи давност на предсърдно мъждене ≤ 6 часа, са обобщени по-долу на Таблица 18. В първите шест часа от клиничната изява на ритъмното нарушение е налице силна корелация при шест от изследваните показатели, а именно: коагулационна активност на FII ($r = 0.73$, $p(b_1) < 0.001$; Фигура 44, Таблица 18), нива и активност на FVIII ($r = 0.89$, $p(b_1) < 0.001$, Фигура 45, Таблица 18; $r = 0.83$, $p(b_1) < 0.001$,

Фигура 46, Таблица 18, съответно), активност на FXI ($r=0.75$, $p(b_1)<0.001$, Фигура 47, Таблица 18), както и плазмените нива на F1+2 ($r=0.81$, $p(b_1)<0.001$, Фигура 48, Таблица 18) и FPA ($r=0.81$, $p(b_1)<0.001$, Фигура 49, Таблица 18). За три от показателите бе изявена по-слаба корелация: нива на TF ($r=0.25$, $p(b_1)<0.05$, Таблица 18), активност на FVII ($r=0.25$, $p(b_1)<0.05$, Таблица 18) и активност на FXII ($r=0.25$, $p(b_1)<0.05$, Таблица 18). За всички тези девет показателя регресионните модели представят растяща линейна зависимост (с положителен регресионен коефициент b_1), при която с увеличаване продължителността на епизода предсърдно мъждене, нарастват и стойностите им (Таблица 18).

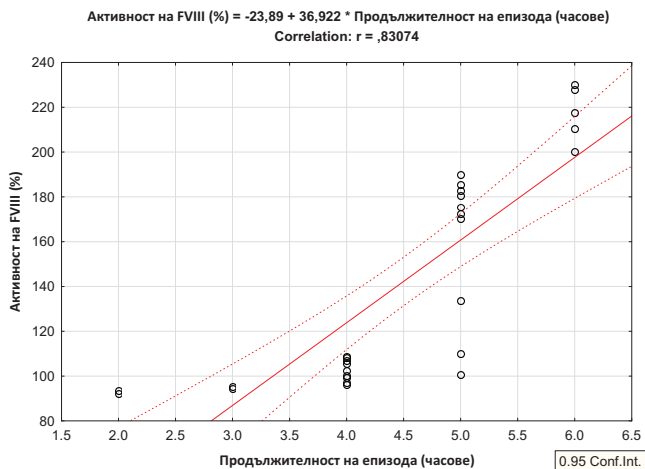
При втората група пациенти с продължителност на епизода >6 часа не беше наблюдавана статистически значима зависимост при стойностите на нито един хемостазен показател ($p>0.05$, Таблица 19). Тези резултати дават основание да считаме, че в изследваната пациентска популация след шестия час от началото на заболяването *давността на предсърдното мъждене не е значим предиктор за плазмените нива и активност на анализираниите коагулационни и фибринолитични показатели.*



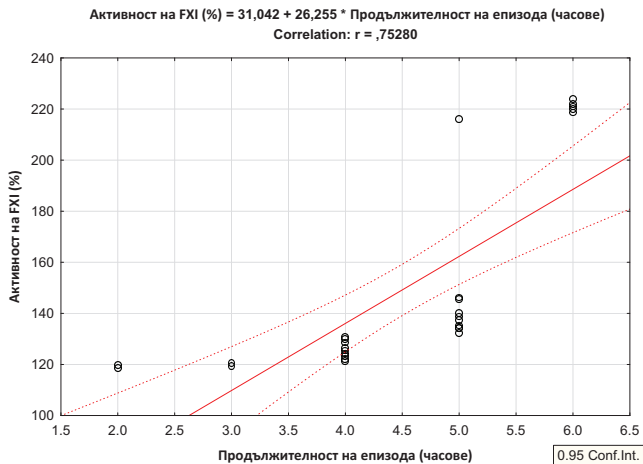
Фигура 44. Корелация между коагулационна активност на FII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването



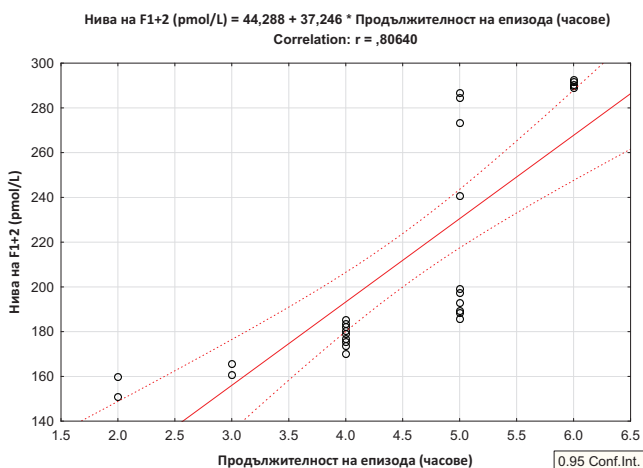
Фигура 45. Корелация между плазмени нива на FVIII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването



Фигура 46. Корелация между коагулационна активност на FVIII и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването

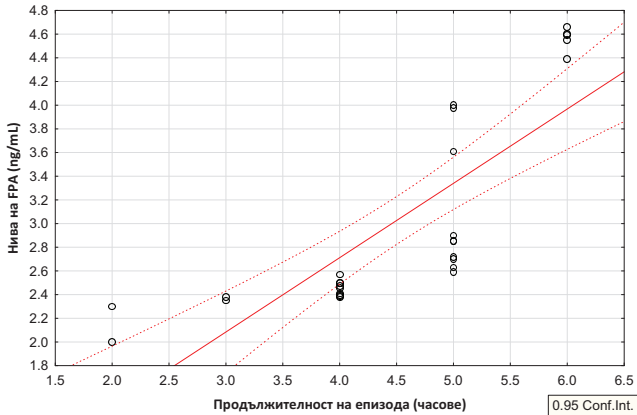


Фигура 47. Корелация между коагулационна активност на FXI и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването



Фигура 48. Корелация между плазмени нива на F1+2 и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването

Нива на FPA (ng/mL) = ,20130 + ,62773 * Продължителност на епизода (часове)
Correlation: r = ,80554



Фигура 49. Корелация между плазмени нива на FPA и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене в рамката на първите 6 часа на заболяването

Таблица 19. Параметри на регресионния модел за линейна зависимост между изследвани хемостазни показатели и продължителност на епизода пароксизмално предсърдно мъждене >6 часа

Изследван показател	b_0^*	b_1^*	r^*	r^2^*
FII акт (%)	142.23, p=0.21	3.05, p=0.15	0.21	0.04
TF нива (pg/mL)	285.62, p=0.47	0.10, p=0.98	0.01	0.01
FV акт (%)	205.74, p=0.11	-0.73, p=0.78	-0.04	0.01
FVII акт (%)	195.63, p=0.32	-2.83, p=0.22	-0.25	0.06
FVIII нива (%)	9.70, p=0.25	1.70, p=0.10	0.24	0.06
FVIII акт (%)	161.68, p=0.07	4.75, p=0.07	0.26	0.07
vWF нива (%)	223.62, p=0.19	-6.02, p=0.06	-0.29	0.09
vWF акт (%)	217.08, p=0.27	-2.14, p=0.46	-0.11	0.01
FIX акт (%)	146.00, p=0.07	3.26, p=0.21	0.312	0.10
FX акт (%)	149.57, p=0.11	5.36, p=0.05	0.28	0.08
FXI акт (%)	175.27, p=0.62	0.82, p=0.72	0.08	0.01
FXII акт (%)	276.49, p=0.08	2.06, p=0.06	0.39	0.16
F1+2 (pmol/L)	195.33, p=0.08	1.76, p=0.38	0.13	0.02

Изследван показател	b_0^*	b_1^*	r^*	r^2^*
FPA (ng/mL)	3.70, p=0.06	0.09, p=0.11	0.23	0.05
Плазминоген акт (%)	163.15, p=0.32	0.23, p=0.88	0.03	0.01
t-PA нива (ng/mL)	11.12, p=0.42	0.02, p=0.86	0.04	0.01
PAI-1 акт (AU/mL)	6.18, p=0.67	0.06, p=0.60	0.12	0.01
$\alpha 2$ -антиплазмин акт (%)	120.82, p=0.09	-0.40, p=0.57	-0.12	0.01
Витронектин нива (mcg/mL)	97.16, p=0.19	2.91, p=0.06	0.41	0.17
Д-димер нива (mg/L)	2.72, p=0.23	-0.10, p=0.54	-0.14	0.018

** b_0 – константа (свободен член в регресионното уравнение); b_1 – регресионен коефициент за независимата променлива; r – коефициент на корелация; r^2 – коефициент на детерминация)*

Обобщавайки резултатите от функционалната зависимост между продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене и стойностите на изследваните коагулационни и фибринолитични показатели, установихме, че по-дългите епизоди на ритъмното нарушение се асоциират със значимо по-изразени отклонения в ключови коагулационни показатели (Таблица 17 и Таблица 18). Резултати, представящи целия времеви интервал проучен в дисертационния труд (първите 24 часа от клиничната изява на заболяването), показват седем от изследваните тринадесет маркери за коагулационна активност като значимо чувствителни към продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене (Фигури 37-43, Таблица 17). Нарастването ѝ се асоциира с повишаване активността на FII, FVIII, FIX и FXII и плазмените нива на FVIII, F1+2 и FPA. Оказва се, че зависими от времето са коагулационни фактори, ключови за активността на вътрешния и краен общ път на коагулационната каскада. Добре известно е, че вътрешният път е основно отговорен за фазите на усилване и пропация на коагулационния сигнал, за разлика от външния път, определящ инициране на коагулацията (Becker, 2005; Riddel et al., 2007). Общият път определя процесите на тромбинообразуване и фибринообразуване. В този смисъл, по-дългите епизоди аритмия се асоциират с усилване на пропацията на коагулационния сигнал и образуването на тромбин и фибрин. Прокоагулантни отклонения при кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене имат динамичен характер и давността на заболяването е техен значим предиктор. Това предполага роля на времевата характеристика на заболяването за неговия тромбоемболичен потенциал. Тя би могла да даде логично клинично-лабораторно обяснение на представените противоположни резултати относно тромбоемболичния

потенциал на пароксизмалното предсърдно мъждене, който е определен от „значим и почти идентичен с непароксизмалните форми“ до значимо по-нисък (Y. Chen et al., 2015; Christensen et al., 2014; Ganesan et al., 2016; Lip et al., 2008; Nieuwlaat et al., 2008). Големите различия във времевата характеристика на заболяването в отделните проучвания са възможно и логично обяснение за различния тромбоемболичен потенциал.

Следвайки логиката на разсъжденията, разделянето на пациентската група на две подгрупи според продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене (≤ 6 часа и >6 часа) даде възможност да бъде прецизирана времевата характеристика на установения хиперкоагулабилитет при кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене. В първите шест часа от заболяването с нарастване продължителността на епизода се наблюдава значимо нарастване в отклоненията при девет от изследваните тринадесет коагулационни показатели, а именно коагулационна активност на FII, FVII, FVIII, FXI и FXII и плазмени нива на TF, FVIII, F1+2 и FPA (Таблица 17). Установените динамични ранни промени (до 6-я час) в коагулационния статус с прокоагулантен характер показват необходимост от ранно инициране на антикоагулантна терапия - непосредствено след установяване на ритъмното нарушение. Получените от нас данни потвърждават въведеното в клиничната практика емпирично правило за незабавно инициране на антикоагулантно лечение при пациенти с предсърдно мъждене, утвърдено и в съвременните препоръки на Европейското дружество по кардиология (Hindricks et al., 2021). Те правят клиничното решение обосновано от безспорни лабораторни данни, които до този момент не са известни.

Прави впечатление, че динамичните промени в плазмените нива на TF и коагулационната активност на FVII се наблюдават само в първите шест часа от клиничната изява на заболяването (Фигура 50, Фигура 51). Резултатите имат своето логично обяснение. Съвременният клетъчно-базиран модел на коагулационния процес определя молекулите TF и FVII като пряко свързани и отговорни за инициращата фаза на коагулацията. В този смисъл се оказва, че времето е лимитиращ и предсказващ фактор за иницирането на коагулационния процес при пароксизмално предсърдно мъждене – зависимост ясно изразена за първите часове (≤ 6 часа) на заболяването.

След шестия час на заболяването нито един от изследваните хемостазни показатели не представя статистически значима зависимост от давността на ритъмното нарушение (Таблица 19). Оказва се, че продължителността на епизода в по-късните часове (след 6-я час) на заболяването няма тази ключова и определяща роля за активността на коагулационната и фибринолитична система.

Безспорно, представените резултати на Таблица 17, Таблица 18 и Таблица 19 показват, че прокоагулантните отклонения при кратките епизоди (≤ 24 часа) пароксизмално предсърдно мъждене не са статично явление, а имат динамичен характер, като той е най-подчертан в първите шест часа на заболяването. Продължителността на епизода се оказва критично значим предиктор за динамиката в прокоагулантните отклонения през първите шест часа от клиничната изява на аритмията. С увеличаването ѝ, те нарастват. Този факт прави възможно най-ранното възстановяване на синусов ритъм важно. Първите шест часа на пароксизмалното предсърдно мъждене са определящия праг, до който скъсяването на епизода предсърдно мъждене само по себе си ефективно и значимо намалява прокоагулантните отклонения. В по-късните часове на заболяването влиянието на времевата характеристика е силно намалено, видно от данните от регресионния анализ (Таблица 19). Тези изводи намират възможност за отражение в клиничната практика. Както е добре известно, съвременният подход към хемодинамично стабилни пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене позволява отложено кардиоверсии, в рамките на първите двадесет и четири часа на заболяването. Това е т. нар. „изчаквателен подход“ („wait-and-watch” strategy), приет като разумна алтернатива на непосредственото кардиоверсии при пациенти със скорошно начало на заболяването и част от последните препоръки на Европейското дружество по кардиология (Hindricks et al., 2021). В основата на това решение е склонността на пароксизмалното предсърдно мъждене към самоограничаване, според някои проучвания в почти 70% от случаите (Dan et al., 2018; Danias et al., 1998). Нашите данни обаче показват необходимост от възможно най-ранно кардиоверсии, чиито ползи далеч надминават непосредствените от скъсяване времето на клинична изява на заболяването и свързаната с него симптоматика. Това би ограничило прокоагулантните отклонения и произтичащия от тях перипроцедурен тромбоемболичен риск.

Ролята на продължителността на епизода пароксизмално предсърдно мъждене относно перипроцедурния тромбоемболичен потенциал, решението за остро кардиоверсии и необходимостта от последвала перипроцедурна антикоагулация е все по-често обсъждана през последните няколко години. Наложеното правило за „нискорисковите“ първи 48 часа на заболяването през последните няколко години не среща абсолютна подкрепа от проведени в тази връзка проучвания, което съвсем естествено е предпоставка за дефиниране на нова нискорискова граница и корекция в клиничния подход към тези кратки епизоди. В тази насока са и разсъжденията на Airaksinen et al., представени в поредица от статии (Airaksinen et al., 2013; Nuotio et al., 2014; Gronberg et al., 2016;

Bah et al., 2017; Hellman et al., 2018; Hellman et al., 2017). Те анализират данните от финландското проучване FinCV study в общо 6 доклада и като цяло установяват очаквания нисък тромбоемболичен риск от 0.7% при кардиоверсио, проведено до 48-я час от началото на пароксизмално предсърдно мъждене. Рискът обаче варира значимо според давността на аритмията. Времето до кардиоверсио се оказва много силен предиктор за 30-дневния риск от тромбоемболизъм, който е значимо по-висок при пациенти с продължителност на епизодите 12-48 часа спрямо тези с давност <12 часа (0.3% vs 1.1%). Тази разлика се запазва както при пациенти с CHA₂DS₂-VASc score 0-1, така и при CHA₂DS₂-VASc score >1. Rankin & Rankin допълват тези разсъждения, като считат, че решението за остро кардиоверсио е уместно да бъде базирано на оценените CHA₂DS₂-VASc score тромбоемболичен риск и на давността на епизода (Rankin & Rankin, 2017). Това тяхно становище е взето под внимание в последните препоръки на Европейското дружество по кардиология за поведение при предсърдно мъждене (Hindricks et al., 2021). В тях за първи път давността на епизода е представена като фактор, имащ отношение към решението за кардиоверсио и епизоди с давност <12 часа са представени като понискорискови. Нашите резултати подкрепят тази разсъждения. Макар да не е проучена директно честотата на перипроцедурните тромбоемболични инциденти, обективно е изследван техният патофизиологичен субстрат. Резултатите позволяват да дефинираме първите 6 часа на аритмията като часовете с най-ниска прокоагулантна активност. Считайки перипроцедурните тромбоемболични инциденти при предсърдно мъждене като клинична изява и функция именно на настъпилите прокоагулантни промени, имаме основание да приемем, че първите 6 часа от клиничната изява на пароксизмалното предсърдно мъждене имат по-нисък перипроцедурен тромбоемболичен потенциал и определят времевия прозорец на по-безопасните часове за остро кардиоверсио и постпроцедурни тромбоемболични инциденти. Критичната значимост на първите 6 часа от пароксизмалното предсърдно мъждене е забелязана и в други изследвания (Turakhia et al., 2015). При проследяване на 9 850 пациенти с пароксизми на предсърдно мъждене се оказва, че товар от 5.5 часа предсърдно мъждене, е граничен за изява на инсулт. Нашите резултати дават обективно клинично-лабораторно основание за необходимостта от разграничаване перипроцедурния тромбоемболичен потенциал на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от продължителността им, въпреки тесните граници на времевия интервал (≤ 24 часа).

7. Моделиране на данни от изследвани хемостазни показатели чрез логистична регресия. Оценка на получените модели чрез ROC анализ

Въз основа на построените логистични модели и изчислената им коректност, седем от изследваните двадесет коагулационни и фибринолитични показатели представят добра възможност (над 70% вероятност) за правилно класифициране на наблюдаваните случаи (липса/наличие на пароксизмално предсърдно мъждене), а именно: плазмена активност на FVIII, vWF, плазминоген и PAI-1, както и плазмени нива на vWF, t-PA и витронектин (Таблица 20, Таблица 21).

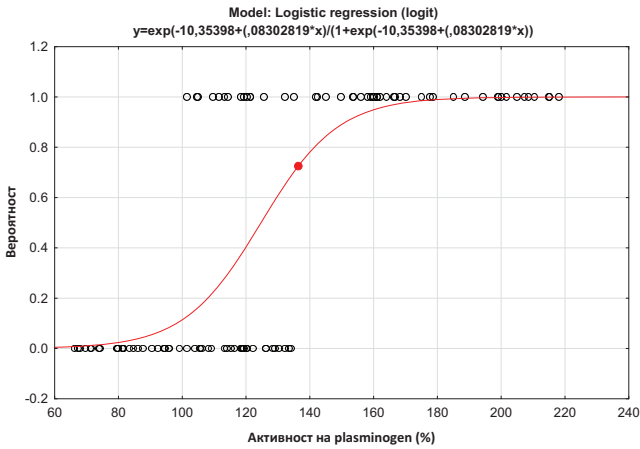
Таблица 20. *Оценени коефициенти на логистичните модели и р-стойност от критерия на Валд*

Изследван показател	b_0	b_1	Р стойност
FII акт (%)	-2.854	0.022	<0.001
TF нива (pg/mL)	-3.243	0.015	<0.001
FV акт (%)	-3.379	0.022	<0.001
FVII акт (%)	-3.893	0.030	<0.001
FVIII нива (%)	-2.118	0.021	<0.05
FVIII акт (%)	-3.626	0.025	<0.001
vWF нива (%)	-1.641	0.011	<0.001
vWF акт (%)	-2.928	0.020	<0.001
FIX акт (%)	-3.585	0.025	<0.001
FX акт (%)	-2.529	0.017	<0.001
FXI акт (%)	-4.119	0.029	<0.001
FXII акт (%)	-2.435	0.013	<0.001
F1+2 (pmol/L)	-0.011	0.002	>0.05
FPA (ng/mL)	-2.303	0.611	<0.001
Плазминоген акт (%)	-10.354	0.083	<0.001
t-PA нива (ng/mL)	-8.835	1.034	<0.001
PAI-1 акт (AU/mL)	9.450	-0.885	<0.001
a2-антиплазмин акт (%)	2.772	-0.023	<0.05
Витронектин нива (mcg/mL)	11.035	-0.057	<0.001
Д-димер нива (mg/L)	-0.706	1.747	<0.05

Таблица 21. *Коректност на статистическия модел за класифициране на наблюденията*

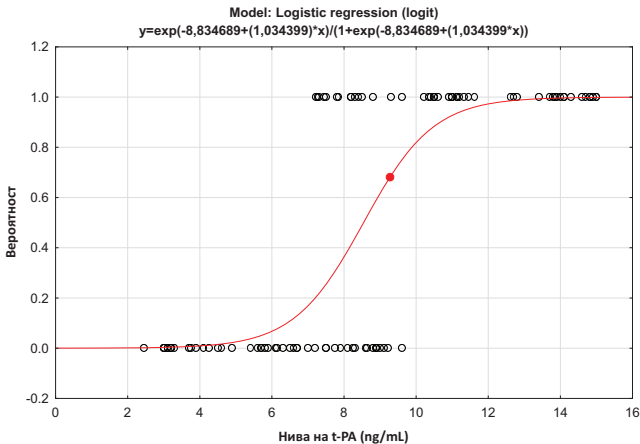
Изследван показател	OR	Коректно класифицирани случаи
FII акт (%)	2.49	61.17%
TF нива (pg/mL)	2.70	62.14%
FV акт (%)	4.52	67.96%
FVII акт (%)	3.52	65.05%
FVIII нива (%)	2.12	59.22%
FVIII акт (%)	5.94	70.87%
vWF нива (%)	8.53	72.82%
vWF акт (%)	5.94	70.87%
FIX акт (%)	2.41	60.78%
FIX акт (%)	2.30	60.19%
FXI акт (%)	2.11	59.22%
FXII акт (%)	2.11	59.22%
F1+2 (pmol/L)	n.a.	n.a.
FPA (ng/mL)	1.43	54.37%
Плазминоген акт (%)	17.88	80.58%
t-PA нива (ng/mL)	12.11	77.67%
PAI-1 акт (AU/mL)	34.55	85.44%
a2-антиплазмин акт (%)	4.04	66.67%
Витронектин нива (mcg/mL)	76.44	88.35%
Д-димер нива (mg/L)	1.98	56.86%

Фигура 56 представя нарастване на вероятността за поява на заболяването с покачване активността на плазминоген. При активност на показателя 95% тя е едва 10% и достига 90% при 150% активност на плазминоген.



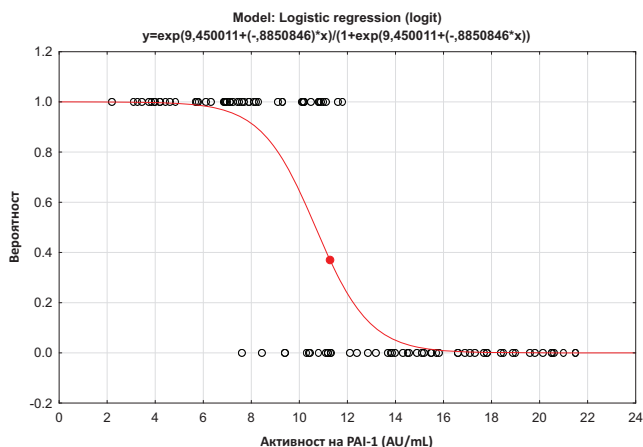
Фигура 56. Вероятност за поява на пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от плазмена активност на плазминоген (червена точка - оптимална прагова стойност за изява на пароксизмално предсърдно мъждене)

Видно от Фигура 57, при плазмени нива на t-PA 6.5 ng/mL се отчита вероятност 10%, а при покачването им до 10.5 ng/mL, тя нараства до 90%.



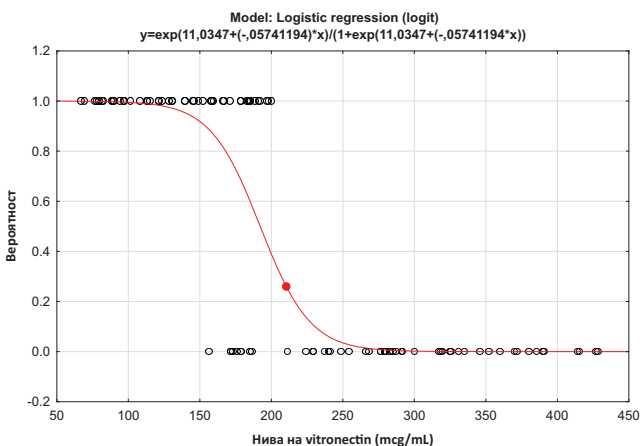
Фигура 57. Вероятност за поява на пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от плазмени нива на t-PA (червена точка - оптимална прагова стойност за изява на пароксизмално предсърдно мъждене)

Фигура 58 представя зависимостта между вероятността за поява на ритъмното нарушение и стойностите на изследвания показател плазмена активност на PAI-1. Зависимостта е обратна на тази, установена при по-горе представените хемостазни показатели – с нарастване активността на PAI-1 вероятността за настъпване на ритъмното нарушение намалява. При активност на показателя 8.5 AU/mL вероятността е 90% и спада до 10% при активност 13.2 AU/mL.



Фигура 58. Вероятност за поява на пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от плазмена активност на PAI-1 (червена точка - оптимална прагова стойност за изява на пароксизмално предсърдно мъждене)

Обратна зависимост е установена и при плазмените нива на витронектин (Фигура 59). При стойност на показателя 157 mcg/mL развитието на пароксизмално предсърдно мъждене е с вероятност 90%. Моделната крива представя 20% вероятност при стойност 230 mcg/mL. Тя не позволява директно отчитане на нива при 10% вероятност.



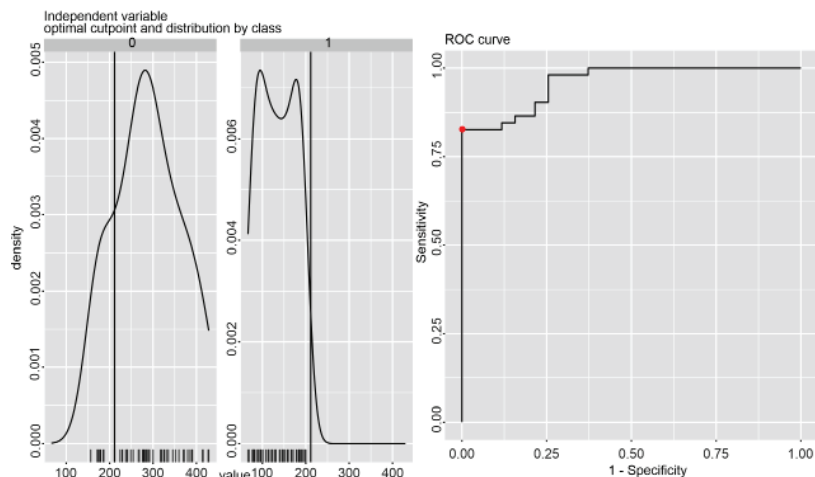
Фигура 59. Вероятност за поява на пароксизмално предсърдно мъждене в зависимост от плазмени нива на витронектин (червена точка - оптимална прагова стойност за изява на пароксизмално предсърдно мъждене)

За да оценим качеството на получените логистични модели, респ. точността на изследваните хемостазни показатели като възможни лабораторни диагностични маркери за изява на пароксизмално предсърдно мъждене, проведехме ROC анализ на тези, които представиха статистическа значимост при логистичната регресия. Това са всички изследвани коагулационни и фибринолитични маркери без плазмени нива на F1+2 (Таблица 20). Пресметнатата AUC, намерената оптимална прагова точка по критерия на Юден и съответстващите ѝ точност (Acc), сензитивност и специфичност за всеки един показател са представени в Таблица 22.

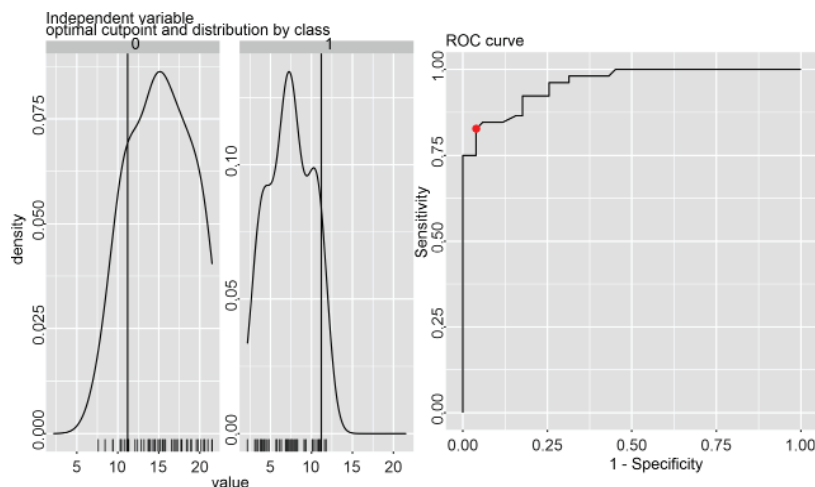
Сравняване на ROC кривите чрез оценка на AUC показва като най-ефективни модели за предикция на пароксизмално предсърдно мъждене моделите на фибринолитичните показатели плазмени нива на витронектин (AUC=0.96, Фигура 60), PAI-1 активност (AUC=0.96, Фигура 61), t-PA нива (AUC=0.93, Фигура 62) и активност на плазминоген (AUC=0.92, Фигура 63), подредени по низходящ ред респективно (Таблица 22). Тяхното качество на модела беше определено като отлично (AUC>0.9).

Таблица 22. Данни от ROC анализа на изследвани коагулационни и фибринолитични показатели

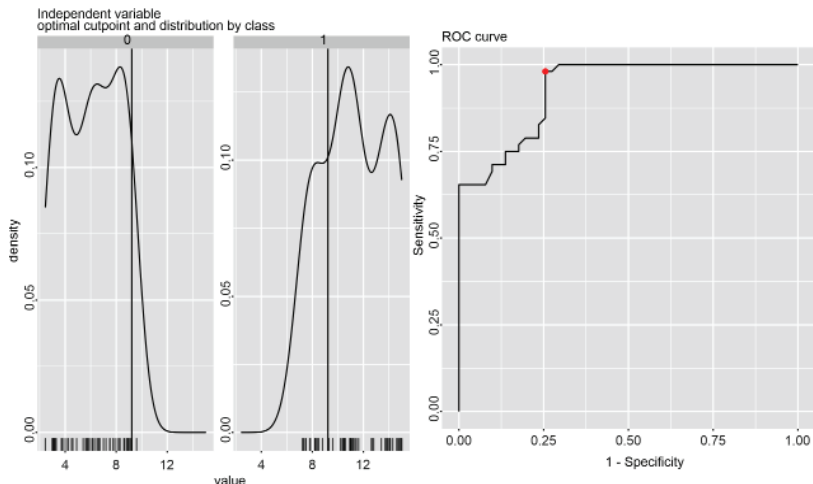
Показател	AUC	Оптимална прагова точка	Юден критерий	Точност	Сензитивност	Специфичност
FII акт (%)	0.79	160.10	0.59	0.80	0.99	0.59
TF (pg/mL)	0.81	264.00	0.57	0.79	0.94	0.63
FV акт (%)	0.80	172.77	0.63	0.82	0.99	0.63
FVII акт (%)	0.81	148.20	0.59	0.79	0.99	0.59
FVIII нива (%)	0.63	124.10	0.35	0.68	0.98	0.37
FVIII акт (%)	0.85	158.89	0.69	0.85	0.99	0.69
vWF нива (%)	0.64	140.60	0.45	0.73	0.85	0.61
vWF акт (%)	0.79	165.00	0.61	0.81	0.98	0.63
FIX акт (%)	0.80	117.0	0.53	0.77	0.57	0.96
FX акт (%)	0.75	175.00	0.55	0.78	0.99	0.55
FXI акт (%)	0.81	156.90	0.57	0.57	0.99	0.58
FXII акт (%)	0.74	215.48	0.43	0.72	0.87	0.57
F1+2 (pmol/L)	n.a.	n.a	n.a	n.a	n.a	n.a
FPA (ng/mL)	0.72	4.30	0.53	0.77	0.98	0.55
Плазминоген акт (%)	0.92	134.00	0.73	0.86	0.99	0.73
t-PA нива (ng/mL)	0.93	9.22	0.73	0.86	0.98	0.75
PAI-1 акт (AU/mL)	0.96	11.20	0.79	0.89	0.83	0.96
а2-антиплазмин акт (%)	0.72	131.6	0.47	0.74	0.65	0.82
Витронектин нива (mcg/mL)	0.96	211.40	0.83	0.91	0.83	0.99
Д-димер нива (mg/L)	0.57	0.6	0.20	0.60	0.92	0.27



Фигура 60. В ляво: Разпределение на стойностите на витронектин в класовете липса (0) и наличие (1) на пароксизмално предсърдно мъждене спрямо вертикалната линия на оптимална прагова точка. В дясно: ROC крива на показателя с оптимална прагова точка



Фигура 61. В ляво: Разпределение на стойностите на PAI-1 активност в класовете липса (0) и наличие (1) на пароксизмално предсърдно мъждене спрямо вертикалната линия на оптимална прагова точка. В дясно: ROC крива на показателя с оптимална прагова точка



Фигура 62. В ляво: Разпределение на стойностите на t-PA нива в класовете липса (0) и наличие (1) на пароксизмално предсърдно мъждене спрямо вертикалната линия на оптимална прагова точка. В дясно: ROC крива на показателя с оптимална прагова точка

Фигура 63. В ляво: Разпределение на стойностите на плазминогенова активност в класовете липса (0) и наличие (1) на пароксизмално предсърдно мъждене спрямо вертикалната линия на оптимална прагова точка. В дясно: ROC крива на показателя с оптимална прагова точка

Въз основа на показателите сензитивност и специфичност, както и на вероятността за поява на пароксизмално предсърдно мъждене (получена въз основа на построените по-рано логистични модели) при изчислените прагови стойности, установихме, че плазминоген и t-PA имат най-добра предиктивна стойност за поява на заболяването. Плазмена активност на плазминоген $\geq 134\%$ определя вероятност $\geq 69\%$ за изява на заболяването, като показателят има висока сензитивност и специфичност при диагностициране на състоянието ($Se=0.99$, $Sp=0.73$). Плазмени нива на t-PA ≥ 9.22 ng/mL определят $\geq 69\%$ вероятност за заболяването при отново добра диагностична точност на показателя ($Se=0.98$, $Sp=0.75$). Редно е да отбележим, че и двата показателя са фибринолитични. Добре известно е, че освен тромболитична функция, фибринолитичната система играе ключова роля в редица други физиологични и патологични процеси, един от които е тъканното ремоделиране (Nissinen et al., 2014; J. Chen et al., 2017; Cui et al., 2017). Системата плазминоген/плазмин

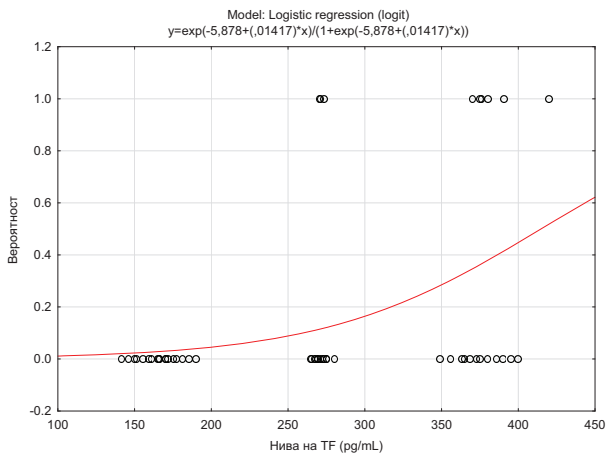
има две неотменни основни функции: добре известната, свързана с разграждане на фибрин до FDP, и друга, не по-малка важна, отговорна за разграждане на клетъчни мембрани и екстрацелуларен матрикс, спомагаща за тъканно ремоделиране и клетъчна миграция. Плазмин е директен активатор на значими функционални ензими, вкл. на повече от седем матриксни металопроотеинази. Структурното ремоделиране е безспорен морфологичен субстрат за изява на предсърдно мъждене и в този смисъл, именно ефектите на плазминоген/плазмин системата отвъд фибринолитичната функция могат съвсем логично да обяснят връзка между стойностите на плазминоген и t-PA с изявата на заболяването.

8. Предиктори за артериален тромбоемболизъм - моделиране на данни от изследвани хемостазни показатели чрез Кокс регресионен модел

С помощта на регресионен анализ на Кокс проверихме доколко установените отклонения в изследваните хемостазни показатели могат да бъдат предиктори за изява на исхемичен мозъчен инсулт. Тествани бяха също така и клинични показатели с вече установена прогностична стойност за изява на исхемичен мозъчен инсулт, а именно възраст, BMI (kg/m^2) и GFR ($\text{ml}/\text{min}/1.73 \text{ m}^2$), както и тромбоемболична рискова характеристика, дефинирана като нискорискова ($\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc score} = 0$ при мъже и 1 при жени) и такава с повишен риск ($\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc score} \geq 1$ извън полова характеристика (Hindricks et al., 2021).

Оценката на функцията на преживяемост чрез оценителя на Каплан-Майер показва среден периодна проследяване на пациентите 8.44 години (1.16-10.08), по време на които бяха регистрирани 9 артериални тромбоемболични инциденти. Средната годишна честота на тромбоемболичните инциденти беше 2%. С едномерния регресионен анализ на Кокс като статистически значими ($p < 0.05$) за изява на исхемичен мозъчен инсулт бяха установени следните хемостазни показатели: плазмени нива на TF (HR 1.032 [95% CI, (1.003-1.061)]), плазмени нива на FVIII (HR 1.054 [95% CI, (1.018-1.091)]) и плазмени нива на витронектин (HR 0.973 [95% CI, (0.948-0.998)]) (Таблица 23). С нарастване стойностите на TF и FVIII, нараства вероятността за мозъчносъдов инцидент ($\text{Beta} > 0$). От построените дихотомни логистични регресионни модели за тези два предиктора с индикираща променлива наличие/отсъствие на инсулт у изследваните пациенти се вижда, че при стойност на TF=418.79 pg/mL вероятността е 50% (0.5) и нараства до 75% (0.75) при стойност 440 pg/mL (стойността на показателя при вероятност

90% не може да бъде директно отчетена, видно от самата Фигура 67, а екстраполирането би довело до известна неточност). Относно FVIII - вероятността от 50% (0.5) при 46.95% стойност на показателя, нараства до 90% (0.9) при стойност 150% (Фигура 68). За статистически значимия предиктор витронектин коефициентът Beta е <0 и вероятността за инсулт от 50% (0.5) при стойност 46 (mcg/mL) нараства до 90% (0.9) при стойност 155 (mcg/mL) (Фигура 69).

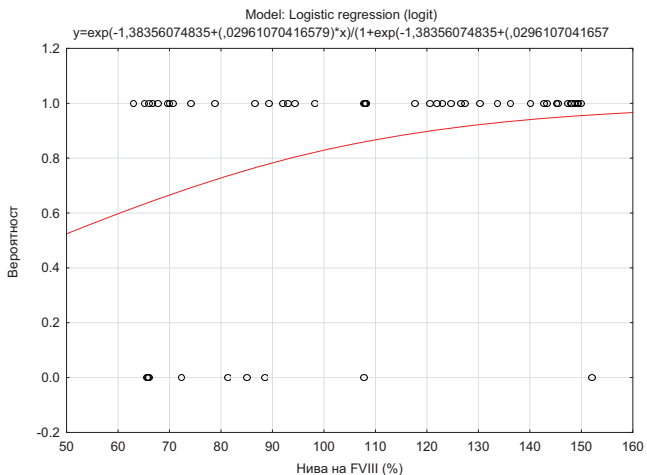


Фигура 67. Вероятност за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт в зависимост от плазмени нива на TF

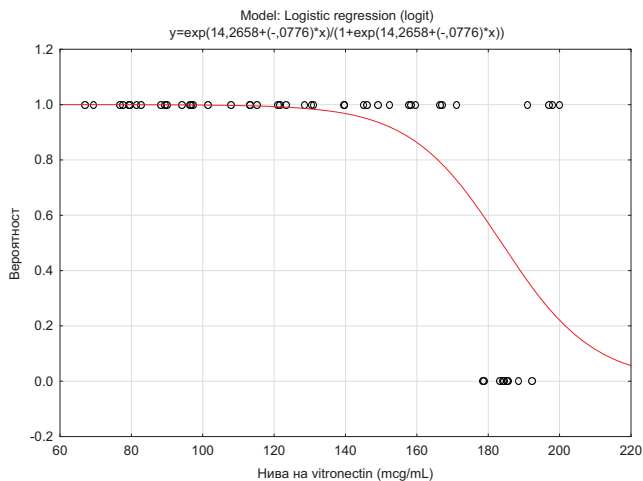
Таблица 23. Едномерен регресионен анализ на Кокс за изява на инсулт

Рисков фактор	Оценка на параметъра Beta	P-стойност	Hazard Ratio (HR) (95% CI for HR)
Възраст (години)	0.108	0.037	1.113 (1.007-1.231)
BMI (kg/m ²)	-0.065	0.525	0.937 (0.767-1.145)
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	0.014	0.338	1.014 (0.986-1.043)
CHA ₂ DS ₂ -VASc score *	0.452	0.048	1.157 (1.075-2.534)
FII акт (%)	0.004	0.498	1.004 (0.993-1.014)
TF нива (pg/mL)	0.031	0.029	1.032 (1.003-1.061)
FV акт (%)	0.002	0.722	1.002 (0.993-1.010)
FVII акт (%)	-0.006	0.339	0.995 (0.983-1.006)
FVIII нива (%)	0.054	0.003	1.054 (1.018-1.091)
FVIII акт (%)	-0.003	0.547	0.997 (0.989-1.006)
vWF нива (%)	-0.003	0.502	0.998 (0.990-1.006)
vWF акт (%)	-0.001	0.920	0.999 (0.992-1.007)
FIX акт (%)	0.003	0.671	1.003 (0.989-1.017)
FX акт (%)	-0.009	0.063	0.991 (0.981-1.001)
FXI акт (%)	-0.007	0.260	0.993 (0.980-1.005)
FXII акт (%)	-0.003	0.543	0.998 (0.989-1.006)
F1+2 (pmol/L)	0.003	0.439	1.003 (0.996-1.010)
FPA (ng/mL)	-0.150	0.440	0.861 (0.588-1.260)
Плазминоген акт (%)	-0.002	0.804	0.998 (0.979-1.017)
t-PA нива (ng/mL)	-0.213	0.137	0.808 (0.610-1.070)
PAI-1 акт (AU/mL)	-0.110	0.397	0.896 (0.694-1.156)
α 2-антиплазмин акт (%)	0.013	0.489	1.013 (0.977-1.049)
Витронектин нива (mcg/mL)	-0.028	0.036	0.973 (0.948-0.998)
Д-димер нива (mg/L)	-1.25	0.264	0.287 (0.032-2.573)

*дефиниран в двете категории CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже или 1 при жени и CHA₂DS₂-VASc score \geq 1 (без полова принадлежност) (Hindricks et al., 2021)



Фигура 68. Вероятност за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт в зависимост от плазмени нива на FVIII



Фигура 69. Вероятност за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт в зависимост от плазмени нива на витронектин

От тестваните клинични показатели само възраст и CHA₂DS₂-VASC score показаха предиктивна стойност за настъпване на исхемичен мозъчен

инсулт (HR 1.113 [95% CI, (1.007-1.231)], $p < 0.05$; HR 1.157 [95% CI, (1.075-2.534)], $p < 0.05$, съответно). Коефициентът Beta е > 0 , така че с нарастване на възрастта, вероятността за инсулт расте и CHA_2DS_2 -VAsC score ≥ 1 (извън полова принадлежност) дава лоша прогноза за инсулт.

Изявените като значими в едномерния анализ фактори бяха включени в многомерен регресионен модел на Кокс. Целта беше да се установи в съвкупност и взаимодействие приноса на всички тях за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт. Полученият резултат е показан в Таблица 24. Оказва се, че многомерният регресионен анализ определя като значими ($p < 0.05$) предиктори за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт всичките пет фактора изявени и от едномерния модел на Кокс.

Таблица 24. Многомерен регресионен анализ на Кокс за изява на инсулт

Рисков фактор	Оценка на параметъра Beta	P-стойност	Hazard Ratio (HR) (95% CI for HR)
Възраст (години)	0.213	0.019	1.237 (1.036-1.478)
CHA_2DS_2 -VAsC score *	0.281	0.016	1.324 (1.054-1.662)
TF нива (pg/mL)	0.022	0.015	1.022 (1.004-1.040)
FVIII нива (%)	0.081	0.037	1.084 (1.005-1.170)
Витронектин нива (mcg/mL)	-0.055	0.049	0.946 (0.895-0.999)

* дефиниран в двете категории CHA_2DS_2 -VAsC score = 0 при мъже или 1 при жени и CHA_2DS_2 -VAsC score ≥ 1 (без полова принадлежност) (Hindricks et al., 2021)

Безспорно проведеното от нас проучване не е първото, което търси възможност за дефиниране на предиктори за изява на исхемичен мозъчен инсулт сред показатели на коагулационна и фибринолитичната система. То обаче е първото, което изследва едновременно двадесет показатели на тези две системи. Установените резултати имат своята патофизиологична обосновка. Тъканният фактор е ключов и неотменен участник в процеса на тромбообразуване и по-точно в инициращата фаза на коагулацията. Счита се дори, че циркулиращият TF е този, който пренася активността на TF/FVIIa до срещата му с активирани тромбоцитите (Brambilla et al., 2015; Cimmino et al., 2015a; Cugno et al., 2014; Ferreira et al., 2010a). В този смисъл именно свободно циркулиращите плазмени нива на TF отразяват много точно склонността на организма към тромбообразуване. Молекулата на витронектин е многофункционален допълващ регулатор, който може да бъде открит в почти всички клетки на човешкия организъм (Yu-Ching et

al., 2018). Той е важен адхезивен тромбоцитен гликопротеин и индиректен инхибитор на фибринолизата – факти, които определят прокоагулантната му роля (Preissner & Seiffert, 1998; Smyth et al., 2009). Същевременно обаче той инхибира крайния път на системата на комплемента и предотвратява образуване на смъртосните на клетките „пори формиращи комплекси“ (Yu-Ching et al., 2018). Неясни разбира се са точните механизми, поради които ниските нива на витронектин предопределят висока вероятност за поява на инсулт в изследваната от нас популация, но спекулативно допускаме именно ролята му в клетъчната протекция чрез контрол върху активността на системата на комплемента. Резултатите, получени относно $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score, потвърждават значимостта му като рисков стратификатор за поява на исхемичен мозъчен инсулт в дългосрочен план при пациенти с предсърдно мъждене.

Получените данни дават основание плазмените нива на TF, FVIII и витронектин да бъдат проучени детайлно като биомаркери, които в допълнение към добре установения $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score, да оптимизират подхода към оценката на тромбоемболичния риск при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене (особено сред нискорисковата популация). Налагането им в клиничната практика обаче изисква редица предхождащи проучвания. Изследваната от нас популация, макар и достатъчна, е малка по обем и селектирана при редица изключващи критерии (наложено от целта на проучването). В този смисъл считаме, че *представените резултати относно предиктивната стойност за инсулт на плазмени нива на TF, FVIII и витронектин са достатъчна предпоставка за бъдещи проучвания в тази насока* и въвеждането им в терапевтичния подход налага допълнителни изследвания.

9. Заключение и обсъждане

Обобщеният анализ на получените резултати позволява да се подчертаят и изведат на преден план характеристиките на коагулационния статус при кратки епизоди пароксизмално предсърдно мъждене с давност до двадесет и четири часа. Те имат изключително както фундаментално (научно), така и клинично (приложно) значение. Основание да считаме това ни дават следните факти:

- кратките епизоди пароксизмално предсърдно мъждене (продължителност ≤ 24 часа) са честа клинична находка;
- данните относно прокоагулантните промени при тях са оскъдни и неоднозначни, въпреки множеството лабораторни и клинични проучва-

ния върху предсърдното мъждене като цяло;

- постпроцедурната антикоагулантна терапия след тези епизоди е все още обект на дискусии (при липса на индикации за дългосрочна такава);
- неуточнени са предиктивните възможности на коагулационни и фибринолитични показатели за поява на самото заболяване и настъпване на тромбоемболични инциденти при него.

За нас следните няколко факта придават особена тежест на получените резултати:

- определени са едновременно достатъчен брой ключови коагулационни и фибринолитични показатели, което позволява да бъдат адекватно потърсени и прецизно анализирани наличните отклонения в тези две системи;
- изследвани са достатъчен брой пациенти и контроли, групите са добре балансирани и давността на заболяването е прецизно определена, поради което получените клинично-лабораторни доказателства за ранни хемостазни отклонения, носещи своите специфични особености, са надеждни и безспорни;
- с цел прецизиране необходимостта и оптимизиране решението за постпроцедурна антикоагулантна профилактика е потърсена зависимост на хемостазните отклонения от тромбоемболичната рискова характеристика на пациентите, дефинирана чрез $\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc}$ score, както и от времевата характеристика на епизода предсърдно мъждене;
- при внимателно селектирани пациенти е потърсена максимално обективна възможност за предикция изявата на пароксизмално предсърдно мъждене и асоциираните с него тромбоемболични усложнения.

В светлината на съвременната хемостазеология *коагулацията* е сложен, фино регулиран и във физиологични условия добре балансиран процес, намиращ се в тесни взаимоотношения с контрапункта си – фибринолитичната система. Според Maugereau Hoffman, един от създателите на клетъчно-базираната теория, опитът тя да бъдат графично изобразена *наподобява триизмерна Галактическа карта* (Hoffman, 2007). *В условия на патологично променен коагулационен баланс прецизните механизми на нарушена коагулация и фибринолиза могат да бъдат разбрани само при детайлно и едновременно изследване на двете системи* (Charpin & Najjar, 2015). Базирайки се именно на тези съвременни схващания, ние построихме нашето изследване и това даде възможност да направим

важни изводи.

Изключително значение има фактът, че стойностите на всички изследвани коагулационни показатели представиха значими отклонения (Фигури 14-27). Сред пациентската група плазмената активност на FIIa, FVa, FVIIa, FVIIIa, FIXa, FXa, FXIa, FXIIa, както и на vWF е значимо по-висока ($p < 0.001$; Фигури 15-18, 20, 22, 24, 25). Изследваните плазмени нива на TF ($p < 0.001$; Фигура 14), FVIII ($p < 0.05$; Фигура 19), vWF ($p < 0.001$; Фигура 21), F1+2 ($p < 0.01$; Фигура 26) и FPA ($p < 0.001$; Фигура 27) също са по-високи сравнено с контролните. Обобщаващият анализ на всички тези еднопосочни отклонения недвусмислено показва наличие на *ранен хиперкоагулабилитет при пароксизмално предсърдно мъждене, настъпващ още при кратките (≤ 24 часа) епизоди на заболяването*. Считаме, като особено важно доказателство за прокоагулантния ефект на аритмията, установения активизиран синтез и секреция на някои от изследваните коагулационни показатели, а именно FVIII и vWF, в допълнение към високата им активност (Фигури 19-22). В проведеното от нас проучване *за първи път са представени убедителни лабораторни доказателства за наличие на протромбозно състояние в хода на пароксизмалните епизоди предсърдно мъждене с давност ≤ 24 часа*. Установеният системен хиперкоагулабилитет е естествената, обективна и достатъчна предпоставка да се приеме, че кратките епизоди (≤ 24 часа) на заболяването определят повишен перипроцедурен тромбоемболичен потенциал.

Детайлното изследване на коагулационната система в нашето проучване не само ясно очертава хемостазния профил на пациентите при кратки епизоди на аритмията, но представя и характерни особености на активизираната коагулация, а именно значимата активация на FXII и FXI ($p < 0.001$; Фигура 16, Фигура 17). За първи път е утвърдено участие на FXII и FXI в прокоагулантните промени при предсърдно мъждене. Добре известно е, че тези коагулационни фактори имат решаващо значение за образуване на оклузивен тромб, като същевременно липсата им не води до значими, животозастрашаващи епизоди на кръвене (Geddings & Mackman, 2014; Rankin & Rankin, 2017; Vojacek, 2017). Този факт превръща FXIa и FXIIa при предсърдно мъждене в обещаващи цели за ефективна, но безопасна антикоагулация сравнено с утвърдената към момента директна тромбинова (дабигатран) и FXa (ривароксабан, аписабан, едоксабан) инхибиция.

Установените отклонения във фибринолитичните показатели, а именно по-висока активност на плазминоген ($p < 0.001$; Фигура 28), по-

високи плазмени нива на t-PA ($p < 0.001$; Фигура 29), по-ниски активност на PAI-1 ($p < 0.001$; Фигура 30) и $\alpha 2$ -антиплазмин ($p < 0.05$; Фигура 31) и нива на витронектин ($p < 0.001$; Фигура 32) показват активирана фибринолиза. Д-димерът по своята същност е уникална молекула, която характеризира както края на коагулацията, така и началото на фибринолизата. Тя е абсолютно и задължително необходима при оценка на баланса и взаимодействието между двете системи. Високите ѝ стойности в нашето проучване не само напълно потвърждават активиране на фибринолизата, но са директно доказателство за усилено интраваскуларно образуване на фибрин - основен компонент на тромбите, асоциирани с предсърдно мъждене ($p < 0.05$; Фигура 33). В този смисъл считаме, че активираната фибринолиза е отговор на наличната хиперкоагулация.

Клиничната значимост на постпроцедурната антикоагулация след епизод скорошно предсърдно мъждене, макар и индиректно, е представена в проучванията FinCV study, ANTIKoagulation study, резултатите от Датската кохорта, както и много други (Hellman et al., 2018; Kleemann et al., 2009; Palomäki et al., 2016). Тя обаче остава дискутабилна след пароксизмални епизоди ≤ 24 часа при пациенти, които нямат показания за дългосрочна антикоагулантна профилактика (CHA₂DS₂-VASc score 0 при мъже и 1 жени). Неоднозначни са данните относно постпроцедурния тромбоемболичен потенциал на заболяването в нискорисковата група пациенти (Andrade et al., 2018; Andarde et al., 2019; Gang et al., 2016; Nuotio et al., 2014). Последните препоръки на Европейското дружество по кардиология остават с некатегоричен характер и несигурен тон относно необходимостта от постпроцедурна профилактика при тези пациенти, основно поради не големия брой проучвания, представящи директни доказателства за това (Hindricks et al., 2021). Препоръчана е 4 седмична антикоагулантна профилактика при всички пациенти след кардиоверсия при епизоди > 24 часа, която може да бъде пропусната при продължителност на заболяването ≤ 24 часа и нисък тромбоемболичен рисков профил (IIb клас препоръка; C ниво на доказателство) (Camm et al., 2010; Hindricks et al., 2021). Именно липсата на убедителни доказателства ни позволява да приемем *нашите резултати като обективна основа на подобряване на клиничната практика при пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене ≤ 24 часа*. Проучвайки влиянието на тромбоемболичната рискова характеристика на пациента върху коагулационната и фибринолитична система в хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене установяваме протромбозно състояние при нискорискови пациенти (CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже или 1 при жени), което не се

различава съществено от това при пациенти с повишен тромбоемболически риск (CHA₂DS₂-VASC score ≥ 1 извънполова характеристика) (Таблицы 14-16). В този смисъл считаме, че е уместно провеждане на перипроцедурна антикоагулация до възстановяване на коагулационния баланс при всички пациенти с кратък епизод предсърдно мъждане (≤ 24 часа), вкл. при нискорисковите, при които липсват индикации за дългосрочна такава. Относно продължителността ѝ, допустимо е да се приеме 4 седмичен период след възстановяване на синусов ритъм, което ще бъде в съответствие с установените времеви интервали за лизиране на всяко хиперкоагулантно състояние, към момента възприети в добрата клинична практика (Goldman et al., Hindricks et al., 2021; 1999; Kleemann et al., 2009; Oltrona et al., 1997; Rankin & Rankin, 2017; Stoddard et al., 1995). Приложението ѝ разбира се трябва да е съобразено изцяло с добрата клинична практика, налагаща критична оценка на риска от кървене чрез утвърдения за целта HASBLED score (Hindricks et al., 2021).

Времевата характеристика на епизода е значим предиктор и лимитиращ фактор за установените прокоагулантни отклонения в изследването (Таблицы 17-18). Корелацията е подчертана в рамките на първите 6 часа от заболяването, където значимо нараства коагулационната активност на FII, FVII, FVIII, FIX и FXII и плазмените нива на TF, FVIII, F1+2 и FPA, а в по-късните часове (след 6-я час) тази зависимост силно намалява и се губи (Таблицы 18-19, Фигури 44-52). Установените толкова ранни промени и динамичният им характер не само *подкрепят емпиричното правило за незабавно инициране на антикоагулантно лечение* при установяване на предсърдно мъждане, но *предоставят първите научни доказателства за необходимостта от това решение*. Същевременно е показана възможност за ограничаване тромбоемболическия потенциал на пароксизмалното предсърдно мъждане чрез ранно и бързо възстановяване на синусов ритъм (Таблицы 17-18). *Ранното кардиоверсия е лимитиращо и важно за намаляване на перипроцедурния тромбоемболически риск*. Незабавният опит за възстановяване на синусов ритъм при непосредствено инициране на антикоагулантна терапия, очертава ясни предимства, свързани с ограничаване на прокоагулантните отклонения и в този аспект *подходът „wait and watch“ през първите 24 часа*, предложен в съвременните терапевтични препоръки при заболяването, неуместен.

Критичният праг на часовете с по-нисък тромбоемболически потенциал се дефинира от първите 6 часа на заболяването, според получените резултати (Таблица 18). В този смисъл имаме основание да

предложим преосмисляне на дефиницията „идеални кандидати за остро кардиоверсио“, предложена от последните Европейски препоръки, като времевата характеристика на епизода предсърдно мъждене при тях се стесни до тези ранни часове. Динамичният характер на установените протромбозни промени по своята същност са лабораторно потвърждение и директно обективно доказателство на представения в хода на наблюдателни клинични проучвания извод, че времето до кардиоверсио е предиктор на постпроцедурния тромбоемболизъм (Nuotio et al., 2014; Hellman et al., 2018).

Проведеният логистичен регресионен анализ и ROC анализ установяват обещаващи възможности за *идентифициране появата на пароксизмално предсърдно мъждене чрез изследване на показателите плазмена активност на плазминоген и плазмени нива на t-PA* (Таблицы 20-22). Показваме също така, че *плазмени нива на TF, FVIII и витронектин могат биха могли да бъдат значими предиктори за изява на исхемичен мозъчен инсулт* (Фигура 67, Фигура 68, Фигура 69; Таблицы 23-24). Безспорно нашето проучване не е първото, което търси клинично приложение на коагулационни и фибринолитични показатели отвъд представяне на хемостазния дисбаланс при предсърдно мъждене. Едновременното изследване и съпоставяне на такъв голям брой показатели, както и стриктната селекция на участниците, считаме обаче като фактори с особена тежест, превръщащи нашите резултати в сериозна предпоставка за по-големи клинични проучвания, които да утвърдят силата на направените изводи и клиничното им приложение. *Получените резултати повдигат съществен въпрос*. Предвид ролята на хемокоагулацията в редица патологични процеси, като оксидативен стрес, възпаление, тъканно ремоделиране и др., доколко установените прокоагулантни отклонения са следствие на предсърдното мъждене или те предхождат клиничната му изява, като част от все още неизяснения патофизиологичен механизъм, отговорен за неговото инициране.

В обобщение можем да кажем, че за първи път са представени убедителни клинично-лабораторни данни за развитие на хиперкоагулабилитет в първите 24 часа на пароксизмално предсърдно мъждене, следствие на значими отклонения в коагулационна и фибринолитична система. Кратките (≤ 24 часа) епизоди на заболяването са ясно очертани като протромбозно състояние, дори при нискорискова тромбоемболична характеристика на пациентите ($\text{CHA}_2\text{DS}_2\text{-VASc score} = 0$ при мъже или 1 при жени). Давността на епизода оказва ефект върху установените хемостазни отклонения. Представеният дисертационен труд

има не само оригинална научна стойност, но очертава ясно и клиничното приложение на получените резултати. Показва FXIa и FXIIa като обещаващи цели за ефективна и по-безопасна антикоагулация сравнено с утвърдената към момента. Показва необходимост от постпроцедурна антикоагулация дори след считаните към момента най-нискорискови епизоди на неклапно пароксизмално предсърдно мъждене (давност ≤ 24 часа и CHA₂DS₂-VASc score = 0 при мъже или 1 при жени). Очертава първите 6 часа на заболяването като времеви интервал, дефиниращ по-нисък перипроцедурен тромбоемболичен риск. Очертава възможности за клинично приложение на някои хемостазни показатели отвъд хемостазната оценка, а именно възможност за предикция изязвата на пароксизмално предсърдно мъждене чрез плазмена активност на плазминоген и плазмени нива на t-PA и на неговото усложнение исхемичен мозъчен инсулт чрез плазмени нива на TF, FVIII и витронектин.

V. ИЗВОДИ

1. В настоящето проучване, проведено върху добре балансирани пациентска и контролна групи, са установени значими отклонения при всички изследвани двадесет коагулационни и фибринолитични показатели. Те недвусмислено представят *нарушен коагулационен статус в ранните часове (≤ 24 часа)* на пароксизмално предсърдно мъждене. Специфичният им и динамичен характер е основание да се приеме, че той е *тясно свързан със самото заболяване*.
2. *Коагулационната система е значимо активирана в първите 24 часа на пароксизмално предсърдно мъждене* при повишена активност на външен, вътрешен и общ път на коагулация. За това свидетелстват еднопосочните отклонения във всички изследвани фактори на коагулационната каскада.
3. *Значимо усилена е и фибринолитичната активност*, най-вероятно патофизиологичен отговор на коагулационните нарушения. Тя е резултат от повишено превръщане на плазминогена в плазмин и намалена активност на основните инхибитори на системата PAI-1 и $\alpha 2$ -антиплазмин.
4. Установената висока прокоагулантна активност води до *хиперкоагулабилитет в ранните часове (≤ 24 часа) на пароксизмално предсърдно мъждене*, видно от отклоненията в плазмените нива на ранните маркери на коагулация F1+2 и FPA, както и тези на Д-димер.
5. Коагулационният процес има *своите специфични особености* при заболяването, а именно:
 - асоциира се със значимо активиране на FXII и FXI;
 - свързан е с ранна *ендотелна дисфункция и увреда*, показателни за които са високите плазмени нива на vWF.
6. Високата статистическа мощност на t-критерий при проверка хипотезата за равенство на средните стойности на изследваните хемостазни показатели е *доказателство за адекватност на обема на извадката и коректност на направените изводи*.

7. В хода на кратките епизоди пароксизмално предсърдно мъждене (продължителност ≤ 24 часа) *липсват значими различия* в коагулабилитета *между много нискорисковите* пациенти (CHA₂DS₂-VASc score = 0 за мъже или 1 за жени) и *тези с повишен тромбоемболичен риск* (CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 извън половата характеристика), видно от сравняването на средните стойности на хемостазните показатели в двете категории тромбоемболичен риск.
8. *Продължителността на епизода* пароксизмално предсърдно мъждене е критично значим *предиктор за коагулационната активност* в първите шест часа от клиничната изява на аритмията, показателно за което е установената позитивна корелация на стойностите на ключови коагулационни показатели с времевата характеристика на заболяването. В по-късните часове (>6 часа) тази силна зависимост се губи.
9. Идеята за използване на *коагулационни и фибринолитични показатели като биомаркери при пароксизмално предсърдно мъждене* е безспорно перспективна и нашето проучване е предпоставка за допълването ѝ като установява:
 - активността на плазминоген и нивото на неговия основен активатор t-PA се асоциират с най-висока прогнозна вероятност за възникване на пароксизмално предсърдно мъждене;
 - предиктивна стойност за настъпване на исхемичен мозъчен инсулт показват високите плазмени нива на TF, FVIII и витронектин, измерени още в ранните часове (≤ 24 часа) на заболяването.

VI. НАУЧНИ ПРИНОСИ

Получените резултати имат оригинален характер – фундаментален и клиничен.

1. Проведено е първо по рода си клинично проучване върху коагулационния баланс при кратки епизоди пароксизмално предсърдно мъждене с продължителност ≤ 24 часа. Извършен е обективен анализ на изследваните показатели (общо двадесет) на коагулационна и фибринолитична система. Установени са съществени факти относно непроучени до момента хемостазни показатели при заболяването.
2. Представени са директни и убедителни доказателства за *развитие на ранен значим системен хиперкоагулабилитет в хода на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене*. Той обективно показва *повишен перипроцедурен тромбоемболичен риск при тези епизоди*.
3. За първи път е изследвана директно връзката между перипроцедурния тромбоемболичен потенциал на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене и тромбоемболичната рискова характеристика на пациента, като е проучен коагулационният статус при пациенти с различен тромбоемболичен риск. Доказано е, че липсват значими различия в него между пациентите с нисък риск (CHA₂DS₂-VASc score = 0 за мъже или 1 за жени) и тези с повишен (CHA₂DS₂-VASc score ≥ 2 без полова характеристика).
4. Показано е, *че първите шест часа на пароксизмално предсърдно мъждене носят значимо по-ниска прокоагулантна активност*.
5. Представените резултати не само се съгласуват с последните препоръки на Европейското дружество по кардиология за лечение на кратките (≤ 24 часа) епизоди пароксизмално предсърдно мъждене, публикувани през 2020 год., но в значителна степен ги надграждат:
 - очертава се ясно необходимост от своевременна *перипроцедурна антикоагулантна терапия до пълно възстановяване на хемостазния профил при всички пациенти с кратък (≤ 24 часа) епизод пароксизмално предсърдно мъждене*, вкл. при много нискорисковите (CHA₂DS₂-VASc score = 0 за мъже или 1 за жени).

- дават се първите научни доказателства, които подкрепят емпиричното правило за незабавна антикоагулация в хода на предсърдно мъждене;
 - представя се аргументирана потребност от *възможно най-ранен опит за възстановяване на синусов ритъм при пароксизмално предсърдно мъждене*, който би ограничил прокоагулантните отклонения и свързани с тях перипроцедурен тромбоемболичен риск;
 - показано е, че *подходът „wait and watch”* през първите 24 часа на заболяването, предложен в съвременните терапевтични препоръки, *води до кумулиране на протромботични маси, и в този смисъл е неуместен*;
 - предлага се рedefиниция на определението „идеални кандидати за остро кардиоверсио“, предложено от последните Европейски препоръки и стесняване продължителността на епизода при тях до първите шест часа на заболяването.
6. Изследваните клинично-лабораторни показатели предоставят възможности за използването им отвъд хемостазната оценка, чието въвеждане в клиничната практика налага допълнителни проучвания:
- създаване на нови ефективни антикоагулантни средства, на основата на представените факти за FXI и FXII, с очакван силно редуциран хеморагичен риск, спрямо утвърдените анти-FIIa и анти-FXa;
 - използване на някои от изследваните показатели като маркери за предикция на пароксизмално предсърдно мъждене;
 - прогнозиране на основното усложнение на пароксизмалното предсърдно мъждене - исхемичен мозъчен инсулт.

Ограничения на проучването, очертаващи перспективи за бъдещи изследвания

Като основно ограничение на нашето проучване считаме еднократното изследване на коагулационна и фибринолитична система при хоспитализация на пациентите и липсата на проследяване след възстановяване на синусов ритъм. То е предопределено от поставената цел и задачи, и заложено в създадения въз основа на тях дизайн на проучването. Необходимостта от изследване на пациенти с CHA₂DS₂-VASc score ≥ 1 (извън полова характеристика), налагащ инициране на дългосрочна антикоагулация, изключва възможността за проследяване на показателите във времето, тъй като това би наложило изследването им на фона на провеждано антикоагулантно лечение. Това ще компрометира достоверността на получените резултати. Същевременно, представеното ограничение е предпоставка за нови проучвания с дизайн, определящ обективна възможност за изследване на системите в динамика.

VII. ПУБЛИКАЦИИ И УЧАСТИЯ В НАУЧНИ ФОРУМИ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

1. Пълнотекстови публикации в реферирани и индексирани списания

1. **Negreva MN**, Prodanova KS, Vitlianova KD. Paroxysmal atrial fibrillation is associated with early coagulation activity regardless of risk factors for embolism. *Minerva Cardiol Angiol.* 2021;69(3):269-276. doi: 10.23736/S2724-5683.20.05209-3. PMID: 32657551
2. **Negreva M**, Zarkova A, Prodanova K, Petrov P. Paroxysmal Atrial Fibrillation: Insight Into the Intimate Mechanisms of Coagulation. *Cardiol Res.* 2020;11(1):22-32. doi: 10.14740/cr972. Epub 2020 Jan 26. PMID: 32095193; PMCID: PMC7011925
3. **Negreva M**, Prodanova K, Zarkova A. Paroxysmal atrial fibrillation: an independent risk factor for prothrombotic conditions. *JAFIB.* 2020;13(2):2297. doi: 10.4022/jafib.2297. PMID: 34950291; PMCID: PMC8691306
4. **Negreva MN**, Prodanova K, Vitlianova K, Madjova C. Paroxysmal atrial fibrillation: changes in factor VIII and von Willebrand factor impose early hypercoagulability. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2020;5:e140-e147. doi:10.5114/amsad.2020.97101
5. **Negreva M**, Georgiev S, Vitlianova K. Early effects of paroxysmal atrial fibrillation on plasma markers of fibrinolysis. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(45):e5184. doi: 10.1097/MD.0000000000005184. PMID: 27828845; PMCID: PMC5106051

2. Пълнотекстови статии в реферирани списания с научно рецензиране

1. Prodanova K, **Negreva M**, Vitlianova K. Diagnostic Values of Some Fibrinolytic Indicators for Rejecting the Presence of Paroxysmal Atrial Fibrillation. *IJBASAC*. 2020;2(12):1-6. doi: 10.35940/ijbsac.L0171.0421220
2. Prodanova K, **Negreva M**. Mathematical Models for the Prediction of Coagulation Activity in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. *IJBASAC*. 2020;3(2):1-6. DOI: 10.35940/ijbsac.B0196.099320
3. **Negreva M**, Georgiev S, Zarkova A. Fibrinolytic activity in atrial fibrillation. *WJARR*. 2020;6(2):193-200. DOI: 10.30574/wjarr.2020.6.2.0156
4. Vitlianova K, **Negreva M**, Madjova C. Paroxysmal and non-paroxysmal atrial fibrillation: does the arrhythmia type influence thromboembolic risk? *WJARR*. 2020;6(1):192-199. doi: 10.30574/wjarr.2020.6.1.0104
5. **Negreva M**, Prodanova K, Vitlianova K, Madjova C. The Intrinsic Coagulation Pathway: Early Activation in Paroxysmal Atrial Fibrillation. *East African Scholars J Med Sci*. 2019;2(12):705-711. doi: 10.36349/EASMS.2019.v02i12.008

3. Публикувани резюмета от международни конгреси в реферирани и индексирани списания

1. **Negreva M**, A Zarkova, J Ilieva. Paroxysmal atrial fibrillation: insight into the intimate mechanisms of coagulation. *J Interv Card Electrophysiol*. 2020;57(1):163-205. doi:10.1007/s10840-019-00665-1
2. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. Early changes in FVIII and vWF plasma levels and activity in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *European Heart Journal*. 2018;39(1):P6617. doi: 10.1093/eurheartj/ehy566.P6617
3. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. The extrinsic and intrinsic pathways of coagulation are considerably activated in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *European Heart Journal*. 2017;38(10):P3620. doi: 10.1093/eurheartj/ehx504.P3620

4. Публикувани резюмета от международни конгреси в нереферирани списания с научно рецензиране

1. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. Early Markers of Coagulation Activity Prothrombin Fragments 1+2 and Fibrinopeptide A are Significantly Increased in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. *JACC: Clinical Electrophysiology*. 2017;3(10S):S23. doi:10.1016/j.jacep.2017.09.098 (реферира се от 2018 год.)

5. Участия в конгреси, симпозиуми, конференции

1. **Negreva M**, Zarkova A, Ilieva J. Paroxysmal atrial fibrillation: insight into the intimate mechanisms of coagulation. 16th Edition of Venice Arrhythmias, Venice, 3-5.10.2019 (poster presentation)
2. **Negreva M**, Vitlianova K, Georgiev Sv. Paroxysmal atrial fibrillation: early changes in the plasma activity of coagulation factors proaccelerin (F V), antihemophilic globulin B (F IX) and antihemophilic globulin C (F XI). Eurothrombosis: annual meeting of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis, Barcelona, 4-6.10.2018 (poster presentation)
3. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. Early changes in FVIII and vWF plasma levels and activity in patients with paroxysmal atrial fibrillation. Congress of European Society of Cardiology, Munich, 25-29.08.2018. (poster presentation)
4. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. The extrinsic and intrinsic pathways of coagulation are considerably activated in patients with paroxysmal atrial fibrillation. Congress of European Society of Cardiology, Barcelona, 26-30.08.2017 (poster presentation)
5. **Negreva M**, Vitlianova K, Tasheva R. Early markers of coagulation activity prothrombin fragments 1+2 and fibrinopeptide A are significantly increased in patients with paroxysmal atrial fibrillation. 15th Edition of Venice Arrhythmias. Venice, 25-27.10.2017 (poster presentation)
6. **Негрева М**, Георгиев Св, Пенев А. Ранни промени в хемостазния профил на пациенти с пароксизмално предсърдно мъждене. 15-ти Национален конгрес по кардиология, София, НДК, 6-9.10.2016 (доклад)
7. Penev A, **Negreva M**, Nyagolov J. Activity of fibrinolytic system in recent-onset atrial fibrillation and structurally normal hearts. EuroThrombosis: annual meeting of the European Society of Cardiology Working Group on Thrombosis, Vienna, 11-14.10.2012 (moderated poster presentation)

VIII. ЗАБЕЛЯЗАНИ ЦИТИРАНИЯ СВЪРЗАНИ С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД

Забелязани са само положителни цитирания, представени в световните научни бази данни Web of science и Scopus.

Публикация:

Prodanova K, **Negreva M**, Vitlianova K. Diagnostic Values of Some Fibrinolytic Indicators for Rejecting the Presence of Paroxysmal Atrial Fibrillation. IJBSAC. 2020;2(12):1-6. doi: 10.35940/ijbsac.L0171.0421220

Цитирана от:

1. Khan T, Sherazi HHR, Ali M, Letchmunan S, Butt UM. Deep Learning-Based Growth Prediction System: A Use Case of China Agriculture. Agronomy. 2021;11(8):1551. doi: 10.3390/agronomy11081551

Публикация:

Negreva MN, Prodanova K, Vitlianova K, Madjova C. Paroxysmal atrial fibrillation: changes in factor VIII and von Willebrand factor impose early hypercoagulability. Arch Med Sci Atheroscler Dis. 2020;5:e140-e147. doi:10.5114/amsad.2020.97101

Цитирана от:

2. Komatsu C, Iseki H, Goto S, Goto S. Variability of PT-INR values measured by point of care devices INRatio/INRatio 2 and CoaguChek XS and standard laboratory method. A cross-sectional study. Archives of Medical Science. 2020. doi:10.5114/aoms.2020.99165.
3. Bian J, Chen L, Li Q, Zhao Y, Yin D, Sun S. Relationship between Serum FGF21 and vWF Expression and Carotid Atherosclerosis in Elderly Patients with Hypertension. Journal of Healthcare Engineering. 2022 Feb 22;2022:e6777771. doi: 10.1155/2022/6777771
4. Kiss Z, Márk L, Herczeg B, Aradi D, Rokszin G, Fábíán I, Horváth K, Wittmann I, Kiss RG, Dézsi C, Csanádi Z, Merkely B. Improvement in age- and sex-dependent mortality in patients with atrial fibrillation between 2011 and 2016 – a nationwide retrospective study from Hungary. Archives of Medical Science. 2021. doi: 10.5114/aoms/128390

Публикация:

Negreva M, Vitlianova K, Tasheva R. Early Markers of Coagulation Activity Prothrombin Fragments 1+2 and Fibrinopeptide A are Significantly Increased in Patients with Paroxysmal Atrial Fibrillation. *JACC: Clinical Electrophysiology*. 2017;3(10S):S23. doi:10.1016/j.jacep.2017.09.098

Цитирана от:

5. Arvanitis P, Johansson A-K, Frick M, Malmborg H, Gerovasileiou S, Larsson E-M, Blomstrom-Lundqvist C. Recent-onset atrial fibrillation: a study exploring the elements of Virchow's triad after cardioversion. *J Interv Card Electrophysiol*. 2021. doi: 10.1007/s10840-021-01078-9

Публикация:

Negreva M, Georgiev S, Vitlianova K. Early effects of paroxysmal atrial fibrillation on plasma markers of fibrinolysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(45):e5184. doi: 10.1097/MD.0000000000005184. PMID: 27828845; PMCID: PMC5106051

Цитирана от:

6. Babaroor-Farrokhran S, Gill D, Alzubi J, Mainigi SK. Atrial fibrillation: the role of hypoxia-inducible factor-1-regulated cytokines. *Mol Cell Biochem*. 2021 Jun;476(6):2283-2293. doi: 10.1007/s11010-021-04082-9.
7. Otto A, Fareed J, Liles J, Statz S, Walborn A, Rowe T, Jabati S, Hoppensteadt D, Syed MA. Fibrinolytic Deficit and Platelet Activation in Atrial Fibrillation and Their Postablation Modulation. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2018 Jul;24(5):803–7.
8. Patel D, Darki A, Hoppensteadt D, Darwish I, Syed M, Brailovsky Y, Fareed J. Biomarkers of Thrombo-Inflammatory Responses in Pulmonary Embolism Patients With Pre-Existing Versus New-Onset Atrial Fibrillation. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2021 Dec;27:10760296211014964

IX. СПРАВКА ЗА ИМПАКТ ФАКТОР

МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ - VARNA
 „ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ“
 ул. „Марин Дринов“ 55, Варна 9002, България
 тел.: +359 52 677 050, факс: +359 52 650 019
 e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg



MEDICAL UNIVERSITY - VARNA
 „PROF. DR. PARASKEV STOYANOV“
 55 Marin Drinov Str., 9002 Varna, Bulgaria
 phone: +359 52 677 050, fax: +359 52 650 019
 e-mail: uni@mu-varna.bg, www.mu-varna.bg

ПРИЛОЖЕНИЕ IF

ИМПАКТ ФАКТОР НА СПИСАНИЯТА, В КОИТО КАНДИДАТЪТ ИМА ПУБЛИКАЦИИ

№	Автори	Заглавие	Списание	Година	IF
Пълнотекстови публикации					
1.	Negreva MN, Prodanova KS, Vitlianova KD	Paroxysmal atrial fibrillation is associated with early coagulation activity regardless of risk factors for embolism	<i>Minerva Cardiology and Angiology</i>	2021	1.347 (IF=2020)
2.	Negreva M, Georgiev S, Vitlianova K	Early effects of paroxysmal atrial fibrillation on plasma markers of fibrinolysis	<i>MEDICINE</i>	2016	1.804
Резюмета					
3.	Negreva M, Vitlianova K, Tasheva R	Early changes in FVIII and vWF plasma levels and activity in patients with paroxysmal atrial fibrillation	<i>EUROPEAN HEART JOURNAL</i>	2018	24.889
4.	Negreva M, Vitlianova K, Tasheva R	The extrinsic and intrinsic pathways of coagulation are considerably activated in patients with paroxysmal atrial fibrillation	<i>EUROPEAN HEART JOURNAL</i>	2017	23.425
				ОБЩО:	51.465