

ДИАГНОСТИКА НАРУШЕНИЙ В СИСТЕМЕ ГЕМОСТАЗА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ВАРФАРИНА У БОЛЬНЫХ КАРДИОХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Е. И. Гончарова¹, Е. А. Спиридонова^{2,3}, А. Н. Баландина²,
А. В. Полетаев², А. М. Сепоян², Ф. И. Атауллаханов^{2,4}, С. А. Румянцев^{2,5},
Н. Н. Самсонова⁶, Л. Г. Климович⁶, Е. А. Корниенко¹

- ¹ 3-й центральный военный клинический госпиталь им. А. А. Вишневого Минобороны России, Красногорск, Россия
Россия, 143421, Московская обл., Красногорский р-н, п/о Архангельское, пос. Новый
- ² Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева Минздрава России, Москва, Россия
Россия, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Саморы Машела, д.1
- ³ Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова Минздрава России, Москва, Россия
Россия, 127473, Москва, ул. Десятская, д.20, стр.1
- ⁴ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия
Россия, 119991, Москва, ул. Косыгина, д.4.
- ⁵ Национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия
Россия, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Островитянова, д. 1
- ⁶ Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева, Москва, Россия
Россия, 117931, Москва, просп. Ленинский, д. 8

Diagnosis of Impairments in the Hemostatic System in the Use of Warfarin in Cardiac Surgical Patients

E. I. Goncharova¹, E. A. Spiridonova^{2,3}, A. N. Balandina², A. V. Poletaev², A. M. Sepoyan²,
F.I. Ataulakhanov^{2,4}, S. A. Romyantsev^{2,5}, N. N. Samsonova⁶, L. G. Klimovich⁶, E. A. Kornienko¹

- ¹ A. A. Vishnevsky Central Military Clinical Hospital Three, Ministry of Defense of the Russian Federation, Krasnogorsk, Russia
Novyi Hospital, Arkhangelskoe, Krasnogorsky District, Moscow Region 143421, Russia
- ² Dmitry Rogachev Federal Research-and-Clinical Center for Pediatric Hematology, Oncology, and Immunology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
1, Samory Mashela St., Moscow 117997, GSP-7, Russia
- ³ A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
20, Delegatskaya St., Build 1, Moscow 127473, Russia
- ⁴ Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
4, Kosygin St. Moscow 119991, Moscow, Russia
- ⁵ N. I. Pirogov National Research Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia
1, Ostrovityanov St., Moscow 117997, GSP-7, Russia
- ⁶ A. N. Bakulev Research Center of Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia
8, Leninsky Prosp., Moscow 117931, Russia

Цель работы. Выявление ранних изменений в системе гемостаза при терапии варфарином у кардиохирургических больных путем комплексной оценки гемостатического статуса пациентов. **Материалы и методы.** Исследовано 75 пациентов, прошедших кардиохирургическое лечение. Все пациенты получали варфарин (продолжительность лечения больных — $5 \pm 1,5$ суток). Для оценки гемостатического статуса больных использовали лабораторные методы, включающие определение рутинных показателей коагулограммы, тромбодинамики (время задержки Плаг и скорости роста сгустка (V_s), исследования концентрации II, VII, IX, X факторов). **Результаты.** Установлено, что у 28% больных показатель МНО находился в области свыше 3.0. Установлена корреляция Плаг с МНО ($R^2=0,66$). Оба показателя имеют сравнительно высокую корреляцию с концентрацией FII и FX ($R^2=0,50$ и $0,40$ для Плаг, $R^2=0,53$ и $0,48$ для МНО) и не коррелируют с концентрацией FIX ($R^2=0,20$ для Плаг и $0,34$ для МНО). Однако наблюдается расхождение в случае концентрации FVII: корреляция для Плаг отсутствует ($R^2=0,20$), тогда как для МНО она достаточно высока ($R^2=0,42$). Параметр V_s не коррелирует с МНО ($R^2=0,24$) и концентрацией

Адрес для корреспонденции:

Елена Спиридонова
E-mail: spiridonova.e.a@gmail.com

Correspondence to:

Elena Spiridonova
E-mail: spiridonova.e.a@gmail.com

Hemostatic System

цией факторов свертывания ($R^2 < 0,1$). Обнаружена высокая корреляция между концентрациями факторов FII и FX ($R^2 = 0,87$), корреляция между концентрациями всех других пар факторов свертывания существенно ниже ($R^2 \leq 0,45$). Отсутствие корреляции такого показателя тромбодинамики как скорость роста сгустка от концентрации факторов указывает на то, что варфарин действует преимущественно на фазу активации свертывания, но не на фазу распространения сгустка. *Заключение.* Слабая корреляция факторов свертывания между собой (за исключением пары фактор II — фактор X) указывает на индивидуальный ответ больных на лечение варфарином и необходимость мониторинга состояния гемостаза не по отдельным белкам, а глобальными тестами. Параметр Tlag в тромбодинамике отражает эффект варфарина пропорционально МНО. Варфарин практически не влияет на скорость роста сгустка Vs, поэтому данный параметр можно использовать для оценки прокоагулянтного состояния пациента, не компенсируемого приемом варфарина. *Ключевые слова:* варфарин, гемостаз, факторы свертывания, тромбодинамика.

Objective: to reveal early changes in the hemostatic system during warfarin therapy in cardiac surgical patients, by comprehensively evaluating their hemostatic status. *Subjects and methods.* Seventy-five patients receiving cardiac surgical treatment were examined. All the patients took warfarin for 5 ± 1.5 days. Laboratory studies involving the determination of routine coagulogram readings and thrombodynamic indicators (lag time (Tlag) and rate (Vs) of clot growth, and concentrations of individual Factors II, VI, IX, and X) were used to evaluate the patients' hemostatic status. *Results.* 28% of the patients were found to have an international normalized ratio (INR) of above 3.0. There was a correlation of Tlag with INR ($R^2 = 0.66$). Both indicators were comparatively highly correlated with Factor II and Factor X concentrations ($R^2 = 0.50$ and 0.40 for Tlag; $R^2 = 0.53$ and 0.48 for INR) and were uncorrelated with Factor IX levels ($R^2 = 0.20$ for Tlag and 0.34 for INR). However, there was a difference in Factor VII concentrations: no correlation for Tlag ($R^2 = 0.20$) whereas it for INR was rather high ($R^2 = 0.42$). The index Vs was uncorrelated with INR ($R^2 = 0.24$) and the concentration of blood coagulation factors ($R^2 < 0.1$). There was a high correlation between Factor II and Factor X concentrations ($R^2 = 0.87$); the correlation between the concentrations of all other pairs of coagulation factors was substantially lower ($R^2 \leq 0.45$). The lack of correlation of a thrombodynamic indicator, such as clot growth rate, with the concentration of coagulation factors points to the fact that warfarin acts mainly on the phase of coagulation activation rather than that of clot propagation. *Conclusion.* The weak correlation between coagulation factors (except that of a pair of Factor II and Factor X) is indicative of the individual response of the patients to warfarin treatment and the need to monitor the hemostatic status by global hemostatic tests rather than by individual proteins. The thrombodynamic indicator Tlag reflects the effect of warfarin in proportion to INR. Warfarin virtually fails to affect the rate of clot growth so this indicator may be used to evaluate the patient's procoagulant status uncompensated for with warfarin intake. *Key words:* warfarin, hemostasis, coagulation factors, thrombodynamics.

DOI:10.15360/1813-9779-2015-4-51-59

Введение

Антитромботическая терапия широко применяется в клинической практике для профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений (ТЭО). С целью проведения длительной профилактики ТЭО широко используются непрямые антикоагулянты (НАК). Наиболее эффективный препарат из группы НАК — варфарин. Согласно современным клиническим рекомендациям, НАК широко применяются в лечении больных с протезированием клапанов сердца, для которых он является безальтернативным препаратом [1, 2, 4–9].

Основную опасность для жизни больных с искусственными клапанами сердца представляют тромбоэмболические осложнения. Риск развития тромбоза искусственного клапана — жизнеугрожающего осложнения, при отсутствии терапии АВК достигает 8–22% от общего числа выполненных оперативных вмешательств в год [10–12].

В настоящее время доказано, что лечение варфарином редуцирует риск возникновения системных тромбоэмболий на 75% после пересадки механических клапанов [2, 5, 6]. Вместе с тем, столь же очевидно, что именно указанная группа осложнений в значительной степени ухудшает прогноз течения послеоперационного периода вследствие объективной сложности выполнения повторных хирургических вмешательств. Следует отметить, что у больных с биопротезами без факторов риска тромбоэмболических осложнений, длительность терапии АВК составляет не менее 3 месяцев [3, 10, 13–15].

Introduction

Antithrombotic therapy is commonly employed in clinical practice in order to prevent and treat thromboembolic complications. Indirect anticoagulants (IAC) are commonly used for the long-term prophylaxis. The most effective drug from the IAC group is warfarin. According to current clinical guidelines IAC are commonly used for treatment of patients with artificial heart valves; in these cases only warfarin is indicated [1, 2, 4–9].

The main risk factor for the life of patients with artificial heart valves is thromboembolic complications. The risk of thrombosis of artificial valve without anticoagulation therapy reaches 8–22% of the total number of surgical interventions per year [10–12].

Warfarin therapy has been proven to reduce the risk of systemic embolism by 75% after the transplantation of artificial valves [2, 5, 6]. However, it has become clear that this group of complications significantly worsens the prognosis of postoperative period because of the objective difficulties of performing of repeated surgical interventions. The anticoagulation therapy with IAC is to last not shorter than 3 months in patients with bioprothesis without additional risk factors of thromboembolic complications [3, 10, 13–15].

The effectiveness and safety of the early stages of warfarin therapy is bound to the issues of adequate control of hemostasis system condition. To minimize the risk of haemorrhagic and thromboembolic complications when selecting the initial warfarin dose, the correct methods of laboratory diagnostics should be used indicating the

Вопросы эффективности и безопасности ранних этапов варфаринотерапии тесно сопряжены с вопросами адекватного контроля состояния системы гемостаза. С целью минимизации риска развития геморрагических и тромбоземболических осложнений при подборе начальной дозы варфарина целесообразно использование корректных методов лабораторной диагностики изменений в системе гемостаза, свидетельствующих об особенностях индивидуальной чувствительности больного к препарату. Известно, при достижении необходимого уровня гипокоагуляции требует назначение окончательной дозировки препарата, характеризующихся 20-кратным превышением исходной (от 1,25 до 25 мг в сутки) [7–9, 15–17].

В настоящий время в лабораторной практике используются тесты системы гемостаза, которые можно разделить на два вида. Первый — «локальные» тесты, результаты которых позволяют охарактеризовать состояние отдельных факторов или звеньев каскадной реакции. В их число входят рутинные, ежедневно используемые тесты, такие как АЧТВ, протромбиновое время (ПВ), протромбиновый индекс (ПТИ), международное нормализованное отношение (МНО), фибриноген и ряд других показателей. Второй — «глобальные» коагулологические тесты, результаты которых позволяют оценить работу системы гемостаза в целом [18–25].

Проведенный нами литературный поиск по рассматриваемой проблеме показал, что перспективы повышения объективности и качества в оценке состояния системы гемостаза возможно при выполнении комплекса лабораторных исследований, включающих как широко используемые в рутинной практике «локальные» тесты, так и «глобальные» коагулологические методы [18–25].

Принимая во внимание изложенное, целью настоящей работы являлось выявление ранних изменений в системе гемостаза при лечении варфарином у кардиохирургических больных путем комплексной оценки их гемостатического статуса.

Материал и методы

Выполнено многоцентровое клинико-лабораторное исследование состояния системы гемостаза у 75 больных кардиохирургического профиля в стадии подбора стартовой дозы варфарина в постоперационном периоде. Исследование выполнено на следующих клинических базах: ФГБНУ «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева», ФГБУ «3-й центральный военный клинический госпиталь им. А. А. Вишневого» Министерства обороны Российской Федерации, ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Показанием к госпитализации являлась необходимость проведения оперативного вмешательства в объеме протезирования клапанов (аортального, митрального), сочетанных операций коронарного шунтирования и протезирования клапанов. Средний возраст больных составил $59,7 \pm 9,75$ лет. Все больные впервые начали получать варфарин по существующему стандарту [1].

patient's individual sensitivity to the drug. Sometimes a dosage of warfarin needed to achieve the anticoagulation effect is 20 times greater than the initial one (ranging from 1,25 mg to 25 mg per day) [7–9, 15–17].

The laboratory tests of the hemostasis system that are employed nowadays can be divided into two types. The first group includes so-called «local» tests. They indicate the condition of individual coagulation factors or definite stages of cascade coagulation reaction. These tests include such routine tests as APTT, prothrombin time (PT), prothrombin index (PTI), international normalized ratio (INR), fibrinogen, and several other indicators. The second group includes «global» tests that allow evaluating the function of the whole coagulation system [18–25].

According to published data, the prospects for improving the accuracy and quality of the assessment of hemostasis is performing complex laboratory tests, including both «local» tests commonly used in routine practice and «global» coagulation tests [18–25].

Therefore, the aim of this study was to detect early changes in the coagulation system during warfarin therapy in cardiac surgery patients through a comprehensive assessment of their hemostatic status.

Materials and Methods

A multicenter clinical and laboratory study of hemostasis was performed in 75 cardiac surgery patients initiated at the stage of selection of the initial warfarin dose in postoperative period. The patients for the study were collected from the following clinical institutions: Scientific center of cardiovascular surgery named after A. N. Bakulev, The Third Central military clinical hospital named after A. A. Vishnevsky, Federal scientific clinical centre of pediatric Hematology, Oncology and immunology named after Dmitry Rogachev.

The main indication for hospitalization was the need in valve replacement (either aortic, or mitral), combined coronary bypass grafting and valve replacement. The mean age of the patients was $59,7 \pm 9,75$ years. All the patients started warfarin therapy according to the existing guidelines [1].

All the patients were divided into three groups in accordance to. The first group (with INR values lower than 2) included 24 patients; the second (values of INR varied from 2,0 to 3,0) included 30 patients, and the third (INR values were greater than 3,0) included 21 patients. The duration of warfarin therapy was $5 \pm 1,5$ days.

All the patients underwent complex clinical, instrumental and laboratory examinations during the postoperative period. The laboratory tests included determination of coagulation indicators (APTT, INR, fibrinogen level) in dynamics; thrombodynamics (estimated parameters of spatial fibrin clot growth: the delay time of clot growth (lag-period, Tlag), the initial and stationary rates of clot growth (Vi and Vs), clot size after 30 minutes (CS) and intensity of light scattering from fibrin clot (D); laboratory analysis of concentrations of selected coagulation factors (II, VII, IX, X). Statistical processing of the data was performed using the program STATISTICA 7.0.

Results and Discussion

In 28% of patients (21 of 75) INR values were greater than 3,0 that exceeded the limits of the reference values. In 9,5% of patients (2 of 21 patients) had boundary values of INR (varied from 3.5 to 4). In all the patients the time of delayed clot growth was either normal, or hypoco-

Hemostatic System

В зависимости от значений показателя МНО было сформировано три группы больных: первая группа с МНО менее 2 — 24 больных; вторая — с МНО от 2,0 до 3,0 — 30 больных и третья — с МНО более 3,0 — 21 больной. Продолжительность лечения варфарином при проведении исследования составила $5 \pm 1,5$ суток.

Больным проводилось комплексное клинико-инструментальное, лабораторное обследование в течение постоперационного периода.

Лабораторное исследование системы гемостаза производили на автоматическом коагулометре ACL 9000 (Instrumentation Laboratory, США) с использованием реагентов Instrumentation Laboratory, США. Выполнено исследование стандартных показателей коагулограммы (АЧТВ, МНО, фибриногена); концентрации отдельных факторов свертывания — II, VII, IX, X; проанализированы показатели тромбодинамики (оценивались параметры пространственного роста фибринового сгустка: время задержки роста сгустка (лаг-период, Tlag), скорость роста сгустка (V). Тест тромбодинамики выполнен на «Регистраторе Тромбодинамики Т-2» (Гемакор, Россия). Статистическая обработка цифрового материала выполнена на ПК с использованием программы OriginPro 8.5, вычисляли среднее значение величины (M), стандартное отклонение от среднего (σ), коэффициент корреляции Спирмена (r) и коэффициент детерминации (R^2). Для сравнения количественных показателей в группах и определения различий между ними использовали непараметрический U критерий Манна-Уитни. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

При установлении корреляции руководствовались стандартной классификацией: r от 0,0 до -0,25 и до +0,25 — отсутствие связи; r от 0,26 до 0,5 (от -0,26 до -0,5) — умеренная связь; r от 0,51 до 0,75 (от -0,51 до -0,75) — средней силы связь; r от 0,76 до 1,0 (от -0,76 до -1,0) — сильная связь.

Результаты и обсуждение

У 28% больных (21 из 75) показатель МНО находился в области свыше 3,0, что превышало пределы референсного значения. Среди этой группы для 9,5% пациентов (2 больных) достигались пограничные значения МНО — от 3,5 до 4. У всех больных время задержки роста сгустка находилось либо в пределах нормы, либо в области гипокоагуляции. Однако по скорости роста сгустка выявлено 5% больных (1 пациент) с гиперкоагуляцией; в указанной группе больных была выполнена коррекция лечения.

При проведении анализа изложенного нами факта следует отметить, что в соответствии с величиной МНО на фоне приема варфарина выделяется три уровня интенсивности гипокоагуляции: высокий (МНО 2,5–3,5), средний (МНО 2,0–3,0) и низкий (МНО от 1,6 до 2,0). Перечисленные критерии являются индикаторами эффективности варфаринотерапии: в период подбора дозы (1–3 недели) и в нестабильный период (может длиться до 12 недель от начала приема варфарина), в стабильный период или период поддерживающей дозы (после 12 недель от начала приема препарата) [3, 4–9, 15, 16].

При применении варфарина целевой уровень антикоагуляции в подавляющем большинстве случаев должен соответствовать диапазону МНО 2,5–3,5, за исключением больных после имплантации современного двустворчатого протеза аортального клапана при отсутствии у них других факторов риска тромбоэмбо-

agulation was observed. However, there were 5% of patients (1 patient of 21) with a tendency to hypercoagulation; in these cases the correction of the treatment was performed.

Analyzing the above mentioned fact, there were three levels of anticoagulation intensity: high (INR 2.5 to 3.5), medium (INR 2.0–3.0) and low (INR of 1.6 to 2.0). These criteria served as indicators of the effectiveness of warfarin therapy when selecting the dose (1–3 weeks), during unstable period (may take up to 12 weeks from initiation of a warfarin therapy) and in a stable period (after 12 weeks from the start of a therapy) [3, 4–9, 15, 16].

In majority of patients receiving warfarin the target level of INR varied within the range of 2.5–3.5 except the patients after the implantation of modern bileaflet prosthetic aortic valve without additional risk factors of thromboembolism. For the latter group of patients the target range of INR was 2.0–3.0 [3, 4–9, 15, 16].

The errors of laboratory tests caused a deviation of INR from the therapeutic range: insufficient anticoagulant effect (INR less than 2) increased the risk of thromboembolic complications, and excessive one (INR more than 3) increased the risk of bleedings, including intracranial ones. According to the literature, the annual frequency of life-threatening bleeding in patients receiving anticoagulation therapy ranged from 0.2 to 5.2%; the frequency of fatal bleeding was from 0.07 to 0.7%. The frequency of bleeding depends on the intensity of anticoagulation, which reflects the level of the INR [17].

This kind of errors is known to occur when INR is above the therapeutic range. According to the study SPIRIT, the increase of INR by 0.5 units above the therapeutic range increases the risk of hemorrhagic stroke 1.37 times [17]. Another problem is the instability of INR even in the case of a good laboratory control [15].

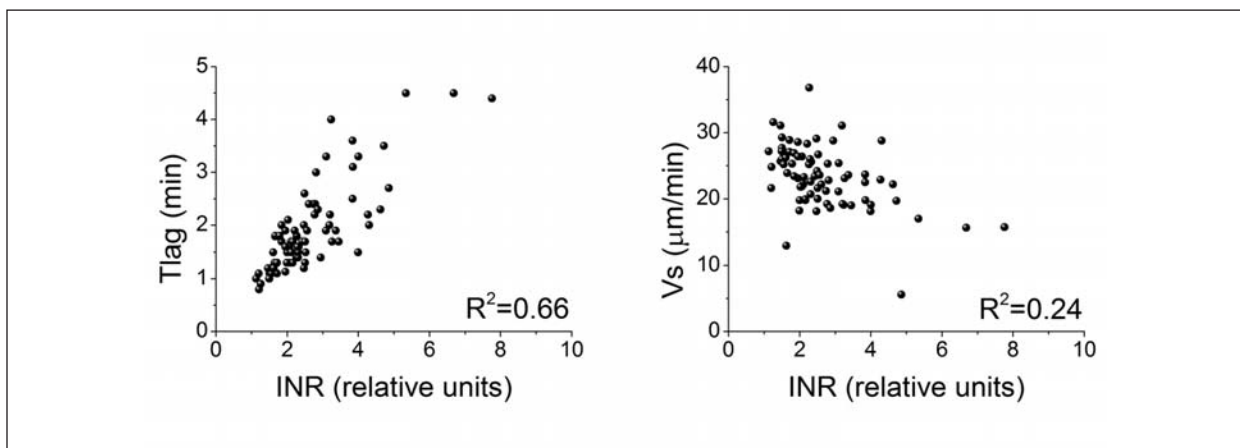
Our analysis of mean values showed a two-fold decrease in the concentration of factor II (from $44 \pm 16\%$ to $23 \pm 9\%$), factor IX (from $86 \pm 26\%$ to $48 \pm 21\%$), factor X (35 ± 19 to 15 ± 8) and a three-fold increase in the concentration of factor VII ($32 \pm 15\%$ to $11 \pm 5\%$) with associated increase of INR higher than 3.0. Thus, the greatest decrease in the concentrations of all four coagulation factors was observed in the group of patients with INR above 3,0 (table 1).

Taking into account the risk of development of disturbances in the haemostatic system, we consider that it is necessary to pay attention to the tendency of two-fold increase in the initial phase of clot formation indicator (Tlag), which was found in the study; clot growth rate Vs tended to decrease. The initial clot growth rate (Vi), the integral indicator of plasma level of coagulation (CS) and the density of fibrin clot (D) with increasing INR above 3,0 remained within the reference values. It is important, that routine indicators of coagulation, such as APTT and fibrinogen concentration, with increasing INR above 3,0 changed slightly: APTT decreased from 33 ± 5 sec. for INR 1–2 to 39 ± 8 sec. for INR greater than 3,0 respectively, and

Таблица 1. Показатели гемостаза у пациентов в зависимости от значения международного нормализованного отношения (МНО) ($M \pm \sigma$).**Table 1. The indices of haemostasis in patients depending on international normalized ratio (INR) ($M \pm \sigma$).**

Parameters	INR		
	<2 ($n=24$)	2–3 ($n=30$)	>3 ($n=21$)
АРТТ, sec	33±5	36±6	39±8
Fibrinogen, g/l	5,0±1,6	5,0±1,4	5,3±1,2
Factor II, %	44±16	29±8*	23±9**
Factor VII, %	32±15	22±10*	11±5**
Factor IX, %	86±26	69±22*	48±21**
Factor X, %	35±19	20±7*	15±8**
Tlag, min	1,3±0,3	1,8±0,4*	2,8±1,0**
Vi, $\mu\text{m}/\text{min}$	55±6	50±6*	44±9**
Vs, $\mu\text{m}/\text{min}$	26±4	24±4*	21±5**
CS ₃₀ , μm	1107±127	1017±140*	883±193**
D, units	26167±4484	26174±4184	26868±4641

Note (примечание): For Tables 1–3 (для Таблиц 1–3): Parameters – параметры; INR – МНО; АРТТ, sec – АЧТВ, сек; Fibrinogen, g/l – фибриноген, г/л; factor – фактор; Tlag (the delay time of clot growth), min – время задержки роста сгустка, мин; Vs (the stationary rate of clot growth), $\mu\text{m}/\text{min}$ – стационарная скорость роста сгустка, мкм/мин; Vi (initial clot growth rate), $\mu\text{m}/\text{min}$ – начальная скорость роста сгустка, мкм/мин; CS₃₀ (clot size after 30 minutes), μm – размер сгустка через 30 минут после начала исследования, мкм; D (the density of fibrin clot), units – плотность фибринового сгустка, единицы. Mean values and standard deviations from the mean values are presented – приведены средние значения и стандартные отклонения от среднего. * – $P < 0.05$ between groups with INR <2 and INR 2–3 – между группами с МНО <2 и МНО 2–3; ** – $P < 0.05$ between groups with INR >3 and INR 2–3 – между группами с МНО >3 и МНО 2–3.

**Рис. 1. Корреляция между показателями международного нормализованного отношения (МНО) и тромбодинамики.****Fig. 1. The correlation between international normalized ratio (INR) and indicators of thrombodynamics.**

Note (примечание): Tlag (the delay time of clot growth), min – время задержки роста сгустка, мин; V (the rate of clot growth), $\mu\text{m}/\text{min}$ – скорость роста сгустка, мкм/мин; INR (relative units) – МНО (относительные единицы).

лий; для последней группы больных целевой диапазон МНО – 2,0–3,0 [3–9, 15, 16].

Погрешности лабораторного контроля влекут отклонение от терапевтического диапазона МНО: недостаточный антикоагулянтный эффект (МНО менее 2) повышает риск тромбозоболоческих осложнений, а избыточный – МНО более 3 – увеличивает риск кровотечений, включая внутримозговые. По литературным данным ежегодная частота жизнеугрожающих кровотечений на фоне приема НАК составляет от 0,2 до 5,2%, в их структуре частота фатальных кровотечений – от 0,07 до 0,7%. Частота возникновения кровотечений напрямую зависит от интенсивности антикоагуляции, которую отражают значения МНО [17].

Хорошо известно, что наиболее уязвимой по несоответствию данных является зона МНО выше терапевти-

the concentration of fibrinogen grew from 5.0±1.6 (INR 1–2) to 5.3±1.2 g/l (INR greater than 3.0) (table 1).

The correlation between Tlag and INR was defined ($r^2=0.66$) (fig. 1). Both the indicators have a relatively high correlation with the concentration of FII and FX ($r^2=0.50$ and 0.40 for Tlag, $r^2=0.48$ and 0.53 for INR, respectively) and do not correlate with the concentration of F IX ($r^2=0.20$ for Tlag and 0.34 for INR). However, there is a discrepancy in case of F VII concentration: the correlation for T Ig is absent ($r^2=0.20$), whereas for INR it is high enough ($r^2=0.42$). The parameter Vs did not correlate with INR ($r^2=0.24$) and the concentration of coagulation factors ($r^2 < 0.1$) (Fig. 2).

A high correlation between the concentrations of factors FII and FX ($r^2=0.87$) was found, the correlation between the concentrations of all the other pairs of coagulation factors

ческого интервала. По данным исследования SPIRIT, при каждом увеличении значения МНО на 0,5 единицы выше терапевтического диапазона риск геморрагического инсульта возрастает в 1,37 раза [17]. Еще одной проблемой является нестабильность МНО даже при хорошем контроле и проведении измерений [15].

Проведенный нами анализ средних значений выявил двукратное снижение концентрации фактора II (с $44 \pm 16\%$ до $23 \pm 9\%$), фактора IX (с $86 \pm 26\%$ до $48 \pm 21\%$), фактора X (с $35 \pm 19\%$ до $15 \pm 8\%$) и трехкратное снижение фактора VII (с $32 \pm 15\%$ до $11 \pm 5\%$) при увеличении МНО выше 3.0. Таким образом, наиболее выраженное падение концентрации всех четырех факторов свёртывания наблюдалось в группе с МНО выше 3.0 (табл. 1).

С позиции прогнозирования развития нарушений в системе гемостаза считаем необходимым обратить внимание на выявленную в результате исследований тенденцию двукратного удлинения начальной фазы формирования сгустка (Tlag); скорость роста сгустка Vs имела тенденцию к снижению. Начальная скорость роста сгустка (Vi), интегральный показатель работы плазменного звена свертывания (CS) и показатель плотности фибринового сгустка (D) при увеличении МНО выше 3.0 оставались в пределах референсных значений. Существенно, что рутинные показатели коагулограммы, такие как АЧТВ и концентрация фибриногена, при увеличении МНО выше 3.0 изменялись незначительно: АЧТВ снижалось с 33 ± 5 сек. для МНО 1–2 до 39 ± 8 сек. для МНО более 3.0, а концентрация фибриногена росла с $5,0 \pm 1,6$ при МНО 1–2 до $5,3 \pm 1,2$ г/л при МНО более 3.0 (табл. 1).

Установлена сильная корреляция Tlag с МНО ($R^2=0,66$; $r=0,80$) (рис. 1). Оба показателя имеют среднюю корреляцию с концентрацией FII и FX ($R^2=0,50$; $r=-0,67$ и $R^2=0,40$; $r=-0,62$ для Tlag, $R^2=0,53$; $r=-0,62$ и $R^2=0,48$; $r=-0,60$ для МНО соответственно) (рис. 2) Выявлена умеренная корреляция уровня FIX с Tlag ($r=-0,43$) и средняя корреляция с показателем МНО ($r=-0,57$). Однако наблюдается

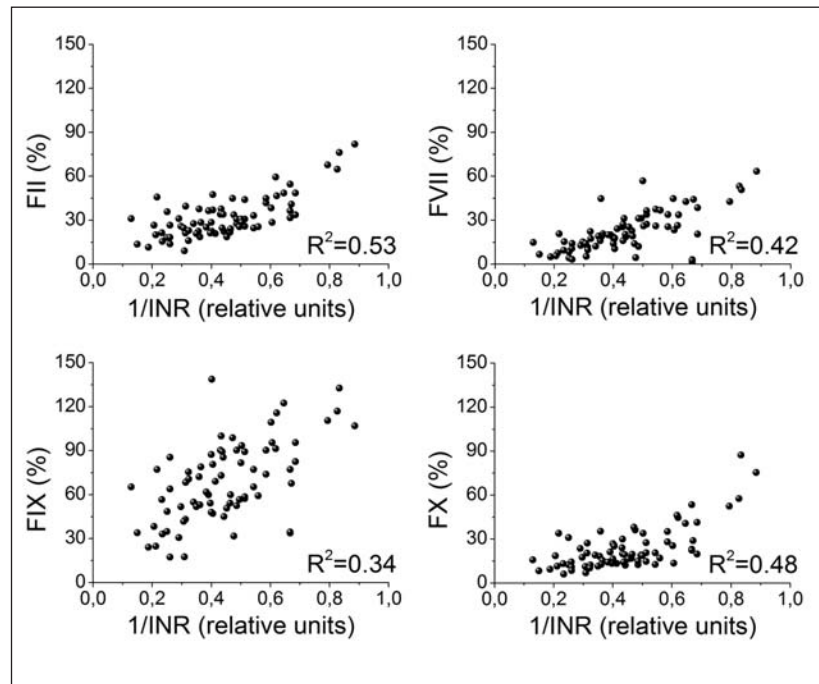


Рис. 2. Корреляция между показателями международного нормализованного отношения (МНО) и концентрацией факторов свертывания.

Fig. 2. The correlation between international normalized ratio (INR) and the concentration of coagulation factors.

Note (примечание): 1/INR (relative units) – 1/МНО (относительные единицы).

For Figures 2–3 (для Рисунков 2–3): F (factor) – фактор.

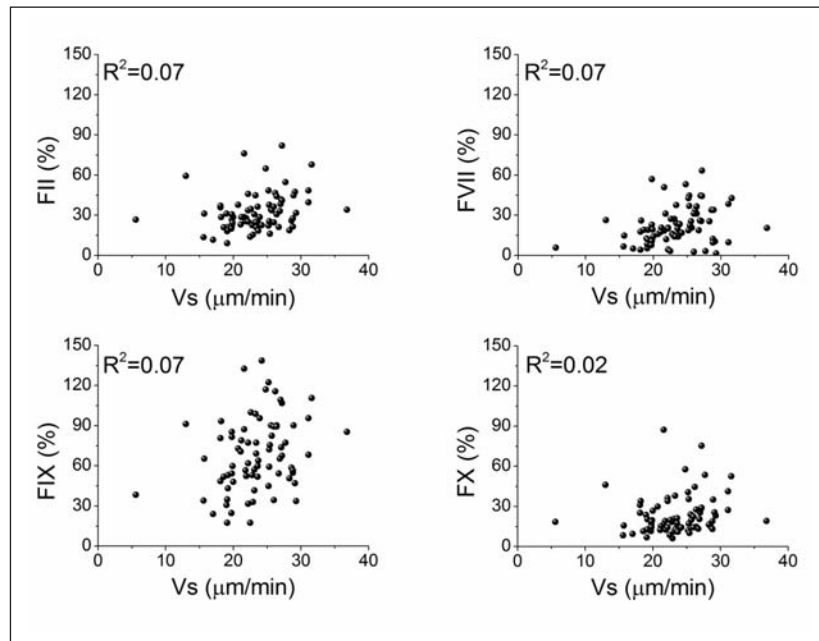


Рис. 3. Корреляция между стационарной скоростью роста сгустка и концентрацией факторов свертывания.

Fig. 3. The correlation between the stationary clot growth rate and the concentration of coagulation factors.

Note (примечание): Vs (the stationary rate of clot growth), $\mu\text{m}/\text{min}$ – стационарная скорость роста сгустка, мкм/мин.

was considerably lower ($r^2 \leq 0.45$). The lack of the correlation of such indicator of thrombodynamics as the rate of clot growth and the concentration of coagulation factors indicates that warfarin acts primarily on the activation phase of

Таблица 2. Корреляция стандартных тестов с тромбодинамикой.
Table 2. Correlation between the results of standard tests and thrombodynamics.

Parameters	Plag	Vi	Vs	CS	D
INR	0,80	-0,60	-0,50	-0,55	—
APTT	0,41	-0,44	-0,35	-0,45	—
Fibrinogen	—	—	—	—	0,65
Factor II	-0,67	0,51	0,37	0,45	—
Factor VII	-0,38	0,28	0,31	0,31	—
Factor IX	-0,43	0,36	0,31	0,36	—
Factor X	-0,62	0,39	0,28	0,35	—

Note (примечание). Here and in Table 3 (здесь и в табл. 3): $P < 0.05$ the Spearman rank coefficients — приведены коэффициенты корреляции Спирмена.

Таблица 3. Корреляция стандартных тестов между собой.
Table 3. Correlation between the results of standard tests.

Parameters	INR	APTT	Fibrinogen	Factor II	Factor VII	Factor IX	Factor IX
INR	1	0,42	—	-0,62	-0,62	-0,57	-0,60
APTT		1	—	-0,48	—	-0,39	-0,46
Fibrinogen			1	—	—	—	—
Factor II				1	0,40	0,61	0,91
Factor VII					1	0,70	0,37
Factor IX						1	0,51
Factor X							1

расхождение в случае концентрации FVII: умеренная корреляция с Plag ($r = -0,38$), тогда как для МНО выявлена связь средней силы ($r = -0,62$). Параметр Vs умеренно коррелирует с МНО ($r = -0,50$) и концентрацией факторов свертывания ($r = 0,37$ для фактора II; $r = 0,31$ для фактора VII; $r = 0,31$ для фактора IX; $r = 0,28$ для фактора X). Обнаружена сильная корреляция между концентрациями факторов FII и FX ($R^2 = 0,87$; $r = 0,91$), корреляция между концентрациями всех других пар факторов свертывания существенно ниже ($R^2 \leq 0,45$): связь средней силы уровня фактора IX с уровнями факторов II, VII и X ($r = 0,61$; $r = 0,70$; $r = 0,51$ соответственно) (табл. 2, 3 и рис. 3) Получена средняя корреляция фактора VII с фактором IX ($r = 0,70$) и умеренная связь с фактором X ($r = 0,31$). Уровни факторов IX и X коррелировали между собой со средней силой ($r = 0,51$) (табл. 3)

Слабая корреляция скорости роста сгустка от концентрации факторов, по нашему мнению, указывает на то, что варфарин действует преимущественно на фазу активации свертывания, но не на фазу распространения роста сгустка. Принимая во внимание изложенное, с целью всестороннего контроля состояния системы гемостаза в постоперационном периоде при кардиохирургических вмешательствах существенной является дополнительная оценка процесса тромбообразования в фазу роста сгустка (рис. 3).

Важно, что между собой факторы свертывания крови коррелируют слабо за исключением пары: фактор II — фактор X, изложенное свидетельствует о выраженном индивидуальном ответе больных на лечение варфарином и необходимости мониторинга состояния гемостаза не по отдельным факторам свертывания, а с

coagulation, but not on the phase of the bunch spread. Therefore, in order to control the state of the hemostatic system in the postoperative period after cardiosurgical interventions, it is important to evaluate additionally the process of thrombosis in the growth phase of the clot (Fig. 3).

It is important that the concentrations of coagulation factors correlate very poorly except the pair of factor II, factor X, which indicate individual responses of patients to warfarin therapy and the need for monitoring of hemostasis state not only by individual coagulation tests, but using laboratory methods — «global» coagulation tests. The individuality of the patient response dictates the need for complex use of «local» and «global» methods of clinical assessment of the status of the hemostasis system.

Conclusion

Our study has shown that routine laboratory tests have significant limitations in early diagnosis of disturbances in the haemostatic system. For the prevention of complications in patients upon cardiac surgery, who starts warfarin therapy, comprehensive laboratory monitoring is needed, including the use of «local» and «system» methods, clinical and laboratory evaluation of changes in the hemostasis system.

использованием лабораторных методов — глобальных коагулологических тестов. Таким образом мониторинг индивидуальности ответа больных диктует необходимость комплексного использования «локальных» и «глобальных» методов клинической оценки состояния системы гемостаза.

Заклучение

Рутинные лабораторные методы имеют существенные ограничения в ранней диагностике нарушений в системе гемостаза. С целью профилактики осложнений у

больных кардиохирургического профиля, находящихся в периоде подбора дозы варфарина, целесообразен комплексный лабораторный мониторинг, включающий применение «локальных» и «системных» методов клинико-лабораторной оценки изменений в системе гемостаза.

Литература

1. Сычев Д.А., Антонов И.М., Загребин С.В., Гасанов Н.А., Кукес В.Г. Алгоритмы дозирования варфарина, основанные на результатах фармакогенетического тестирования: реальная возможность оптимизации фармакотерапии. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2007; 3 (2): 59–68.
2. Хруслов М.В., Лобачев В.И., Уханова Ю.И. Эффективность централизованного мониторинга международного нормализованного отношения при лечении варфарином. *Тромбоз, гемостаз и реология*. 2014; 1 (57): 36–40.
3. Крощачева Е.С. Актуальные вопросы терапии варфарином для практикующих врачей. *РМЖ. Кардиология*. 2012; 20 (14): 686–692.
4. Крощачева Е.С., Панченко Е.П. Основы терапии антагонистами витамина К для практикующих врачей. *РМЖ. Кардиология*. 2009; 17 (8): 507–513.
5. Shuaib W., Iftikhar H., Alweis R., Shahid H. Warfarin therapy: survey of patients' knowledge of their drug regimen. *Malays. J. Med. Sci.* 2014; 21 (4): 37–41. PMID: 25977620
6. Wu L., Chang Q., Wang T., Zhang Z., Lou Y. Clinical observation of post-operative warfarin anticoagulation in 300 patients undergoing mitral valve replacement with a carbomedics mechanical valve. *Heart Surg. Forum*. 2015; 18 (2): E063–E066. <http://dx.doi.org/10.1532/hsf.1241>. PMID: 25924034
7. Entezari-Maleki T., Dousti S., Hamishehkar H., Gholami K. A systematic review on comparing two common models for management of warfarin therapy. Pharmacist-led service versus usual medical care. *J. Clin. Pharmacol.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1002/jcph.576>. PMID: 26100092
8. Maxwell W.D., Shrader S.P., Moore K.G., Lu Z.K., White S.F. Survey of pharmacists' subtherapeutic INR management and anticoagulation bridging practices. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpt.12300>. PMID: 26086075
9. Hawes E.M., Viera A.J. Anticoagulation: choosing the optimal anticoagulant. *FP Essent.* 2014; 422: 18–23. PMID: 25033002
10. Macedo A.F., Bell J., McCarron C., Conroy R., Richardson J., Scowcroft A., Sunderland T., Rotheram N. Determinants of oral anticoagulation control in new warfarin patients: analysis using data from Clinical Practice Research Datalink. *Thromb. Res.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2015.06.007>. PMID: 26073321
11. Chou A.Y., Mancini G.B. Warfarin monotherapy in atrial fibrillation patients with stable coronary disease one year after myocardial infarction/stent: two birds with one stone? *Can. J. Cardiol.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2015.03.007>. PMID: 26111669
12. Cai J., Preblich R., Zhang Q., Kwong W.J. Utilization of parenteral anticoagulants and warfarin: impact on the risk of venous thromboembolism recurrence in the outpatient setting. *Am. Health Drug Benefits*. 2014; 7 (8): 444–451. PMID: 25558306
13. Jung K.H., Yu K.H., Kim Y.D., Park J.M., Hong K.S., Rha J.H., Kwon S.U., Bae H.J., Heo J.H., Lee B.C., Yoon B.W. Antithrombotic management of patients with nonvalvular atrial fibrillation and ischemic stroke or transient ischemic attack: executive summary of the Korean Clinical Practice Guidelines for Stroke. *J. Stroke*. 2015; 17 (2): 210–215. <http://dx.doi.org/10.5853/jos.2015.17.2.210>. PMID: 26060808
14. Синауридзе Е.И., Пантелеев М.А., Бутылин А.А., Мельник К.С., Румянцев А.Г., Атауллаханов Ф.И. Новые подходы к антикоагулянтной терапии. *Современные медицинские технологии*. 2012; 9: 40–43.
15. Вавилова Т.В., Белявская О.О., Крупоткина И.Г., Мнускина М.М. Возможности портативных экспресс-коагулометров в контроле терапии варфарином. *Лабораторная диагностика*. 2015; 5: 2–4.
16. Панченко Е.П., Крощачева Е.С. Рекомендации по анти тромботической терапии у больных со стабильными проявлениями атеротромбоза. Институт клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГУ РКНПК Росмедтехнологий. М.; 2009.
17. Christensen T.D. Self-management of oral anticoagulation therapy: methodological and clinical aspects. *Dan. Med. Bull.* 2011; 58 (5): B4284. PMID: 21535992
18. Roberts H.R., Hoffman M., Monroe D.M. A cell-based model of thrombin generation. *Semin. Thromb. Hemost.* 2006; 32 (Suppl 1): 32–38. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-939552>. PMID: 16673264
19. Серебрянский И.И. «Глобальные» и «локальные» тесты системы гемостаза в диагностике гиперкоагуляционного синдрома. *Справоч-*

References

1. Sychev D.A., Antonov I.M., Zagrebina S.V., Gasanov N.A., Kukes V.G. Algorithm of doзированиya varfarina, osnovannyye na rezultatakh farmakogeneticheskogo testirovaniya: realnaya vozmozhnost optimizatsii farmakoterapii. [Warfarin dose regime approaches based on pharmacogenetics test results: real possibility to optimize the pharmacotherapy]. *Ratsionalnaya Farmakoterapiya v Kardiologii*. 2007; 3 (2): 59–68. [In Russ.]
2. Khruslov M.V., Lobachev V.I., Ukhanova Yu.I. Effektivnost tsentralizovannogo monitoringa mezhdunarodnogo normalizovannogo otnosheniya pri lechenii varfarinom. [Effectiveness for centralized monitoring of international normalized ratio at warfarin therapy]. *Tromboz, Gemostaz i Reologiya*. 2014; 1 (57): 36–40. [In Russ.]
3. Kropacheva E.S. Aktualnye voprosy terapii varfarinom dlya praktikuyushchikh vrachei. [Topical warfarin therapy problems for the practitioner]. *RMZh. Kardiologiya*. 2012; 20 (14): 686–692. [In Russ.]
4. Kropacheva E.S., Panchenko E.P. Osnovy terapii antagonistami vitamina K dlya praktikuyushchikh vrachei. [The mainstay of treatment with vitamin K antagonists for the practitioner]. *RMZh. Kardiologiya*. 2009; 17 (8): 507–513. [In Russ.]
5. Shuaib W., Iftikhar H., Alweis R., Shahid H. Warfarin therapy: survey of patients' knowledge of their drug regimen. *Malays. J. Med. Sci.* 2014; 21 (4): 37–41. PMID: 25977620
6. Wu L., Chang Q., Wang T., Zhang Z., Lou Y. Clinical observation of post-operative warfarin anticoagulation in 300 patients undergoing mitral valve replacement with a carbomedics mechanical valve. *Heart Surg. Forum*. 2015; 18 (2): E063–E066. <http://dx.doi.org/10.1532/hsf.1241>. PMID: 25924034
7. Entezari-Maleki T., Dousti S., Hamishehkar H., Gholami K. A systematic review on comparing two common models for management of warfarin therapy. Pharmacist-led service versus usual medical care. *J. Clin. Pharmacol.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1002/jcph.576>. PMID: 26100092
8. Maxwell W.D., Shrader S.P., Moore K.G., Lu Z.K., White S.F. Survey of pharmacists' subtherapeutic INR management and anticoagulation bridging practices. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpt.12300>. PMID: 26086075
9. Hawes E.M., Viera A.J. Anticoagulation: choosing the optimal anticoagulant. *FP Essent.* 2014; 422: 18–23. PMID: 25033002
10. Macedo A.F., Bell J., McCarron C., Conroy R., Richardson J., Scowcroft A., Sunderland T., Rotheram N. Determinants of oral anticoagulation control in new warfarin patients: analysis using data from Clinical Practice Research Datalink. *Thromb. Res.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.thromres.2015.06.007>. PMID: 26073321
11. Chou A.Y., Mancini G.B. Warfarin monotherapy in atrial fibrillation patients with stable coronary disease one year after myocardial infarction/stent: two birds with one stone? *Can. J. Cardiol.* 2015; [Epub ahead of print]. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cjca.2015.03.007>. PMID: 26111669
12. Cai J., Preblich R., Zhang Q., Kwong W.J. Utilization of parenteral anticoagulants and warfarin: impact on the risk of venous thromboembolism recurrence in the outpatient setting. *Am. Health Drug Benefits*. 2014; 7 (8): 444–451. PMID: 25558306
13. Jung K.H., Yu K.H., Kim Y.D., Park J.M., Hong K.S., Rha J.H., Kwon S.U., Bae H.J., Heo J.H., Lee B.C., Yoon B.W. Antithrombotic management of patients with nonvalvular atrial fibrillation and ischemic stroke or transient ischemic attack: executive summary of the Korean Clinical Practice Guidelines for Stroke. *J. Stroke*. 2015; 17 (2): 210–215. <http://dx.doi.org/10.5853/jos.2015.17.2.210>. PMID: 26060808
14. Sinauridze E.I., Panteleyev M.A., Butylin A.A., Melnik K.S., Rumyantsev A.G., Ataullakhanov F.I. Noveye podkhody k antikoagulyantnoi terapii. [New approaches to anticoagulant therapy]. *Sovremennye Meditsinskie Tekhnologii*. 2012; 9: 40–43. [In Russ.]
15. Vavilova T.V., Belyavskaya O.O., Krupotkina I.G., Mnutkina M.M. Vozmozhnosti portativnykh ekspress-koagulyantrov v kontrole terapii varfarinom. [Capacities of rapid portable coagulometers to monitor warfarin therapy]. *Laboratornaya Diagnostika*. 2015; 5: 2–4. [In Russ.]
16. Panchenko E.P., Kropacheva E.S. Rekomendatsii po antitromboticheskoi terapii u bolnykh so stabilnyimi proyavleniyami ateroskleroza. [Recommendations for antithrombotic therapy in patients with persistent manifestations of atherosclerosis]. Institut Klinicheskoi Kardiologii Imeni A.L.Myasnikova FGU RKNPK Rosmedtekhologii. Moscow; 2009. [In Russ.]

- ник заведующего клинико-диагностической лабораторией. 2012; 12: 27–34.
20. Пантелеев М.А., Котова Я.Н., Токарев А.А., Атауллаханов Ф.И. Механизмы регуляции свертывания крови. *Тер. архив.* 2008; 80 (7): 88–91. PMID: 18763608
 21. Бутылин А.А., Пантелеев М.А., Атауллаханов Ф.И. Пространственная динамика свертывания крови. *Рос. хим. журнал.* 2007; 51 (1): 45–50.
 22. Romney G., Glick M. An updated concept of coagulation with clinical implications. *J. Am. Dent. Assoc.* 2009; 140 (5): 567–574. <http://dx.doi.org/10.14219/jada.archive.2009.0227>. PMID: 19411526
 23. Wajima T., Isbister G.K., Duffull S.B. A comprehensive model for the humoral coagulation network in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2009; 86 (3): 290–298. <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2009.87>. PMID: 19516255
 24. Любосhevский П.А., Забусов А.В., Артамонова Н.И. Влияние области операции и метода анестезии на нарушения гемостаза. *Общая реаниматология.* 2009; 5 (4): 13–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-4-13>
 25. Никифоров Ю.В., Чернышева Г.Г., Молчанова Л.В. Оценка гемостаза больных ишемической болезнью сердца при хирургической реваскуляризации миокарда. *Общая реаниматология.* 2009; 5 (4): 5–8. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-4-5>
 17. Christensen T.D. Self-management of oral anticoagulation therapy: methodological and clinical aspects. *Dan. Med. Bull.* 2011; 58 (5): B4284. PMID: 21535992
 18. Roberts H.R., Hoffman M., Monroe D.M. A cell-based model of thrombin generation. *Semin. Thromb. Hemost.* 2006; 32 (Suppl 1): 32–38. <http://dx.doi.org/10.1055/s-2006-939552>. PMID: 16673264
 19. Serebrii L.I. «Globalnye» i «lokalnye» testy sistemy gemostaza v diagnostike giperkoagulyatsionnogo sindroma. [«Global» and «local» hemostasis tests in the diagnosis of hypercoagulation syndrome]. *Spravochnik Zaveduyushchego Kliniko-diagnosticheskoi Laboratorii.* 2012; 12: 27–34. [In Russ.]
 20. Panteleyev M.A., Kotova Ya.N., Tokarev A.A., Ataulakhanov F.I. Mekhanizmy regulyatsii svertyvaniya krovi. [Blood coagulation: mechanisms of regulation]. *Terapevtichesky Arkhiv.* 2008; 80 (7): 88–91. PMID: 18763608 [In Russ.]
 21. Butylin A.A., Panteleyev M.A., Ataulakhanov F.I. Prostranstvennaya dinamika svertyvaniya krovi. [The spatial dynamics of blood coagulation]. *Rossiyskiy Khimicheskiy Zhurnal* 2007; 51 (1): 45–50. [In Russ.]
 22. Romney G., Glick M. An updated concept of coagulation with clinical implications. *J. Am. Dent. Assoc.* 2009; 140 (5): 567–574. <http://dx.doi.org/10.14219/jada.archive.2009.0227>. PMID: 19411526
 23. Wajima T., Isbister G.K., Duffull S.B. A comprehensive model for the humoral coagulation network in humans. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2009; 86 (3): 290–298. <http://dx.doi.org/10.1038/clpt.2009.87>. PMID: 19516255
 24. Lyuboshevsky P.A., Zabusov A.V., Artamonova N.I. Vliyanie oblasti operatsii i metoda anestezii na narusheniya gemostaza. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Impact of a surgical site and an anesthetic method on hemostatic disorders. *General Reanimatology.*] 2009; 5 (4): 13–17. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-4-13>. [In Russ.]
 25. Nikifirov Yu.V., Chernysheva G.G., Molchanova L.V. Otsenka gemostaza bolnykh ishemicheskoi boleznью serdtsa pri khirurgicheskoi revaskulyarizatsii miokarda. *Obshchaya Reanimatologiya.* [Evaluation of hemostasis in patients with coronary heart disease during surgical myocardial revascularization. *General Reanimatology.*] 2009; 5 (4): 5–8. <http://dx.doi.org/10.15360/1813-9779-2009-4-5>. [In Russ.]

Поступила 02.05.2015

Submitted 02.05.2015