

Современные методы лабораторного контроля противотромботической терапии

Косырев Александр Борисович
кафедра биохимии РМАПО МЗ РФ

ООО «ТПО"Медио Лаб"»

Контроль противотромботической терапии

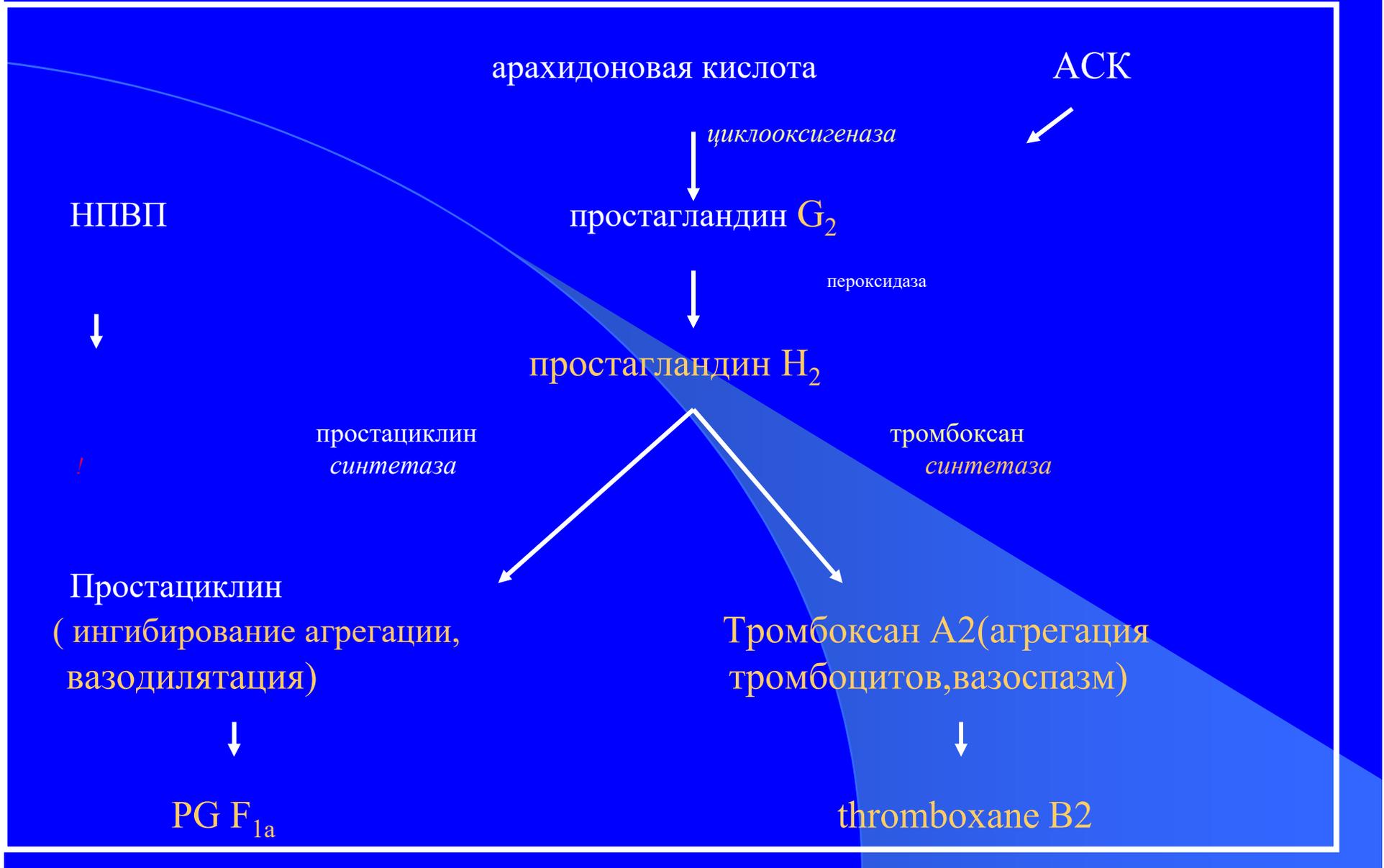
- Контроль антиагрегантной терапии
- Контроль антикоагулянтной терапии
 - гепарины
 - оральные антагонисты витамина К
 - новые оральные антикоагулянты:
 - ингибиторы тромбина
 - ингибиторы фактора Ха
- Контроль фибринолитической терапии

Антиагрегантная терапия

□ Виды препаратов

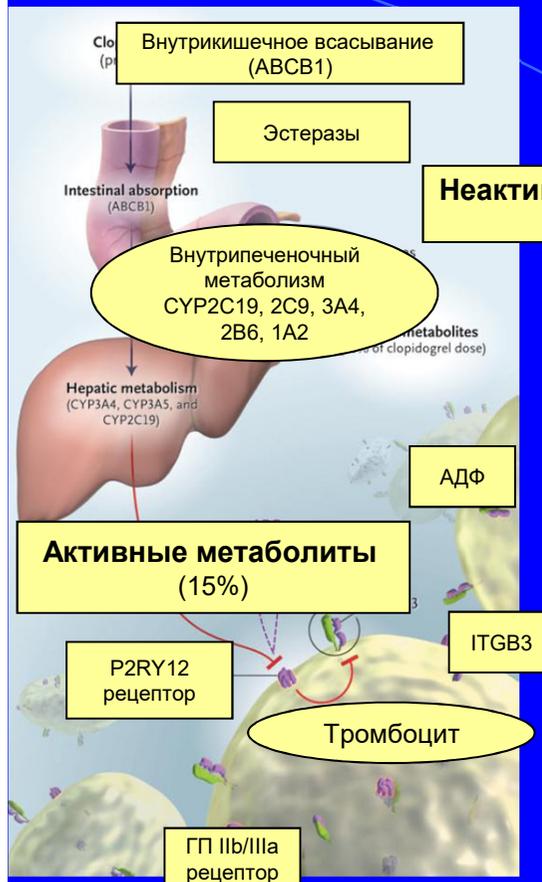
- ингибиторы ЦОГ1 и ЦОГ2: ацетилсалициловая кислота (аспирин, кардиоасс, тромбоасс, кардиомагнил), НПВП (ибупрофен, диклофенак, парацетамол, тетамизил)
- ингибиторы АДФ-рецепторов тромбоцитов производные тиенопиридина (тиклид, плавикс (Clopidogrel), Prasugrel, Ticagrelor)
- ингибиторы P₂-Y₁₂ рецепторов тромбоцитов (Абсиксимаб Реопро, Фрамона)

Механизм действия ингибиторов ЦОГ



Метаболизм клопидогрела

Клопидогрел



КЛОПИДОГРЕЛ является предлекарством. Биотрансформация идет в печени.

- Активный метаболит – тиоловое производное – образуется путем окисления КЛОПИДОГРЕЛА до оксиклопидогрела с последующим гидролизом.

Это окисление происходит при участии цитохрома P450.

Активный метаболит, который можно выделить *in vitro*, быстро и необратимо связывается с рецепторами тромбоцитов и тормозит их агрегацию.

- Кроме того, большая часть клопидогрела расщепляется эстеразами по неактивному пути. Неактивный метаболит является производным карбоксилевой кислоты, составляет около 85 % циркулирующего в плазме соединения.

Ингибиторы агрегации тромбоцитов

Препарат	Точка действия	Способ приема	Плазма t 1/2	Метаболизм	Длительность действия	↑ PT / PTT	Антидот
Аспирин	COX 1 and 2	ор	20 мин	печень	7 дн	No/No	none
Дипиридамол (курантил)	АДФ	ор	40 мин	печень	24 час	No/No	none
Плавикс (Клопидогрель)	АДФ рец.	ор	7 час	печень	5 дн	No/No	none
Тиклид (Тиклопидин)	АДФ рец.	ор	4 Дня !	печень	10 дн	No/No	none
Abciximab (ReoPro)	GPIIb-IIIa рец.	вв	30 мин	почки	72 час	No/No	none

Причины неэффективности антиагрегантной терапии

- Клинические причины
- Лабораторная диагностика
 - неадекватность оценки функции тромбоцитов
 - наличие генного полиморфизма
- Фармакологические причины

Клинические риск-факторы снижающие эффективность действия клопидогреля (плавикса) после стентирования

- | | |
|--|---|
| □ Диабет 2 типа | 2 балла |
| □ Недостаточность функции левого желудочка | 3 балла |
| □ Острый коронарный синдром | 1 балл |
| □ Возраст > 65 лет | 1 балл |
| □ Почечная недостаточность | 2 балла |
| □ 4-6 баллов активности | до 22% вероятности повышения остаточной |
| □ 7-9 баллов | до 33% |
| □ 1-3 | не значимо |

Лабораторные методы исследования агрегации тромбоцитов

- Классическая оптическая агрегометрия (метод Born)

Veryfy Now

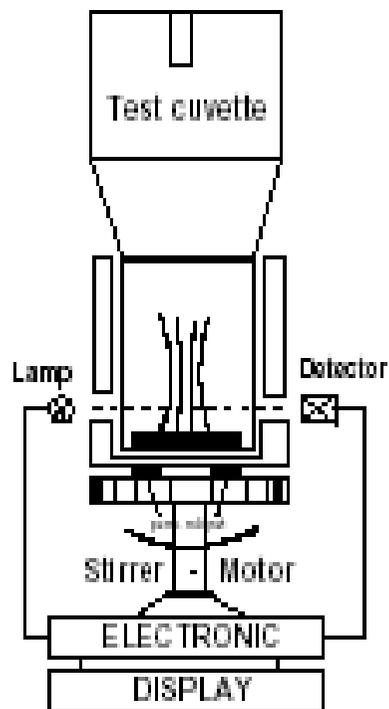
PFA 100\ Innovance

Измерение уровня метаболитов тромбоцитов (тромбоксан B2)

Агрегометрия цельной крови (импедансный метод)

PlateleteWorks

Принцип оптической агрегометрии (метод Born)



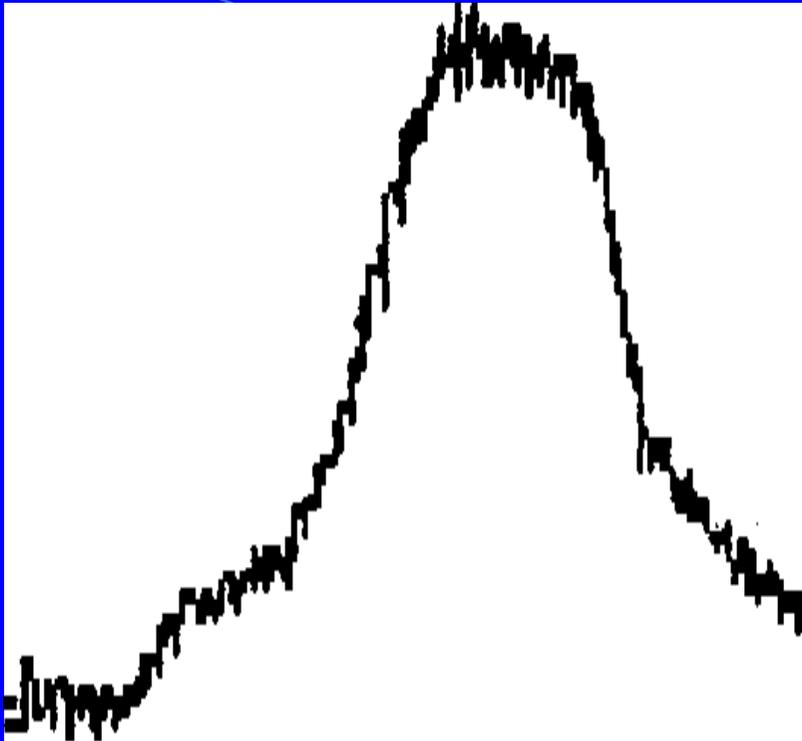
- Кювета с тромбоцитарной плазмой.
- Мешалка (на дне кюветы)
- Источник света (лампа) → Детектор
- Под измерительным каналом размещается магнитный перемешиватель, мотор которого автоматически запускается в момент начала измерения.
- Результат анализа автоматически передается на дисплей.

Тромбоцитарный агрегометр АТ-02 (Россия)

- 1 канал измерения
- Возможность работы с пробой до 30 000 тр / см. куб.
- Автоматический расчет показателей агрегации, дезагрегации и ристомицин –кофактора Вилебранда
- Исключительно простой и дружелюбный интерфейс программы
- Сохранение результатов
- Возможность работы в сети
- Самая низкая цена прибора и расходных материалов.



Исследование агрегации тромбоцитов



- Показатели агрегации
% агрегации, скорость агрегации, % дезагрегации
- Стандартная концентрация тромбоцитов
- Стандартный индуктор
- Нормальные значения

VerifyNow-№1 в США



Прибор для исследования функции тромбоцитов “point of care” PFA-100

PlateletFunction Analyzer PFA-100.
Имитация первичного гемостаза

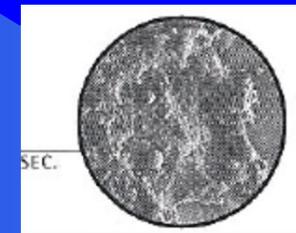
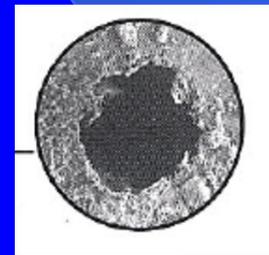
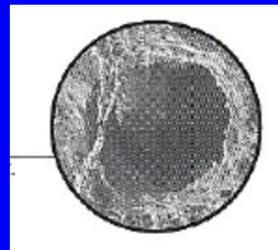
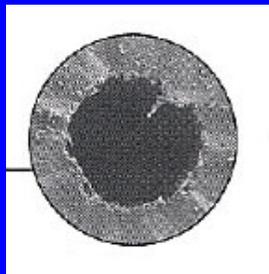
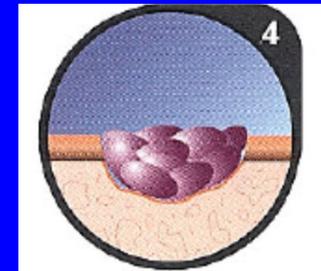
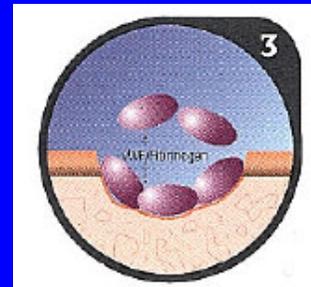
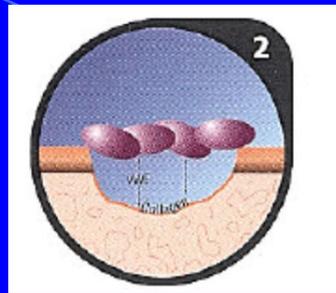
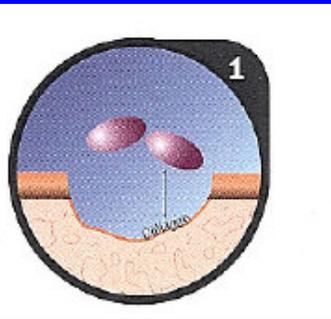


Моделируется повреждение сосудистой стенки и образование тромбоцитарной пробки

Картриджи
АДФ/Коллаген
АДФ/Адреналин



Принцип измерения RFA-100



Гепарины

- Нефракционированные
- Фракционированные

Сравнение ФГ и НФГ

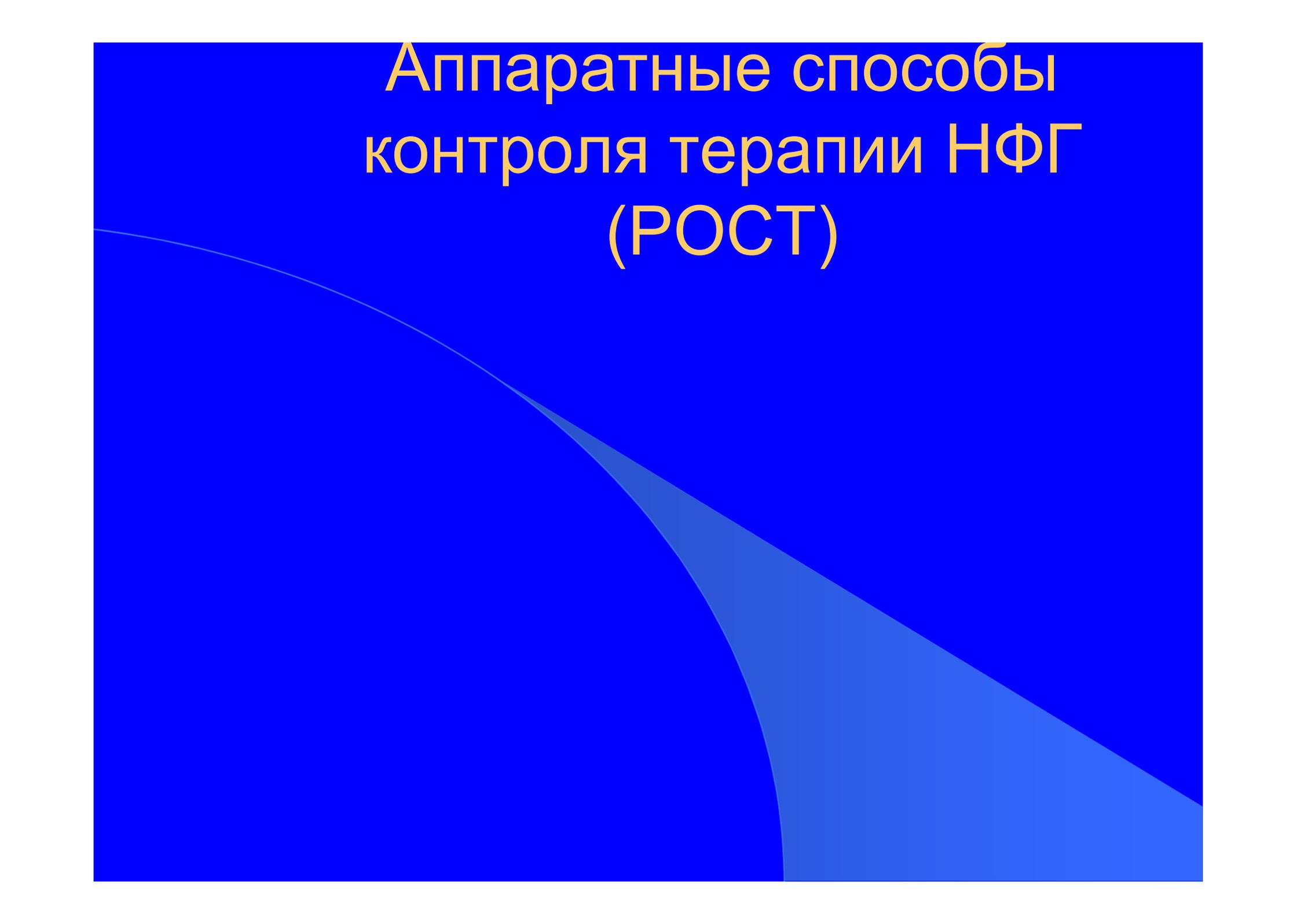
показатель	НФГ	ФГ
Молекулярная масса	3, 000 - 30,000 d	4,000-6,500 d
Биодоступность	Вариабельна из-за связывания с макрофагами и липидами	высокая
Период полу-жизни	Вариабельна, дозо-зависимая (30 мин для 25 u/кг, 150 мин для 400 u/кг)	4-6 часов
выведение	печень	почки

показатель	НФГ	ФГ
Влияние на тромбоциты	до 2-3% возможности ГИТ ингибирование функции тромбоцитов ингибирование реакции тромбоцит-эндотелий	низкий процент ГИТ меньшее ингибирование нет влияния на реакцию тромбоцит-эндотелий
Риск кровотечения	высокий	ниже
анти Ха: IIa активность	1:1	2:1
Обратимость действия	протамин	только anti-IIa (90%) но не anti-Ха (60%) активность восстанавливается протамином
СТОИМОСТЬ	НЕВЫСОКАЯ	ВЫСОКАЯ

Контроль применения гепарина

- при экстракорпоральном кровообращении (ЭК) (2-4ед.\мл крови)
- гепаринотерапии НФГ
- гепаринотерапия ФГ

Аппаратные способы контроля терапии НФГ (РОСТ)

The background is a solid blue color with a decorative curved line that starts from the left edge and curves downwards towards the bottom right corner, creating a sense of depth and movement.

Ваше решение при измерении гепарина в крови - Actalyke



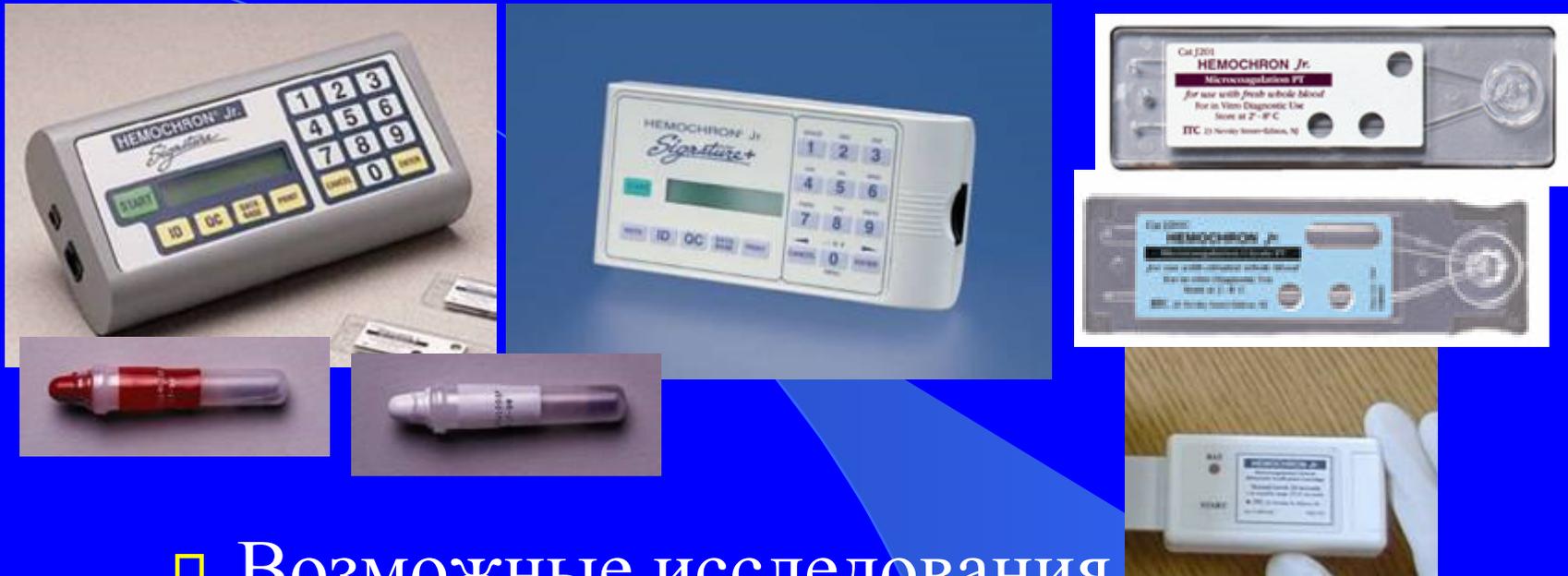
- Портативен
- Прост в обращении
- Наличие принтера
- Повышенная точность
- Широкий диапазон измеряемого уровня гепарина в крови
- ООО«ТПО"МедиоЛаб

Прибор RESPONSE (ITC)



Автоматизированный
расчет дозы
гепарина и
протамина

HEMOCHRON Jr *Signature* / *Signature+* (ITC)



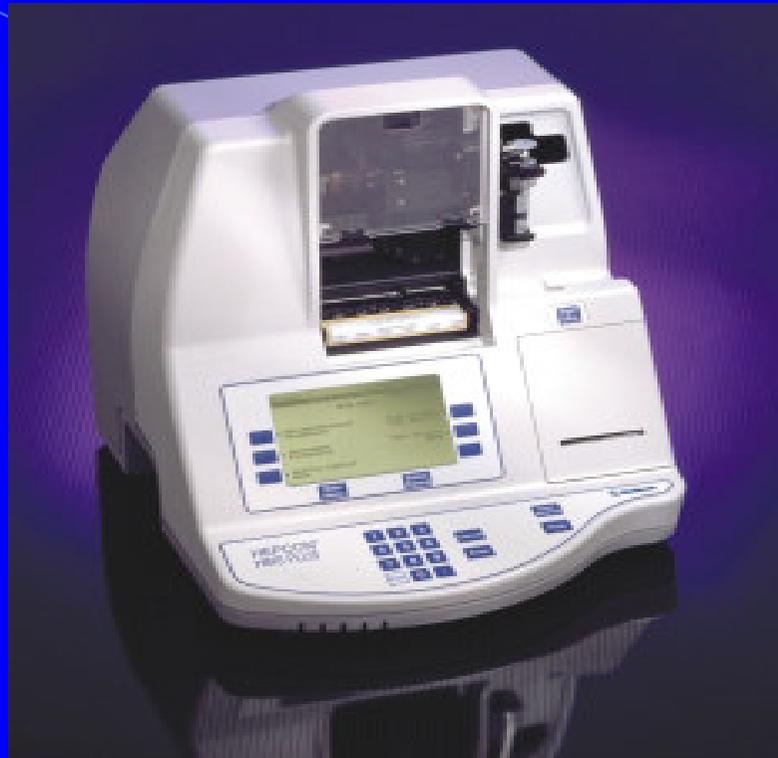
□ Возможные исследования

- Цельная кровь (капиллярная, венозная)
- Цитратная кровь

i-STAT (Abbot)



Hepcon (Medtronic)



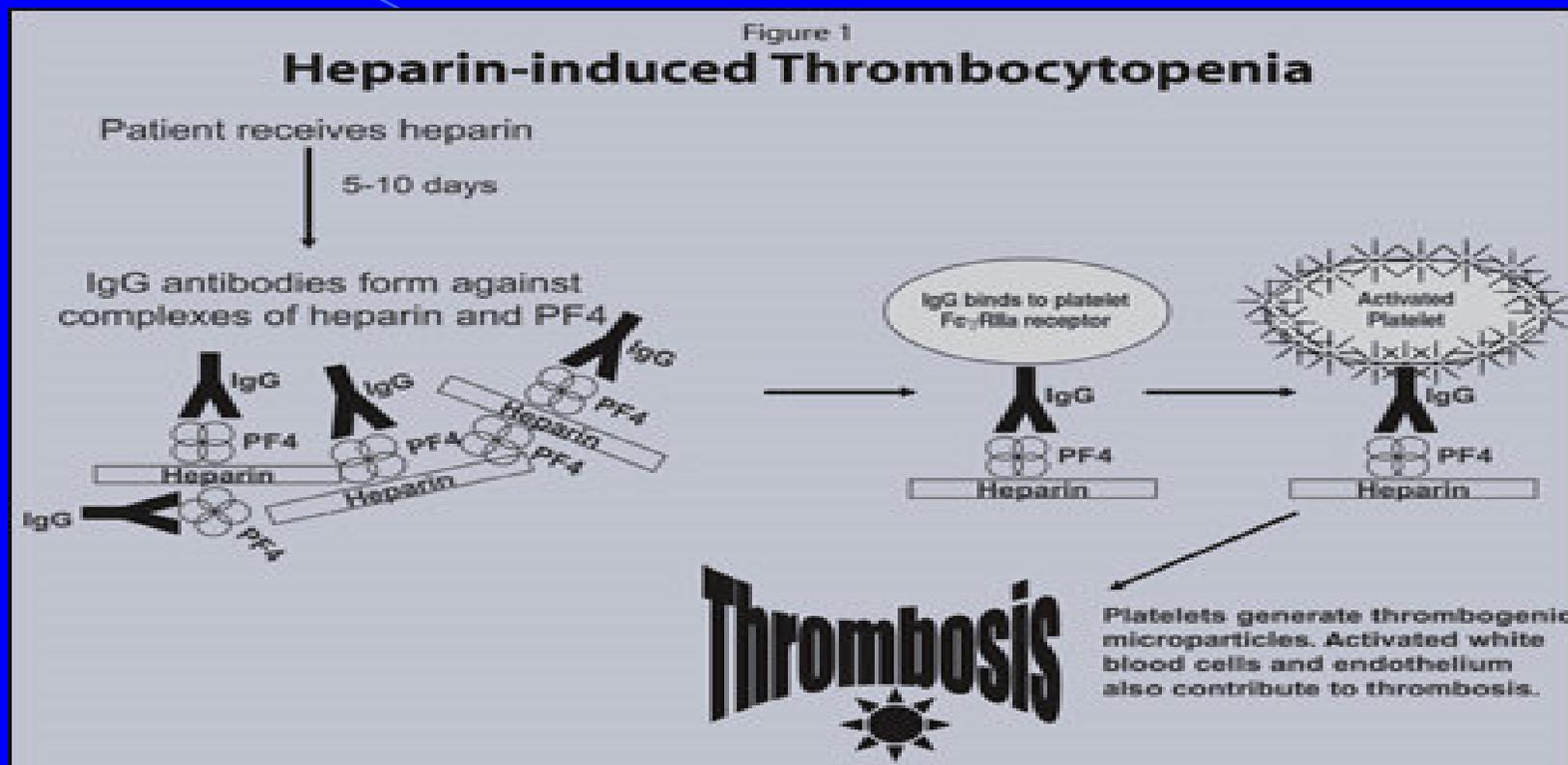
Лабораторный контроль гепаринотерапии НФГ

- АВСК (АСТ)
- АЧТВ (отношение) (увеличение в 2-2,5 раза)
- Тромбиновое время
- АТ-III
- Количество тромбоцитов
- Определение концентрации в крови (фактор X-а активность)

Лабораторный контроль гепаринотерапии ФГ

- Определение концентрации в крови (фактор X-а активность)
- АТ-III
- Количество тромбоцитов

Гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ 2 типа)



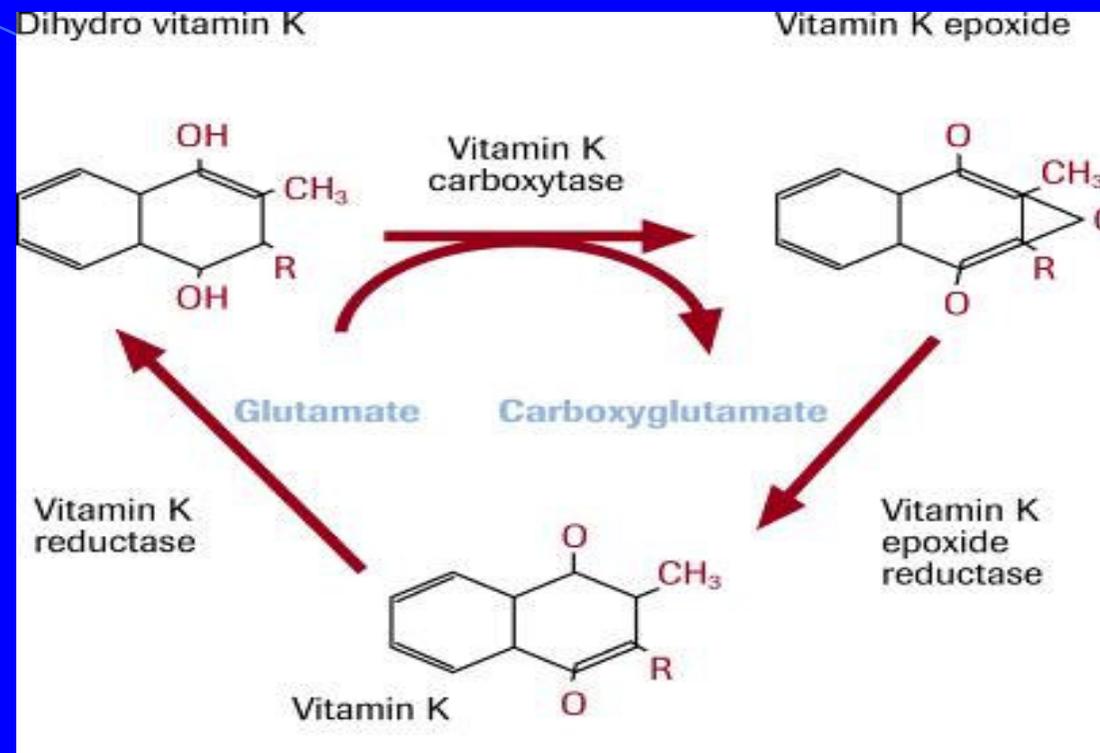
Методы диагностики ГИТ

- Экспресс иммунохроматографический метод наличия Ig G антител (Stago)
- Экспресс метод гель-диффузии
- Метод агрегации отмытых тромбоцитов использованием плазмы пациента (HIPA)
- ИФ метод определения разных классов антител (IgG, IgM, IgA) (Instrumentation Lab)

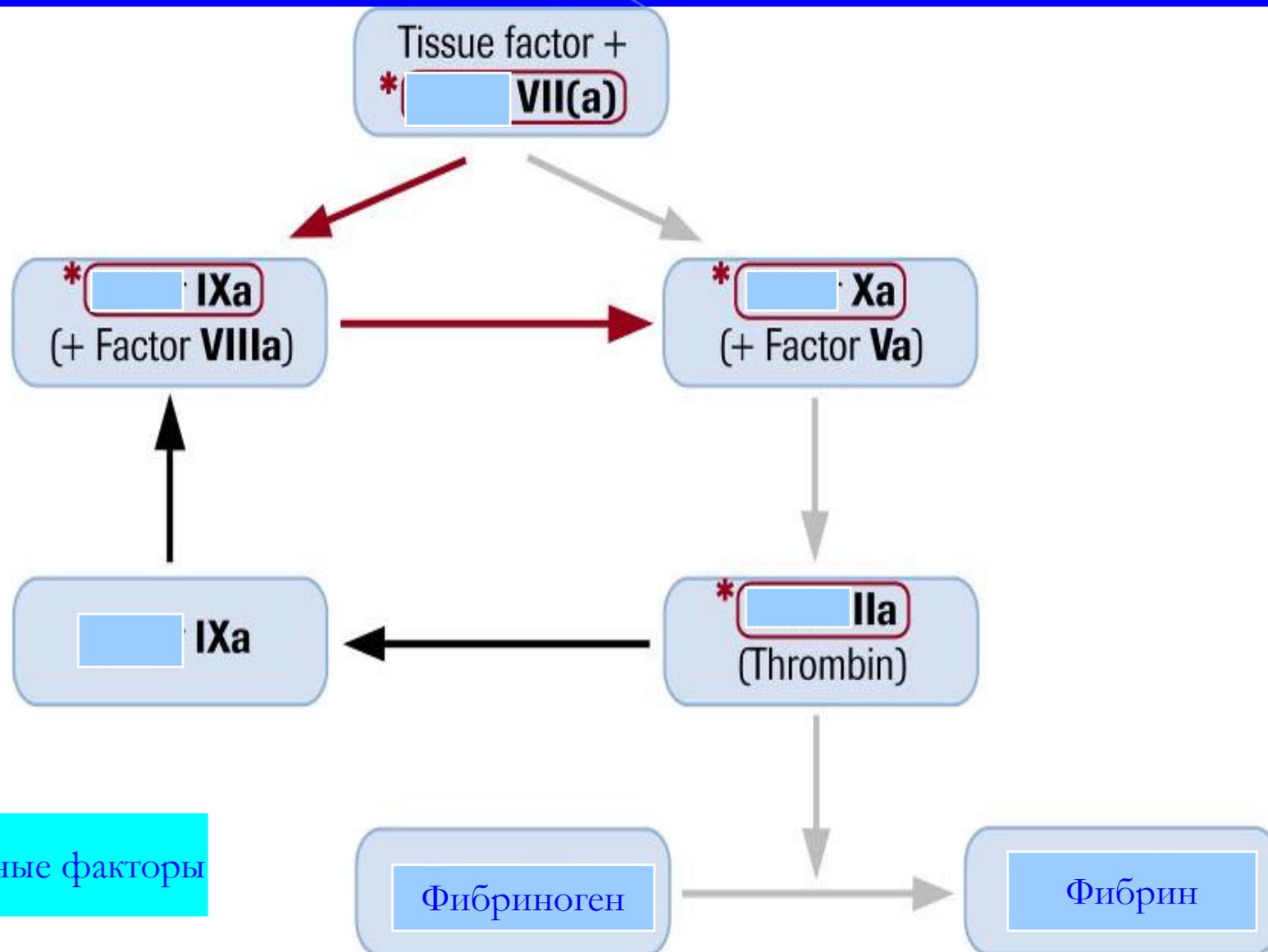
Оральные антикоагулянты (АВК)

- Кумарины (фенилин)
- Производные индандиона (варфарин)

Механизм действия АВК

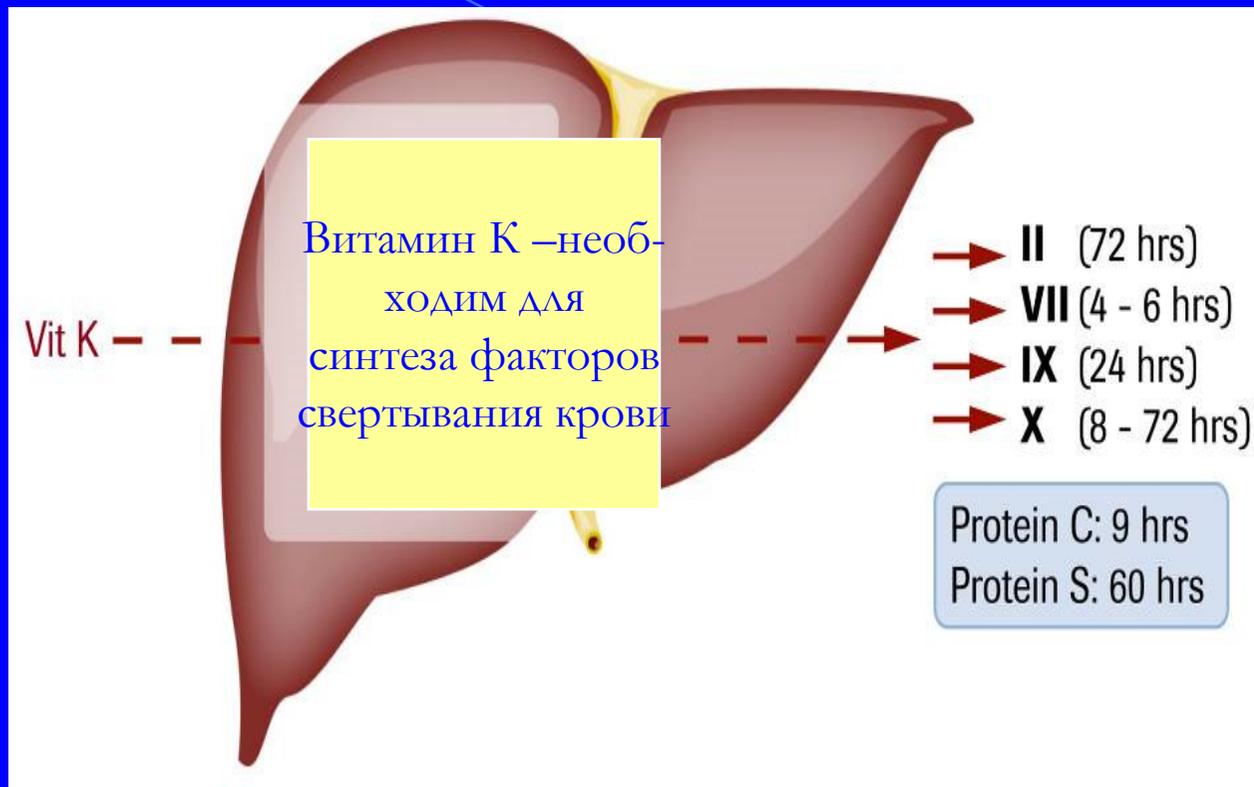


Точки приложения действия ABK



* Измененные факторы

Продолжительность полу-жизни витамины К зависимых факторов свертывания крови



Контроль терапии оральными антикоагулянтами (АВК)

□ Методы контроля
МНО

Определение Протеина С как
диагностика «кумариновых некрозов»

Основные методические особенности определения МНО

- Аппаратная зависимость
- Среднее время нормальной плазмы
- Точность определения МИЧ
- Локальная калибровка

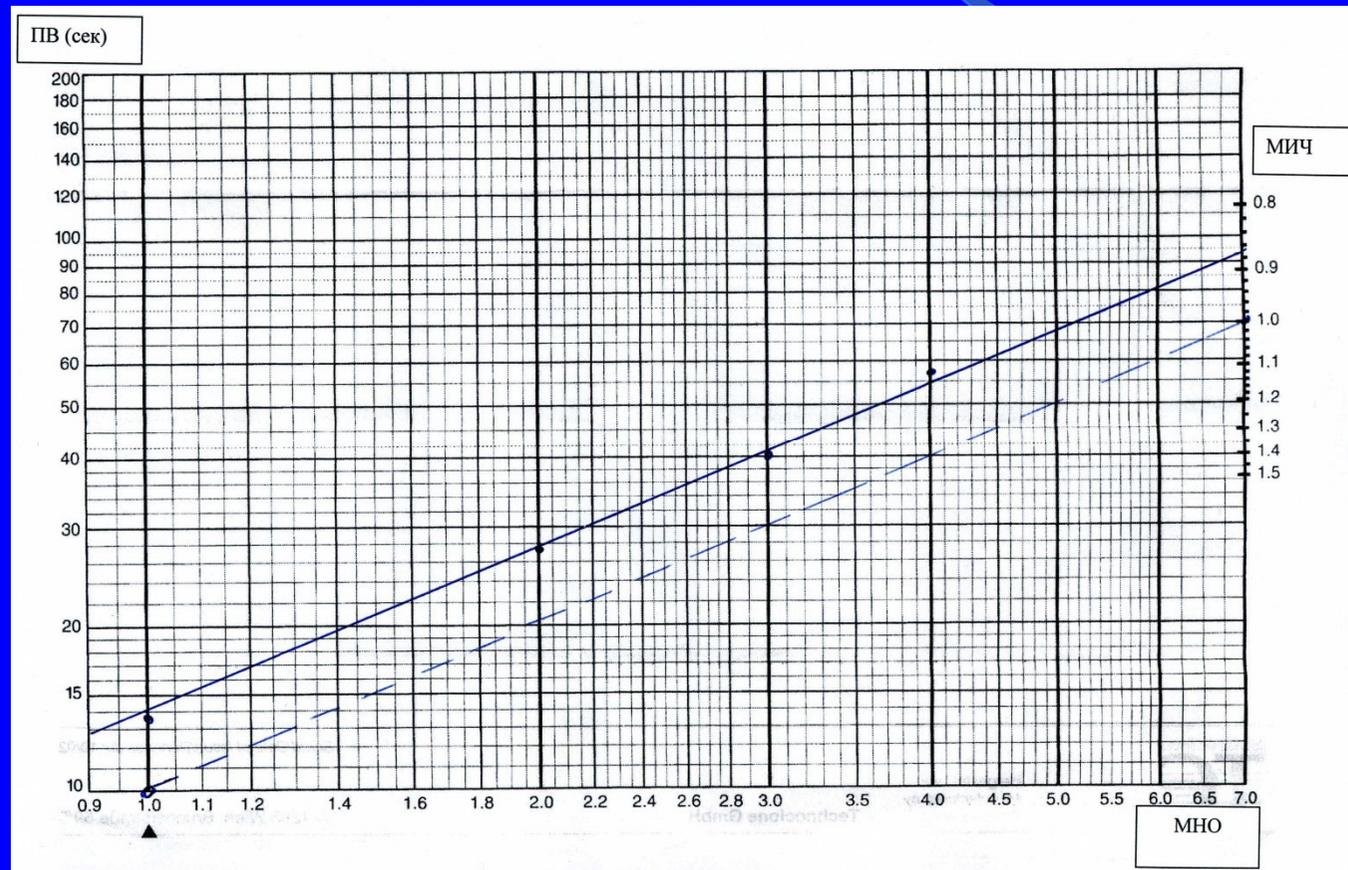
Среднее время нормальной плазмы

- Среднее время нормальной плазмы определяется как среднегеометрическое протромбинового времени свежей цитратной плазмы 20 доноров

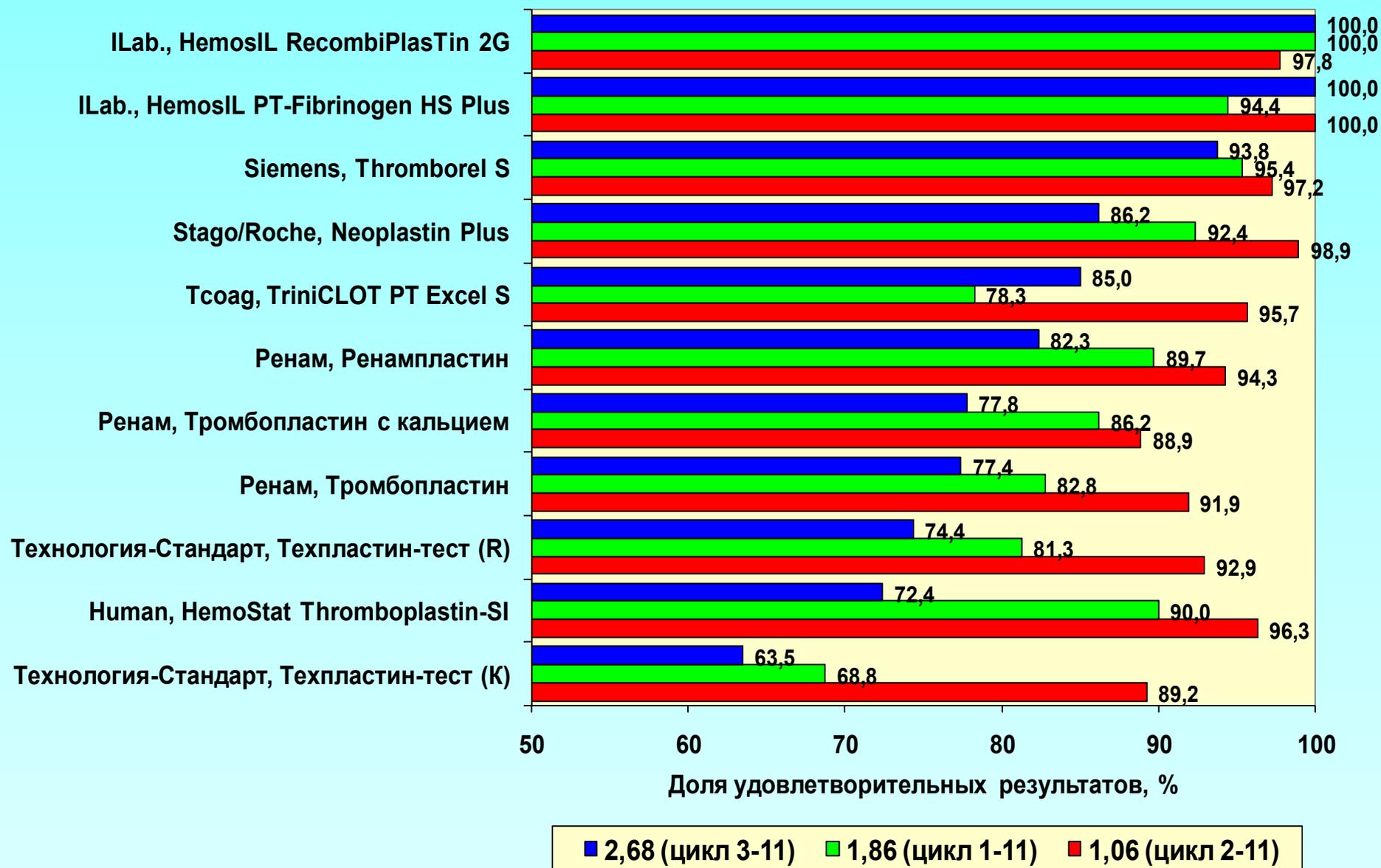
- Позволяет **Повысить точность** локальная калибровка определения МНО без использования МИЧ
- Позволяет избежать аппаратной ошибки



График прямого определения МНО



ДОЛЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ОЦЕНКИ ОТНОСИТЕЛЬНОГО СМЕЩЕНИЯ, УДОВЛЕТВОРЯЮЩИХ КРИТЕРИЯМ КАЧЕСТВА, ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ НАБОРОВ РЕАГЕНТОВ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ МНО



Новые оральные антикоагулянты

- Дабигатран
- Ривароксабан
- Апиксабан

Новые оральные антикоагулянты	Dabigatran (Pradaxa ®)	Rivaroxaban (Xarelto ®)
Действие	Тромбин (FIIa)	FXa
Предпрепарат	да	нет
Доза	220 mg x 1 or 150 mg x 1	10 mg x 1
Био доступность	6 %	86 %
Время полу-жизни	12 – 17	5 – 9
Функция почек	80	65
Взаимодействие с препаратами	<ul style="list-style-type: none"> • Amiodarone: уменьшить дозу на 50% • Verapamil, rifampicine, millepertuis: использовать с осторожностью 	<ul style="list-style-type: none"> • Ketoconazole, HIV ингибиторы протеаз (ritonavir...): противопоказано Phenobarbital, phenytoine, millepertuis, verapamil, macrolides: использовать с осторожностью

* Refer to inserts

Изменения тестов

ПРЕПАРАТ	ПВ/МНО	АЧТВ	АНТИ Ха акт	АВСК	ТВ	ЭКАРИНОВОЕ ВРЕМЯ
ВАРФАРИН	+	+/-	-	+	-	Не значимо
НФГ	-	+/-	+	+/-	+	Не значимо
ФГ	-	+/-	+	+/-	+	Нет данных
Ривараксабан	+	+/-	+++	+/-	-	-
Апиксабан	+/-	+/-	+	Нет данных	-	-
Дабигатран	+/-	+	+/-	-	++	+++

Тесты контроля

	Dabigatran	Rivaroxaban
Общие тесты	<ul style="list-style-type: none">• Ecarin time• Модифицированное тромбиновое время (Hemoclot)	<ul style="list-style-type: none">• АЧТВ
Специфические тесты	<ul style="list-style-type: none">• анти-IIa активность (хромогенный метод) + калибратор дабигатрана	<ul style="list-style-type: none">• Анти Ха активность + калибратор ривароксабана

Контроль фибринолитической терапии

- Тромбоэластография
- Фибриноген

**СПАСИБО ЗА ВАШЕ
ВНИМАНИЕ!**

