

# 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

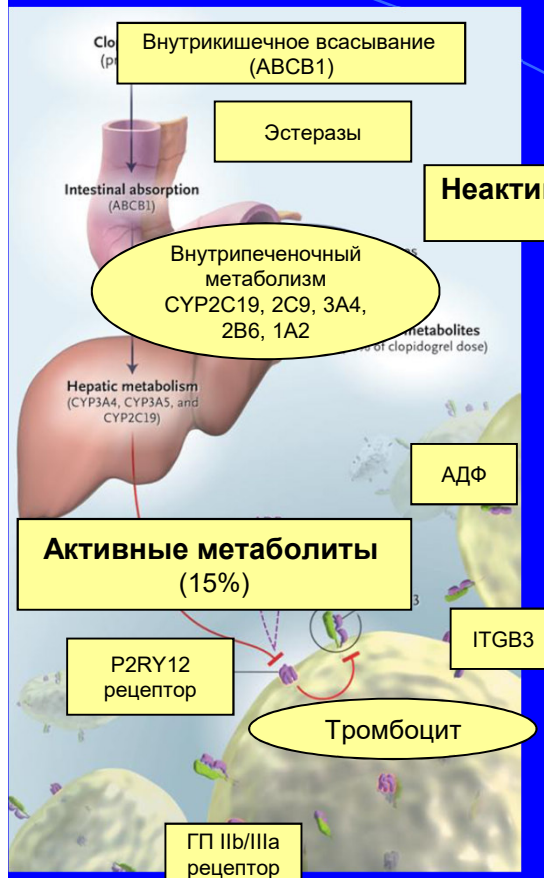
- ингибиторы ЦОГ1 и ЦОГ2: ацетилсалициловая кислота (аспирин, кардиоасс, тромбоасс, кардиомагнил), НПВП (ибупрофен, диклофенак, парацетамол, тетамизил)
- ингибиторы АДФ-рецепторов тромбоцитов производные тиенопиридина (тиклид, плавикс (Clopidogrel), Prasugrel, Ticagrelor)
- ингибиторы P<sub>2</sub>-Y<sub>12</sub> 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 карбоксилловой 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

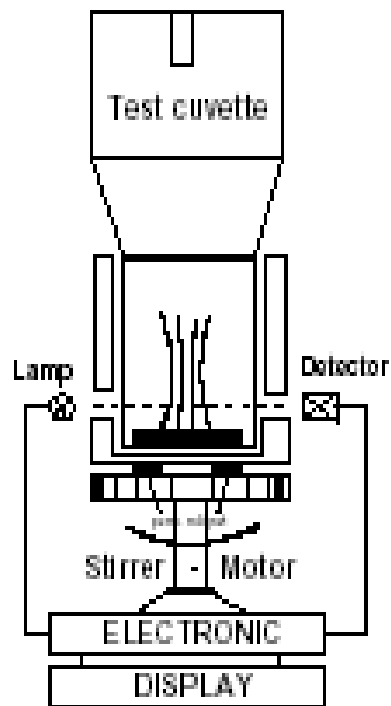
PFA 100\ Innovance

Измерение уровня метаболитов тромбоцитов (тромбоксан В2)

Агрегометрия цельной крови (импедансный метод)

PlateleteWorks

# Принцип оптической агрегометрии (метод Born)



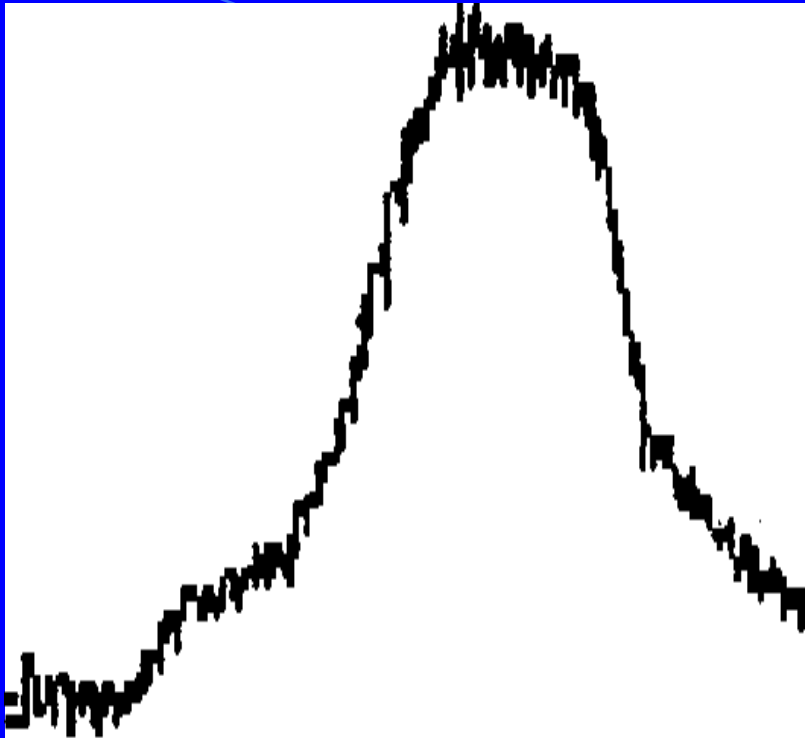
- Кювета с тромбоцитарной плазмой.
- Мешалка (на дне кюветы)
- Источник света (лампа) → Детектор
- Под измерительным каналом размещается магнитный перемешиватель, мотор которого автоматически запускается в момент начала измерения.
- Результат анализа автоматически передается на дисплей.

# 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



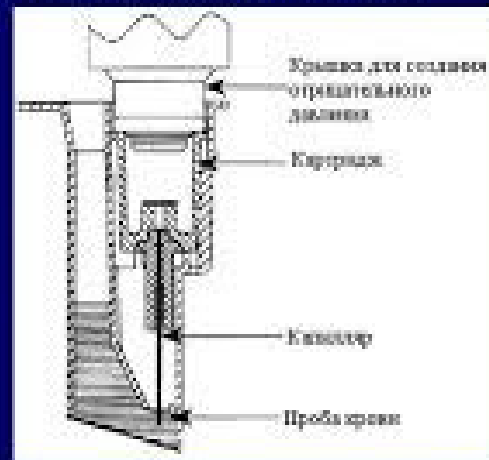
- Показатели агрегации  
% агрегации, скорость агрегации, % дезагрегации
- Стандартная концентрация тромбоцитов
- Стандартный индуктор
- Нормальные значения

# VerifyNow-№1 в США



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

PlateletFunction Analyzer PFA-100.  
Имитация первичного гемостаза

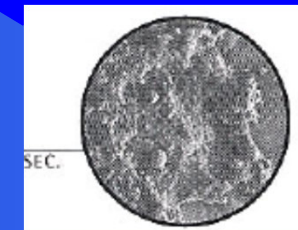
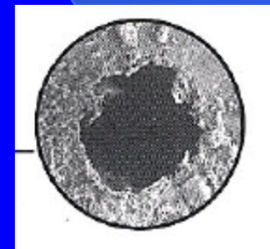
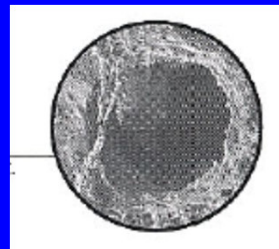
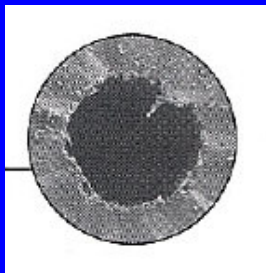
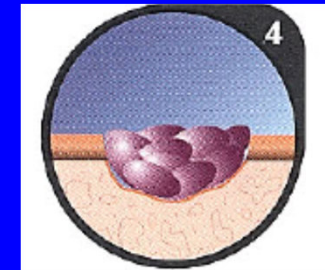
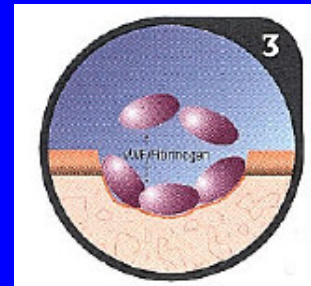
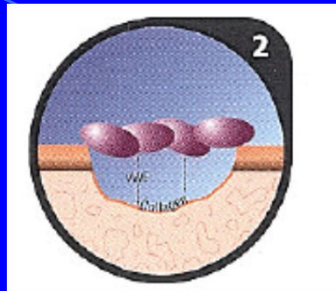
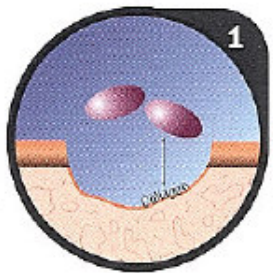


Моделируется повреждение сосудистой стенки и образование тромбоцитарной пробки

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)

A decorative graphic element consisting of a light blue gradient shape that starts as a thin line on the left and curves downwards and to the right, ending as a wider, darker blue shape at the bottom right corner of the slide.

# Ваше решение при измерении гепарина в крови - Actalyke



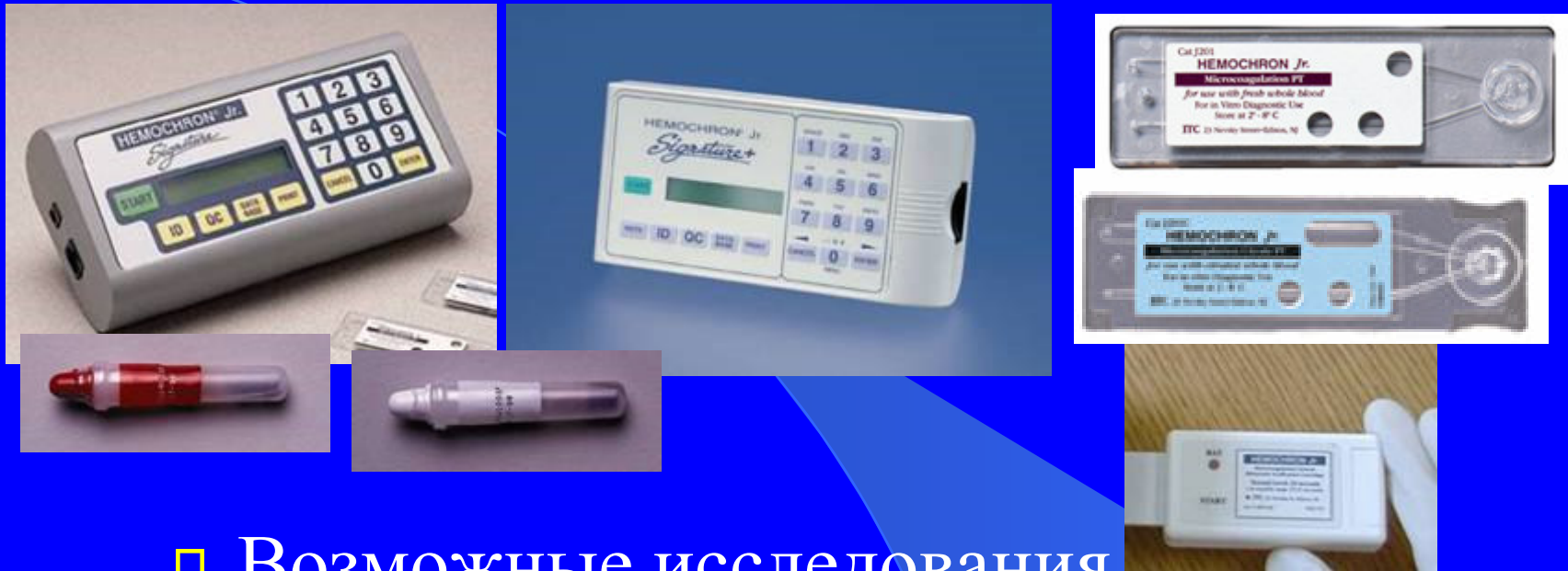
- Портативен
- Прост в обращении
- Наличие принтера
- Повышенная точность
- Широкий диапазон измеряемого уровня гепарина в крови
- ООО«ТПО"МедиоЛаб

# Прибор RESPONSE (ITC)



Автоматизированный  
расчет дозы  
гепарина и  
протамина

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



### □ Возможные исследования

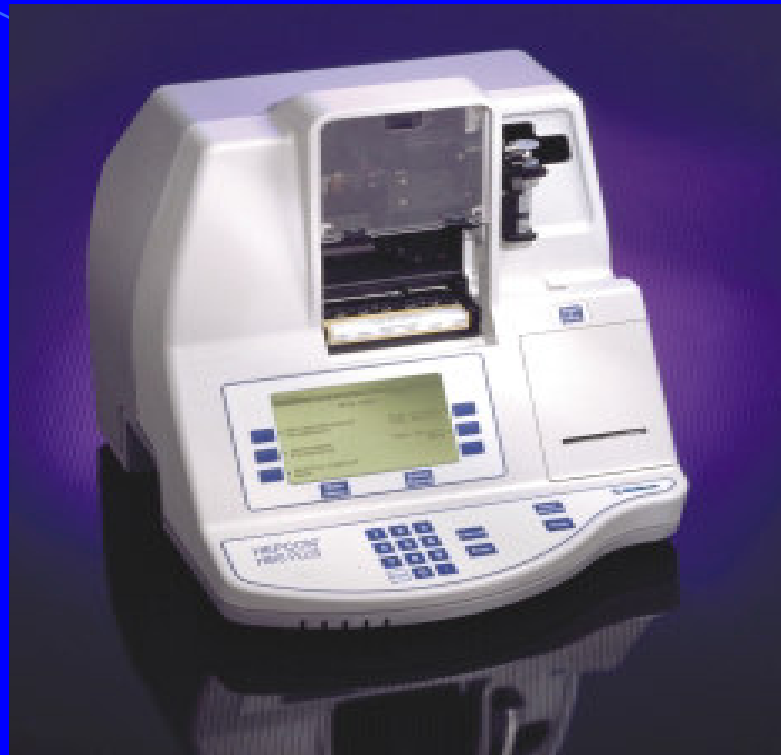
- Цельная кровь (капиллярная, венозная)
- Цитратная кровь

# i-STAT (Abbot)





# Hepcon (Medtronic)



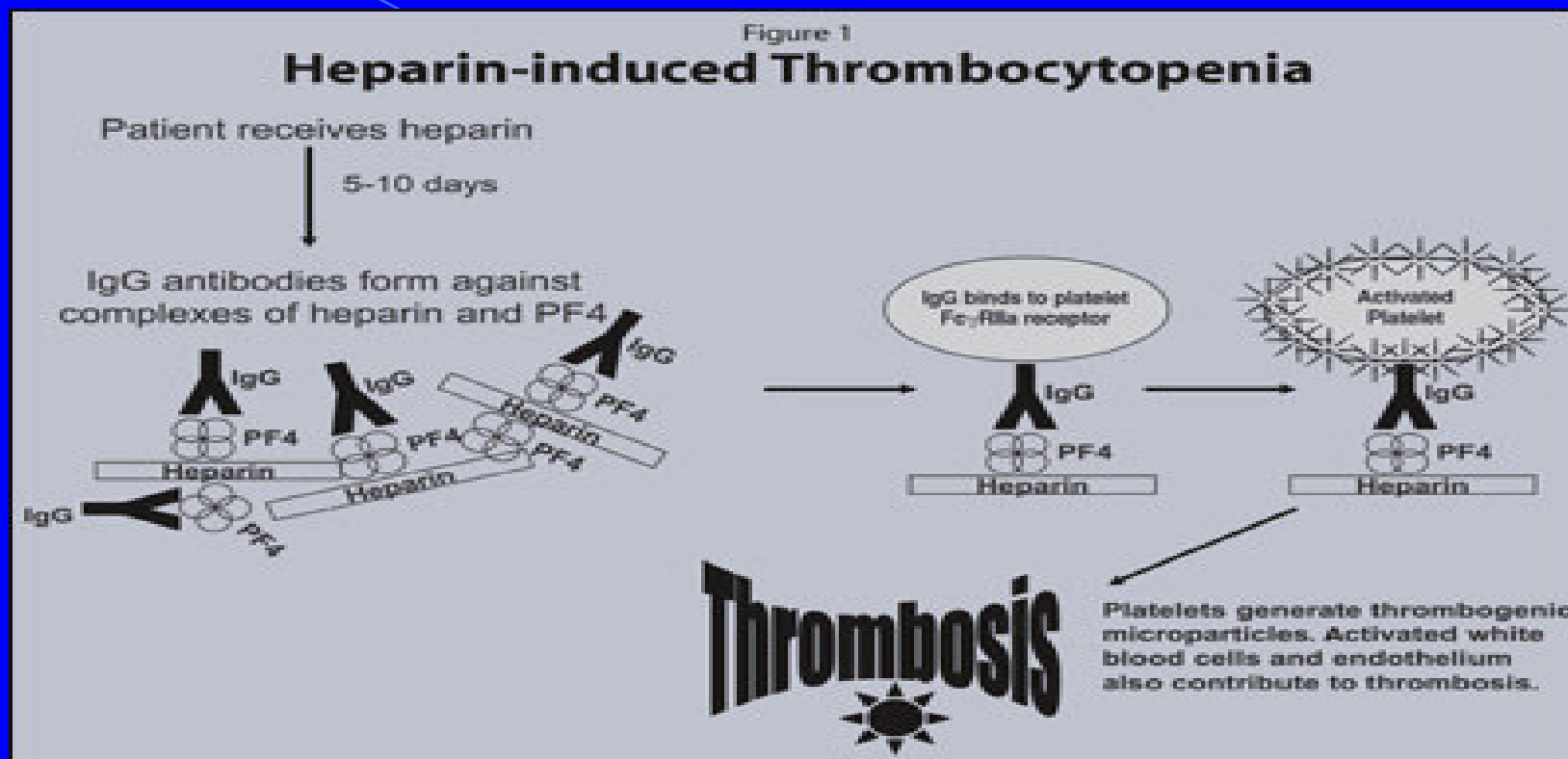
# Лабораторный контроль гепаринотерапии НФГ

- 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)



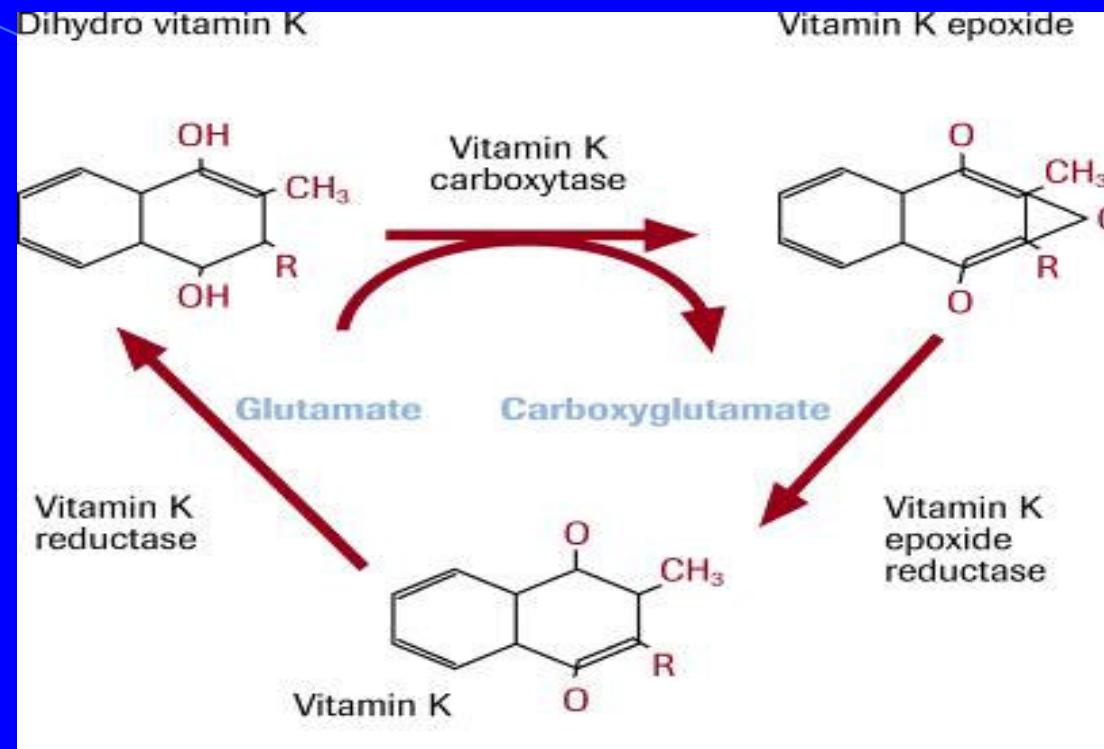
# Методы диагностики ГИТ

- 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)

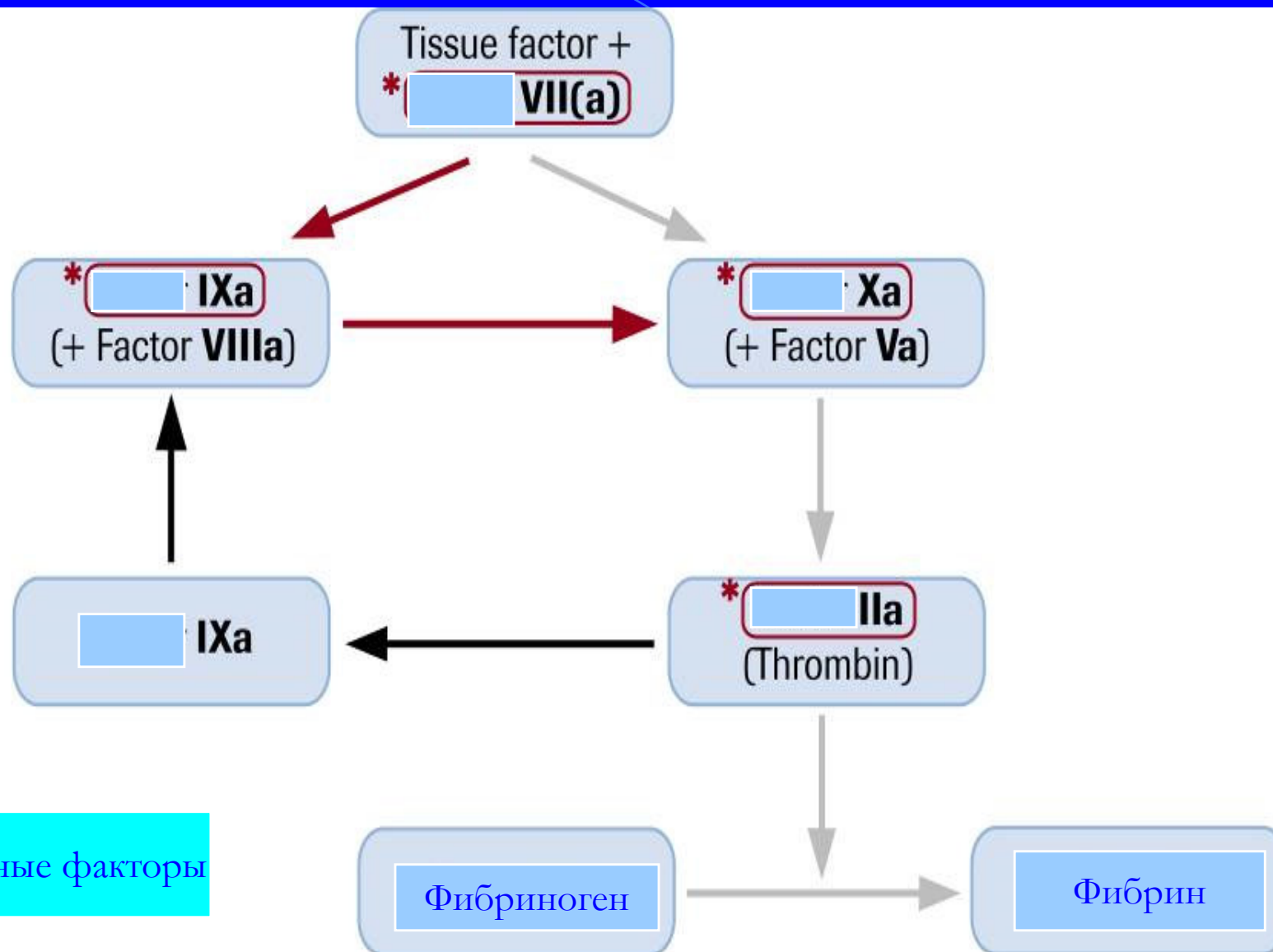
# Оральные антикоагулянты (АВК)

- Кумарины (фенилин)
- Производные индандиона (варфарин)

# Механизм действия АВК



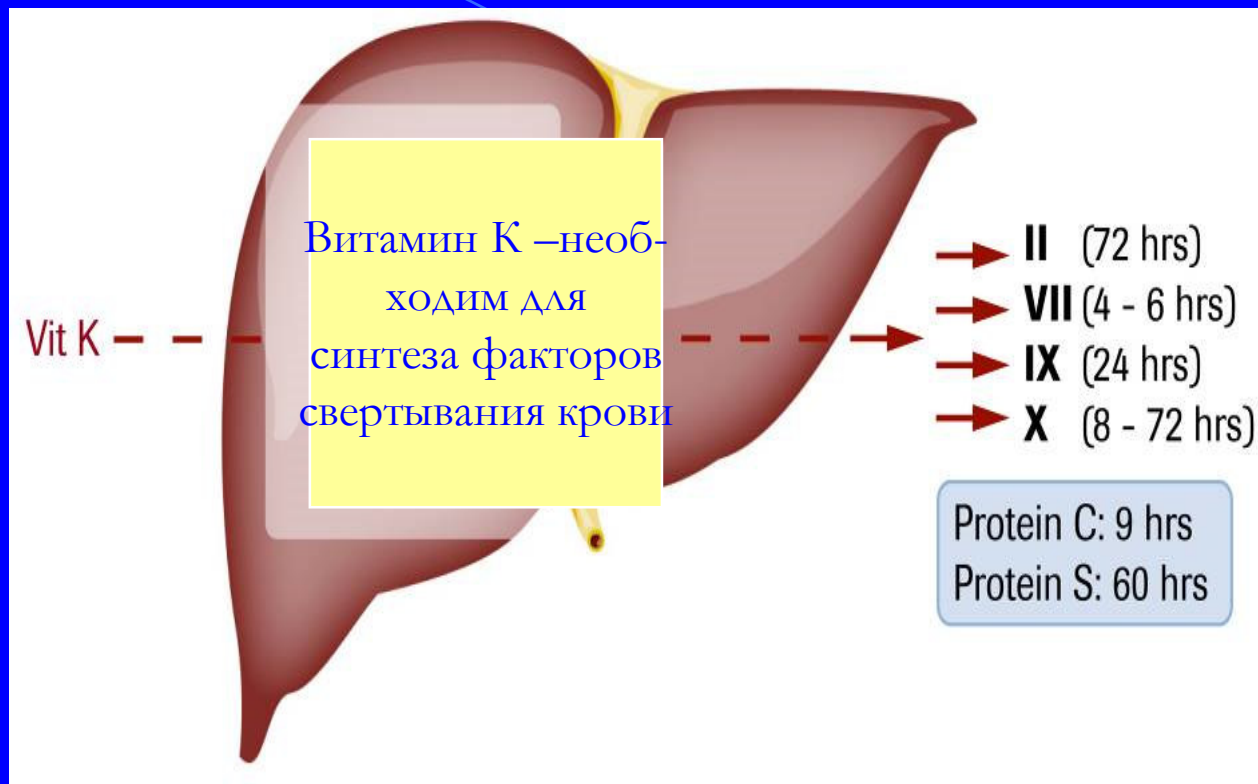
# Точки приложения действия АВК



\* 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

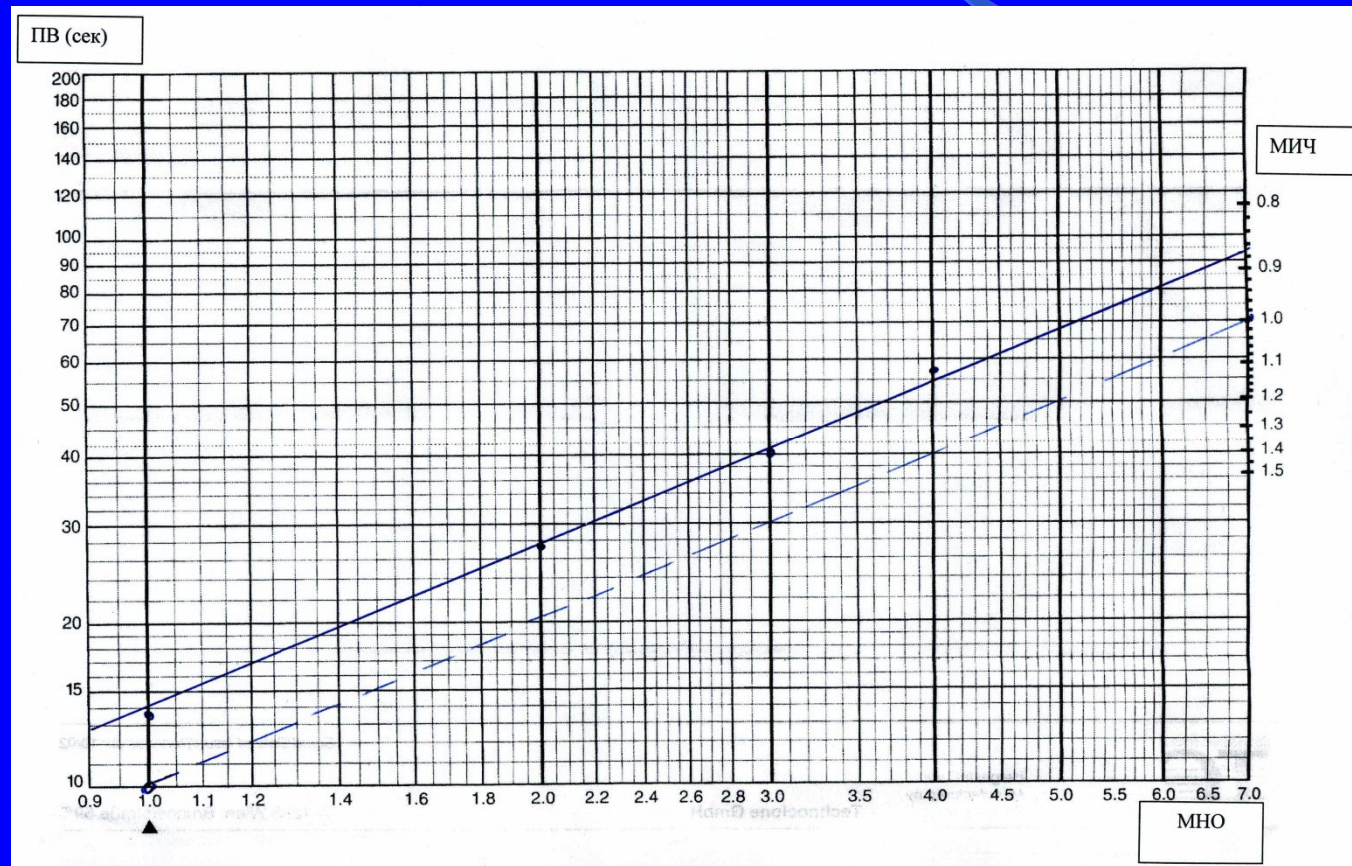
# Среднее время нормальной плазмы

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

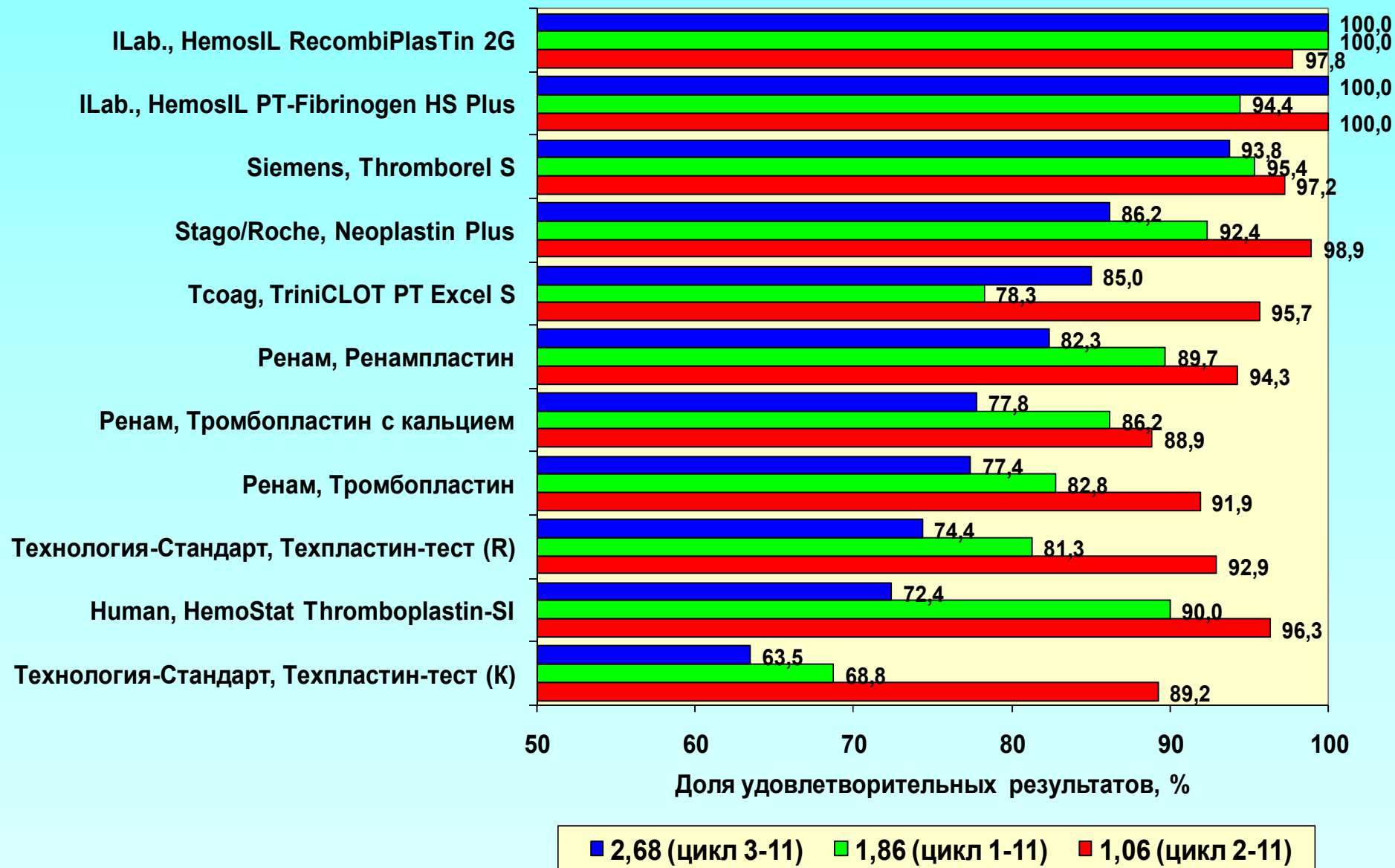
- Позволяет **Повысить точность** **Локальная калибровка** определения МНО без использования МИЧ
- Позволяет избежать аппаратной ошибки



# 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



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

\* 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

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

# Контроль фибринолитической терапии

- Тромбоэластография
- Фибриноген

**СПАСИБО ЗА ВАШЕ  
ВНИМАНИЕ!**

