

ЗМІСТ

МЕДИЦИНА
СЬОГОДНІ

Протромбіназа-індуцирований клоттинговий тест як новий метод для моніторингу антикоагулянтів	3
Ренгалін — нові можливості в регуляції впливу на кашльовий синдром в амбулаторній практиці	8



NOVINИ

Україна упростит реєстрацію вакцин проти COVID-19 і договаривається о локалізації виробництва препарату від AstraZeneca	5
Україна вошла в список країн-кандидатів для проведення клінічних випробувань вакцини проти COVID-19 від J&J	5
Склався перше засідання громадського ради при Госслеслужбі	5
Уряд розширив перелік фармацевтичних і медичних товарів, які не підлягають НДЗ в період епідемії COVID-19	5
Парламент не підтримав пропозицію об'єднати відповідальності за відпуск ліків без рецепта	5
Український завод відновлює виробництво кисню	5
Нові в патогенезі псоріатичного артрити	15
Дієта без глютену полегшує симптоми ревматоїдного артрити	15
Лікування меліттином викликає апоптоз і аутофагію фібробластоподібних синівіоцитів у пацієнтів з ревматоїдним артритом	15
Вчені зробили відкриття в стосунку ревматоїдного артрити	15
Ревматоїдний артрит збільшує ризик розвитку діабету	15
Корисний аспірин при COVID-19, перевіряє в дослідженні RECOVERY	20
Дослідники назвали кращі ліки від болю	20



NOVINИ МОЗ

МОЗ України та ВООЗ підписали двосторонню угоду про співпрацю	6
Максим Степанов: «Кожна з нас несе особисту відповідальність за розповсюдження коронавірусу»	6
Під головуванням Максима Степанова відбулася масштабна онлайн-нарада з регіонами з питань подолання COVID-19	6
Будівництво молекулярно-генетичної лабораторії Національного інституту раку буде завершено у 2021 році	6



ДАЙДЖЕСТ

Кишкова мікробіота відкриває нові перспективи для лікування целіакії	13
Чи отримає ваша дитина достатньо «сонячного» вітаміну?	13
Зелений чай, кави і ризик смерті при цукровому діабеті 2-го типу	13
Реклама мережевих ресторанів пов'язана зі збільшенням ваги у дорослих	14
Рекомендації щодо харчування під час карантину, зумовленого COVID-19	14

DOVIDNIK
FAKIVCA

Імунозалежні побічні ефекти, асоційовані з імунотерапією раку	16
---	----

ПРОТРОМБИНАЗА-ИНДУЦИРОВАННЫЙ КЛОТТИНГОВЫЙ ТЕСТ КАК НОВЫЙ МЕТОД ДЛЯ МОНИТОРИНГА АНТИКОАГУЛЯНТОВ



МЕЛЬНИК А.А., к.б.н.,

руководитель проекта специализированного медицинского центра
«Оптим-фарм», г. Киев, Украина

Антикоагулянты немедленного действия, такие как гепарины и прямые ингибиторы тромбина, являются одними из наиболее часто применяемых лекарственных препаратов в любой области медицины (1–3). Общий механизм их действия заключается в ингибировании активированного фактора X (FXa) и/или фактора II (FIIa). Эти препараты выводятся из организма путем метаболических процессов, через почки или печень. Различные факторы (возраст, ожирение), а также сопутствующие заболевания (заболевание почек) могут влиять на фармакодинамику и фармакокинетику антикоагулянтов (4–7). Имеются данные о передозировке данных препаратов и их накоплении в организме, что приводит к осложнениям в виде кровотечения у пациентов (8, 9). Вопрос мониторинга для подбора индивидуальной терапии и, соответственно, безопасности обсуждается уже в течение нескольких десятилетий (10). Низкомолекулярные гепарины (НМГ) и фондапаринукс проявляют свою основную антикоагулянтную активность путем ингибирования FXa антитромбином. Обычные тесты для анализа свертывания, такие как активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПВ) и тромбиновое время (ТВ), недостаточно чувствительны для мониторинга НМГ в клинически применяемых концентрациях. В связи с этим в лабораторную практику были внедрены две группы специализированных тестов.

1. АМИДОЛИТИЧЕСКИЕ ТЕСТЫ [14]

Гепарины значительно усиливают инактивацию фактора Ха и тромбина антитромбином III (АТ III). При инкубации плазмы, содержащей гепарин, с очищенным фактором Ха часть последнего инактивируется. Остаточная активность фактора Ха определяется по степени гидролиза хромогенного субстрата. Регистрируют изменение оптической плотности на фотометре при длине волны 405 нм. В зависимости от варианта методики выделяют кинетический и 2-точечный методы определения остаточной активности фактора Ха.

Гепарин (образец)

FXa + АТ III (избыток) →
[FXa – АТ III] + FXa (остаток).

FXa (остаток)

Хромогенный субстрат →
трипептид + краситель.

Фактор Ха добавляется к разбавленному образцу, а специфические пептидные субстраты применяются для определения остаточной (не ингибированной) части добавленного FXa.

2. КЛОТТИНГОВЫЕ
(ИЛИ ТАК НАЗЫВАЕМЫЕ
ХРОНОМЕТРИЧЕСКИЕ) ТЕСТЫ [15]

Фактор Ха вместе с фосфолипидами и хлоридом кальция используется для запуска свертывания.

В литературе уже давно обсуждается вопрос о том, необходимо ли контролировать активность анти-Ха для НМГ [16–19]. Все авторы согласны с тем, что лабораторный мониторинг должен проводиться в особых случаях, а именно у пациентов с заболеванием почек, ожирением или недостаточным весом, а также у детей. Однако большинство авторов высказались критически относительно ограниченной предсказуемости результатов хромогенных или клоттинговых тестов в отношении эффективности (анти-тромботический потенциал) и безопасности (риск кровотечений) исследуемых препаратов.

Нефракционированный гепарин (НФГ) требует мониторинга дозирования из-за его изменчивой фармакокинетики и фармакодинамики [20]. Обычно его контролируют с помощью АЧТВ или активированного времени свертывания (АВС). Результаты анализов зависят от

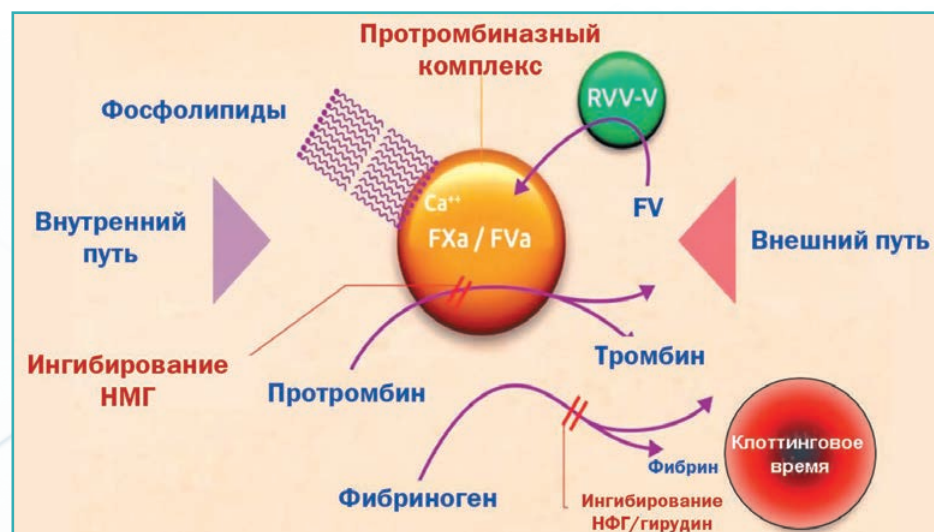


Рисунок 1. Принцип теста PiCT

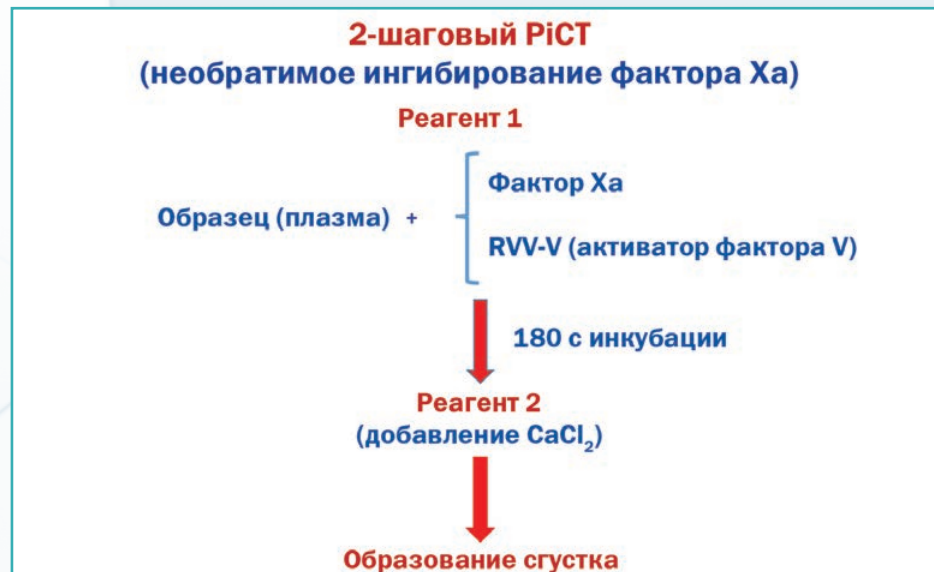


Рисунок 2. Схема проведения теста PiCT

используемых анализаторов и реагентов [21, 22]. Целевые диапазоны АЧТВ (1,5–2,5-кратное увеличение) могут быть связаны с реагентом, используемым в лаборатории. Прямые ингибиторы тромбина (ПИТ) обычно контролируются с помощью АЧТВ. Однако с повышением уровней ПИТ активированное частичное тромбопластиновое время не увеличивается должным образом. Поэтому для оценки ПИТ были разработаны амидо-литические методы (анти- IIa активность) и экариновое время свертывания. К сожалению, их рутинное использование в повседневной практике остается ограниченным.

ТЕСТ РІСТ (ПРОТРОМБИНАЗА-ИНДУЦИРОВАННОЕ КЛОТТИНГОВОЕ ВРЕМЯ)

Тест РіСТ (Pentapharm, Базель, Швейцария) является новым чувствительным методом для мониторинга и оценки действия НФГ, НМГ, фондапаринкуса и ПИТ. До настоящего времени в русскоязычной литературе не были опубликованы данные относительно подробной оценки его компонентов и возможности применения.

Принцип метода

РіСТ — это тест на антикоагулянты, который чувствителен к анти- Ха и анти- IIa агентам. Он основан на комбинации фосфолипидов, хлорида кальция и двух очищенных белков: FXa и специфического активатора FV из яда гадюки *Daboia russelli* (RVV-V) (рис. 1).

В исследуемый образец, содержащий плазму, добавляется реагент R1, содержащий комбинацию определенного количества FXa , фосфолипидов и RVV-V. При измерении не прямых ингибиторов FXa и в случае ингибиторов тромбина (прямых и не прямых) период инкубации составляет 180 с. В течение фазы инкубации RVV-V активирует FV в образце, что обеспечивает немедленное образование протромбиназного комплекса после рекальцификации без необходимости активации FV посредством эндогенных реакций обратной связи, опосредованных тромбином. Протромбиназный комплекс превращает протромбин в тромбин. Как только образуется свободный тромбин, в образце определяется ступок и регистрируется время его образования. Процедура проведения теста является довольно простой в исполнении и напоминает метод определения АЧТВ (рис. 2).

Интерпретация результатов теста РіСТ

В табл. 1 представлены ожидаемые значения времени свертывания в секундах для пациентов, не получавших антикоагулянтную терапию (нормальная область), и для пациентов, получавших различные антикоагулянты. Время свертывания было измерено в рамках многоцентрового исследования с использованием различных анализаторов (STA®-C, STA®-R, KC-10™).

На рис. 3 показаны типичные диаграммы результатов серии разбавлений в клиническом диапазоне для фондапаринкуса, данапароида, аргатробана, гирудина и ривароксабана.

Ограничения теста РіСТ

Дефицит большинства факторов не влияет на определение антикоагулянтной активности. В образцах пациентов с дефицитом антитромбина проявляется снижение антикоагулянтной активности, поэтому время свертывания в образцах с известной концентрацией антикоагулянта ниже, чем ожидается. В образцах с высоким дефицитом фактора V, протромбина и/или фибриногена (ниже 25 % от нормального уровня) время свертывания

Таблица 1. Диапазоны значений в норме и у пациентов на антикоагулянтной терапии при выполнении теста РіСТ

Группа пациентов	Время свертывания (с)		
	Медиана	Квартиль 1–3	95% область
Нормальная область	25,3	21,8–27,1	19,2–30,6
НФГ	92,9	77,5–109,7	30,8–143,3
Профилактическая доза НМГ	62,8	45,8–73,2	29,4–110,7
Терапевтическая доза НМГ	114,4	89,6–136,7	57,3–300,1
Фондапаринукс	61,9	53,8–68,2	50,2–86,4
Данапароид	90,1	65,1–116,8	46,8–144,6

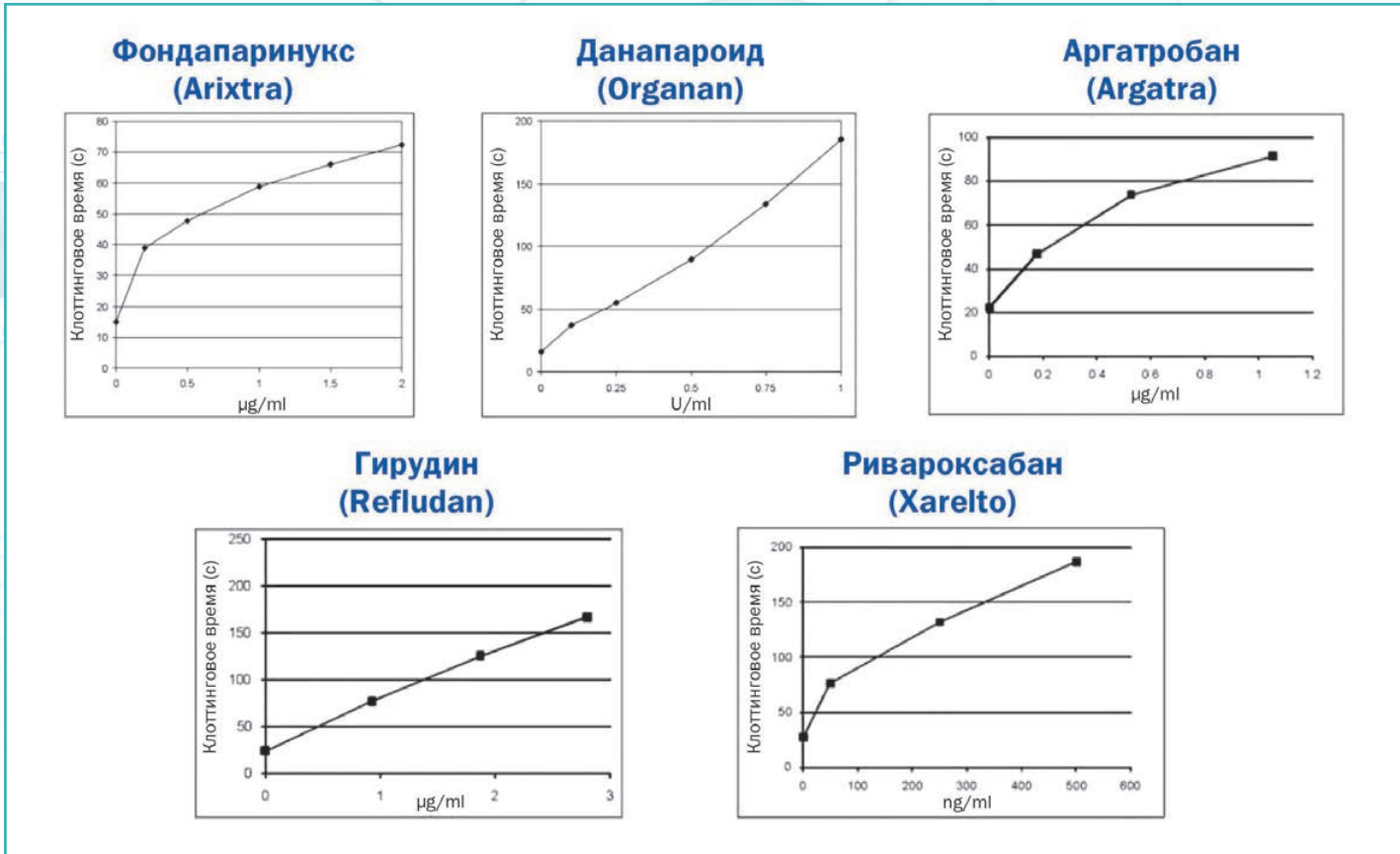


Рисунок 3. Типичные диаграммы результатов серии разбавлений в клиническом диапазоне для фондапаринкуса, данапароида, аргатробана, гирудина и ривароксабана

Таблица 2. Сравнение прямых анти- Ха препаратов: аликсабана, бетриксабана, эдоксабана и ривароксабана и относительная чувствительность РіСТ по сравнению с АЧТВ и ПВ в различных образцах (все результаты представлены как среднее $\pm$ SD при 20 индивидуальных определениях)

Анти- Ха препараты (1000 нг/мл)	Цельная кровь			Плазма			Плазма с добавленными препаратами		
	РіСТ	АЧТВ	ПВ	РіСТ	АЧТВ	ПВ	РіСТ	АЧТВ	ПВ
Аликсабан	68,6 $\pm$ 7,1	50,2 $\pm$ 12,6	20,4 $\pm$ 3,2	93,4 $\pm$ 11,6	31,8 $\pm$ 4,6	15,8 $\pm$ 3,2	203,1 $\pm$ 12,1	46,4 $\pm$ 5,1	25,3 $\pm$ 3,1
Бетриксабан	82,0 $\pm$ 9,3	80,0 $\pm$ 14,5	32,7 $\pm$ 4,6	112,9 $\pm$ 13,4	44,6 $\pm$ 6,4	22,4 $\pm$ 5,8	187,1 $\pm$ 18,1	69,5 $\pm$ 6,2	28,2 $\pm$ 4,2
Эдоксабан	132,0 $\pm$ 13,4	84,6 $\pm$ 12,1	41,2 $\pm$ 6,4	199,4 $\pm$ 14,3	44,9 $\pm$ 7,6	26,1 $\pm$ 4,1	296,5 $\pm$ 19,5	63,9 $\pm$ 9,5	30,1 $\pm$ 4,6
Ривароксабан	85,1 $\pm$ 11,4	61,7 $\pm$ 9,6	26,5 $\pm$ 7,6	138,8 $\pm$ 10,1	38,2 $\pm$ 8,7	23,3 $\pm$ 3,7	248,2 $\pm$ 20,4	59,3 $\pm$ 8,8	32,0 $\pm$ 6,9

увеличивается. Волчаночные антикоагулянты также могут приводить к ложному повышению антикоагулянтной активности. Апротинин в плазме в концентрации до 800 CIU/ml не влияет на результат теста, и наоборот, протамин влияет на проведение теста при концентрации 1 ME/ml и выше (исследуемая плазма не должна содержать протамин). Реагент R1 (активатор) содержит FXa , который может вызвать эффект переноса. Поэтому очистка дозирующих устройств после этапа пипетирования является обязательной и должна включаться в протокол проведения теста.

Тест РіСТ более чувствителен по сравнению с АЧТВ и ПВ для мониторинга антикоагулянтов

В настоящее время имеется четыре коммерчески доступных пероральных анти- Ха лекарственных препарата, а именно: аликсабан, бетриксабан, эдоксабан и ривароксабан. Все используемые препараты имеют фиксированную дозировку, тем не менее их применение может быть связано с потенциальными геморрагическими осложнениями. Хотя ингибирующий эффект фактора Ха счи-

тается суррогатным маркером биологического действия этих препаратов, было показано, что профиль ингибирования аликсабана, бетриксабана, эдоксабана и ривароксабана не полностью отражает их биологический спектр. Кроме того, методы определения ПВ и АЧТВ имеют ограниченную чувствительность и зависят от многих других эндогенных факторов.

Время свертывания, индуцированное протромбиназой, является чувствительным тестом для глобального мониторинга антикоагулянтов, включая гепарины и пероральные анти- Ха и анти- IIa препараты. Определение конечной точки на основе образовавшегося ступка фибрина (окончание реакции) пропорционально активности FXa и FIIa .

Относительная чувствительность РіСТ по сравнению с АЧТВ и ПВ в различных образцах представлена в табл. 2 [23].

Тест РіСТ по сравнению с АЧТВ и ПВ является наиболее чувствительным при работе с различными образцами. Так, при использовании цельной крови и плазмы РіСТ показал линейность и высокую чувствительность для всех четырех анти- Ха препаратов. В тесте РіСТ (плазма с добавленными лекарственными препаратами)

отмечен самый высокий ответ по сравнению с плазмой и цельной кровью, что свидетельствует о различном связывании этих препаратов с клетками, поэтому РіСТ можно успешно использовать для мониторинга анти- Ха препаратов. Тест РіСТ проводится на всех доступных в настоящее время оптических и механических коагулометрах, которые используются для исследования свертывания крови. Благодаря быстрому времени проведения исследования, высокой чувствительности и более низкой стоимости данный тест может применяться для рутинного мониторинга антикоагулянтной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Протромбиназа-индуцированное клоттинговое время — это новый метод анализа системы свертывания крови (гемостаза), предназначенный для мониторинга различных антикоагулянтов. Данный тест чувствителен к анти- Ха и анти- IIa агентам. Процедура выполнения РіСТ аналогична тесту для АЧТВ.

Список литературы находится в редакции ■