

Мониторирование гепаринотерапии в клинической практике

А.П. Момот^{1,2}, д.м.н., проф., рук. филиала

А.Г. Золовкина³, к.м.н., зав. лабораторией

Е.В. Григорьева², к.м.н., м.н.с. центральной научно-исследовательской лаборатории

И.А. Тараненко², к.м.н., н.с. филиала

¹ Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

² ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

³ ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, г. Барнаул

Проведено сравнительное исследование часто используемых АПТВ-реагентов различных фирм-производителей на коагулометрах с различным механизмом детекции фибрина. Учитывалась чувствительность АПТВ-реагентов к высоким и низким концентрациям нефракционированного гепарина, содержащегося в коммерческой контрольной плазме.

Ключевые слова: система гемостаза, АПТВ-реагент, контроль гепаринотерапии.

Исследования системы гемостаза в клинической практике выполняются, как известно, с целью диагностики различных нарушений свертывания крови и контроля медикаментозной терапии. Особенностью данного раздела лабораторной диагностики является наличие широкого перечня методов исследования, большинство которых не стандартизованы, что порождает возможность ошибочной трактовки полученных данных. К числу таких методов относится активированное парциальное (или частичное) тромбопластиновое время (АПТВ/АЧТВ), выполняющееся на обедненной тромбоцитами цитратной плазме крови и использующееся для решения целого ряда диагностических задач – мониторинга гепаринотерапии, определения активности некоторых факторов свертывания (VIII, IX, XI, XII) и антител к ним, выявления волчаночного антикоагулянта и некоторых других [1, 2].

Первые сообщения о целесообразности использования АПТВ для мониторинга гепаринотерапии появились в 1962 году [5]. С тех пор, метод оценки АПТВ рекомендуется профессиональными сообществами для мониторинга дозирования нефракционированного гепарина [9]. Такой лабораторный контроль позволяет корректировать дозу гепарина определяя и поддерживая целевой терапевтический диапазон от 1,5 до 2,5 по отношению АПТВ (большой/контроль) [3, 6]. Экспериментальные исследования показали, что поддержание этого терапевтического диапазона позволяет достигнуть клинически значимой гипокоагуляции, без увеличения числа геморрагических осложнений. При этом известно, что поддержание гипокоагуляции по отношению АПТВ на уровне более 2,5, как правило, сопровождается значительным увеличением числа кровотечений [7]. По данным Anand et al. при результате АПТВ до 100 секунд, увеличение времени

свертывания в тесте на 10 секунд увеличивает риск кровотечения на 7% [4]. Тем не менее, эти рекомендации относительны, поскольку различные тест-системы обладают разной чувствительностью к гепарину и в ряде случаев удлинение АПТВ менее чем в 1,5 раза может сопровождаться геморрагическим синдромом. Как известно, диапазон, рекомендованный для контроля гепаринотерапии, предполагает определение лабораторией референтных значений АПТВ, с учетом использования той или иной аналитической системы, и информирование об этом лечащих врачей [8].

АПТВ-реагенты получают обычно с использованием биологических источников липидов (головной мозг животных, бобы сои) или путем их искусственного синтеза. При этом класс фосфолипидов и жирных кислот, входящих в состав этих реагентов, весьма разнообразен. Активность реагентов и их чувствительность к дефициту факторов свертывания, гепарину и волчаночному антикоагулянту зависит не только от состава фосфолипидов, но и от используемых активаторов контактной фазы свертывания крови – каолина, эллаговой кислоты, диоксида кремния и других.

К сожалению, для рассматриваемого метода исследования, отсутствует процедура стандартизации, аналогичная применяемой для протромбинового теста. В связи с этим, результаты, полученные в разных лабораториях, мало сопоставимы. Учитывая, что в распоряжении клинических лабораторий в России имеются более 10 соответствующих тест-систем отечественного и импортного производства целью настоящего исследования явился сравнительный анализ наиболее часто используемых реагентов АПТВ и аттестация их по чувствительности к гепарину.

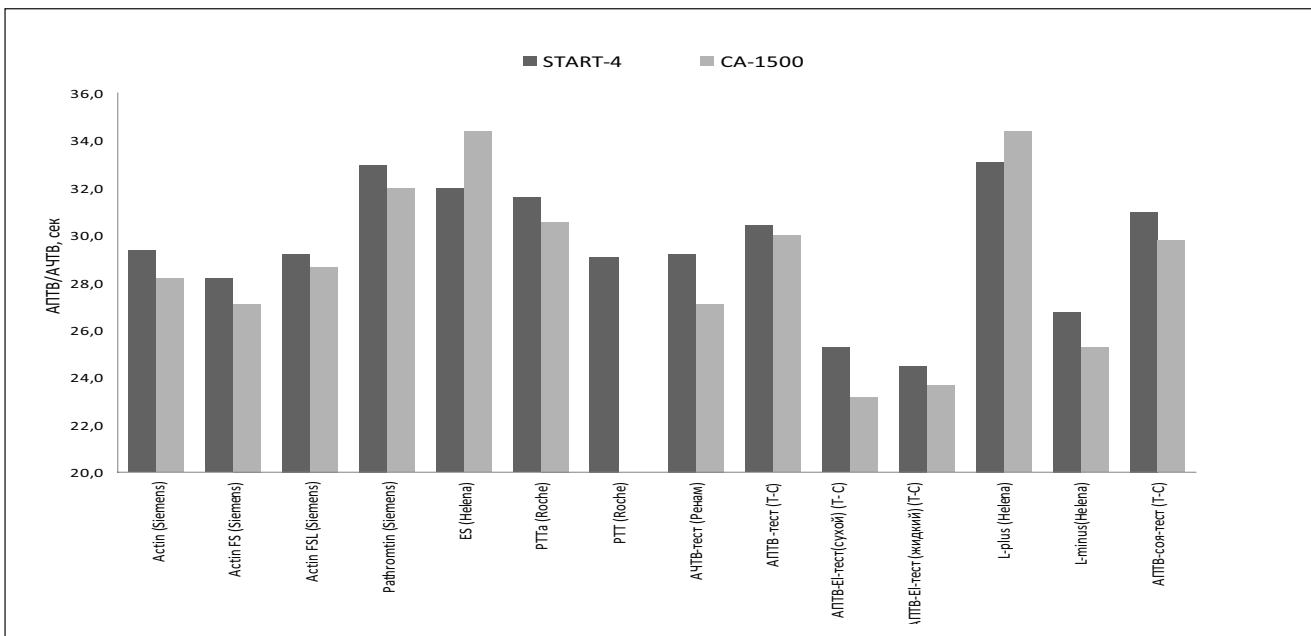


Рис. 1. Результаты исследования контрольной плазмы N с помощью АПТВ-реагентов различных производителей

Материалы и методы

В работе были использованы коммерческие плазмы производства фирмы Siemens, аттестованные по содержанию гепарина (Dade CiTrol Heparin Controls, Low and High) и Plasma control N. Сравнивали результаты, полученные при использовании следующих тест-систем: АПТВ-EL-тест, жидкий и сухой, АПТВ-тест, АПТВ-соя-тест (фирмы Технология-Стандарт; примечание: в тексте, таблицах и рисунке приведено сокращенное

обозначение фирмы – Т-С), АЧТВ-тест (фирмы Ренам), Actin, Actin FS, Actin FSL, Pathromtin (Siemens), PTT, PTTa (Roche) и ES (Helena), заказанными для исследования в 2013 году. Определение АПТВ проводили с помощью полуавтоматического коагулометра Start-4 (Roche), с механическим способом регистрации образования фибрина, а также автоматического анализатора гемостаза CA-1500 (Sysmex), имеющего оптическую систему детекции. Исследования дублировались, учитывался средний результат.

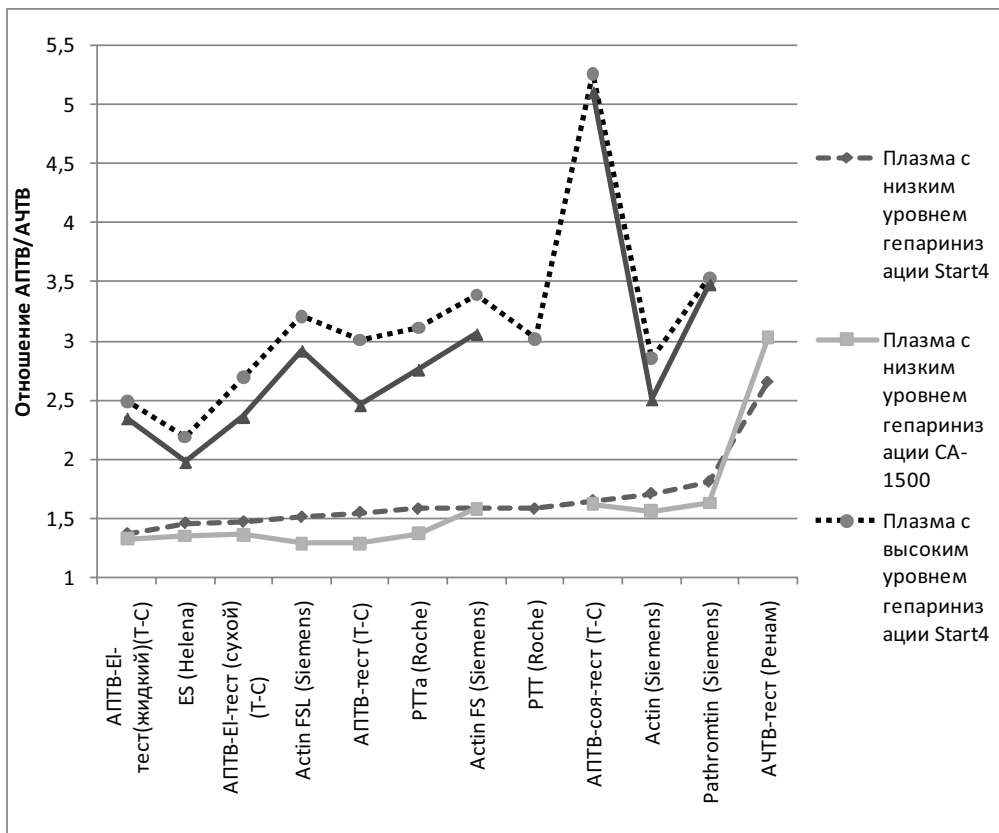


Рис. 2. Отношение АПТВ/АЧТВ, определенное в образцах плазмы, аттестованных по активности гепарина

Таблица 1. Результаты определения АПТВ/АЧТВ в образцах плазмы, стандартизированных по уровню нефракционированного гепарина

Тест-система	Время АПТВ/АЧТВ, сек				Отношение АПТВ/АЧТВ			
	Плазма с низким уровнем гепарина (0,2 Ед/мл)		Плазма с высоким уровнем гепарина (0,6 Ед/мл)		Плазма с низким уровнем гепарина (0,2 Ед/мл)		Плазма с высоким уровнем гепарина (0,6 Ед/мл)	
	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500	Start-4	CA-1500
АПТВ-El-тест (жидкий) (Т-С)	35,1	34,7	63,8	61,4	1,37	1,33	2,49	2,35
ES (Helena)	47,8	52,7	71,5	77,3	1,46	1,35	2,19	1,98
АПТВ-El-тест (сухой) (Т-С)	37,8	37,7	69,5	65,1	1,47	1,36	2,69	2,36
Actin FSL (Siemens)	45,0	40,9	95,7	91,9	1,51	1,29	3,21	2,92
АПТВ-тест (Т-С)	48,1	45,7	93,1	87,4	1,55	1,29	3,01	2,46
РТТa (Roche)	56,2	51,4	110,9	103,7	1,58	1,37	3,11	2,76
Actin FS (Siemens)	45,2	48,2	97,0	93,6	1,58	1,58	3,39	3,06
РТТ (Roche)	48,9	-	93,7	-	1,58	-	3,02	-
АПТВ-соя-тест (Т-С)	51,2	50,4	163,2	158,1	1,65	1,72	5,26	5,10
Actin (Siemens)	47,8	42,5	79,7	68,5	1,71	1,56	2,85	2,51
Pathromtin (Siemens)	62,6	58,9	122,2	126,1	1,81	1,63	3,53	3,48
АЧТВ-тест (Ренам)	83,1	100,7	<200	<200	2,65	3,03	-	-

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследования был проведен анализ активности АПТВ-реагентов в контрольной плазме N (Plasma control N, Siemens) параллельно - на автоматическом и полуавтоматическом коагулометрах. Как видно из рис. 1 результат АПТВ зависел от используемых тест-систем и составил при выполнении исследования на автоматическом анализаторе CA-1500 от 23,2 до 34,4 ($28,2 \pm 3,73$) сек, и от 25,3 до 33,1 ($28,9 \pm 2,79$) сек, при анализе на полуавтоматическом анализаторе Start-4.

Полученные данные свидетельствовали о различной активности исследованных реагентов, которая, в целом, соответствовала референтным диапазонам, указанным в инструкции к соответствующим тест-системам. Известно также, что диапазон нормальных значений АПТВ обычно составляет 25–36 сек [9].

Далее, для оценки чувствительности анализируемых реагентов к гепарину были проведены исследования плазмы, стандартизированной по уровню этого антикоагулянта, с низким (0,2 Ед/мл) и высоким уровнем (0,6 Ед/мл) гепаринизации. По каждому образцу плазмы рассчитывалось отношение АПТВ с использованием в качестве знаменателя результата исследования контрольной плазмы N соответствующим набором реагентов.

Можно видеть, что время образования фибрина при использовании различных АПТВ-реагентов варьировало в широком диапазоне значений для

плазм с низким и высоким уровнем гепаринизации (табл. 1 и рис. 2). Сравнительную оценку чувствительности тест-систем к гепарину провели по отношению АПТВ для всех исследованных образцов тест-систем. В данной таблице и на рисунке АПТВ-реагенты были ранжированы в соответствие с чувствительностью к малой дозе гепарина в контрольной плазме, исследованной на коагулометре Start-4. Если оценить полученное отношение АПТВ то определяется его разброс от 1,33 до 3,03 в образце плазмы с низким уровнем гепарина (удлинение от контрольных значений, в среднем, в 1,63 раза) и от 1,98 до 5,26 в образцах с высоким уровнем этого антикоагулянта (удлинение от контрольных значений, в среднем, в 3,03 раза). Отметим, что отсутствие данных по реагенту РТТ (Roche) на анализаторе CA-1500 связано с высокой мутностью реактива, не предназначенного для использования в условиях оптической системы детекции фибрина. Кроме того, результат исследования плазмы с высоким уровнем гепарина в случае применения набора реагентов АЧТВ-тест (Ренам) превысил 200 секунд и не был зафиксирован приборами.

Полученные результаты свидетельствуют, что активность АПТВ-реагентов мало значима для мониторинга гепаринотерапии. Так при исследовании плазмы с низким уровнем гепарина реагентами РТТa (Roche) полученные 56,2 сек соответствовали отношению АПТВ – 1,58, а 62,6 сек в тесте с реагентами Pathromtin (Siemens) – отношению АПТВ 1,81. В тоже

время результат 63,8 сек был определен при высоком уровне гепаринизации с отношением АПТВ равным 2,49, при исследовании плазмы реагентами АПТВ-El-тест (жидкий) (Т-С).

Оценивая кратность возрастания времени образования фибрина в АПТВ с использованием разных приборов и на разных уровнях гепаринизации плазмы мы установили, что наибольшей чувствительностью

к гепарину обладает тест-система Pathromtin (Siemens), а наименьшей – АПТВ-El-тест (жидкий) и ES (Helena). При сравнении результатов этих тест-систем полученных на одном образце исследуемой плазмы отношение АПТВ/АЧТВ отличается более чем в 1,5 раза. Вероятно, высокой чувствительностью к гепарину обладает и тест-система АЧТВ-тест (Ренам), однако, оценить ее результаты в диапазоне высоких уровней гепаринизации не удалось.

Заключение

В настоящее время отечественным лабораториям доступна линейка импортных и отечественных тест-систем для определения АПТВ. Однако международное профессиональное сообщество не выработало методов его стандартизации, как это было с протромбиновым тестом. Использование разных АПТВ-реагентов для мониторинга гепаринотерапии без учета индивидуальной чувствительности реагента к гепарину может иметь неблагоприятные клинические последствия в виде кровотечений и тромбозов. Мы полагаем, что оптимально в этих целях использовать тест-системы, имеющие средние значения чувствительности к данному антикоагулянту. Проведенные исследования подтверждают тезис о том, что те или иные АПТВ-реагенты имеют предпочтительные цели использования. Следующие публикации в этом направлении планируются по оценке чувствительности АПТВ-реагентов при определении дефицита VIII и IX факторов свертывания крови и выявлении эффектов волчаночного антикоагулянта.

Литература

1. Баркаган Э.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2008. – 292 с.
2. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. СПб.: Изд-во «Форма Т», 2006. – 208 с.
3. Савельев В.С., Чазов Е.И., Гусев Е.И., Кириенко А.И., Акчурин Р.С., Андрияшкин В.В. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозных осложнений: Методические рекомендации. М.: Изд-во «Медиа Сфера», 2010 г. – 53 с.
4. Anand SS. *Et al. Organization to Assess Strategies for Ischemic Syndromes Investigators. Relation ship of activated partial thromboplastin time to coronary events and bleeding in patients with acute coronary syndromes who receive heparin/ SS. Anand, S. Yusuf, J. Pogue, JS. Ginsberg, J. Hirsh // Circulation. – 2003 Jun 17. – Vol. 107, №23. – P. 2884-8.*
5. *Struver GP. Et al. The partial thromboplastin time (cephalin time) in anticoagulation therapy/ GP. Struver, DL. Bittner // Am J Clin Pathol. – 1962 Nov. – Vol. 38. – P. 473–81.*
6. *ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting with out persistent ST-segment elevation. Eur Heart J. – 2011. – Vol. 32, № 23. – P. 2999–3054.*
7. *Hirsh J. Heparin / J. Hirsh // N Engl J Med. – 1991. – Vol. 324. – P. 1565–74.*
8. *Nelson DE. Current considerations in the use of the APTT in monitoring unfractionated heparin / DE. Nelson // Clin Lab Sci. – 1999 Nov-Dec. – Vol. 12, № 6. – P. 359–64.*
9. *Practical Hemostasis and Trombosis/ ed. by N. Key, M. Markris, D. O'Shaughnessy, D. Lillicrap. 2nd ed. – Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. – 311 P.*