

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТРОМБОПЛАСТИНОВЫХ РЕАГЕНТОВ ПРИ КОНТРОЛЕ ВАРФАРИНОТЕРАПИИ

И. А. Тараненко, Е. В. Григорьева, А. Н. Мамаев, М. В. Пыхтеева

Современная стратегия антитромботической терапии предполагает отдельное или комплексное применение средств, ингибирующих функцию тромбоцитов (антиагрегантов), препаратов, активирующих тромболизис и антикоагулянтов. Среди последних различают, как известно, антикоагулянты «прямого действия», к которым относятся обычный и низкомолекулярные гепарины, прямые пероральные ингибиторы фактора Ха и IIa-тромбина (ривароксабан, дабигатран этексилат, аписабан и др.) и антикоагулянты непрямого действия, ингибирующие при приеме внутрь синтез витамин К-зависимых факторов свертывания (кумарины – варфарин и его аналоги).

Кумарины являются, как известно, родоначальниками современной антитромботической терапии и продолжают использоваться для длительной профилактики венозных тромбозов и эмболических осложнений [1, 2].

Основная и очень важная проблема при приеме кумаринов связана с необходимостью тщательного и точного контроля за дозировкой этих препаратов. Такой контроль требуется на всем протяжении лечения (часто многолетнем), но особенно в начальной фазе терапии, когда идет подбор оптимальных доз препаратов в первые дни и недели лечения. Эти дозы неодинаковы у разных препаратов и индивидуально варьируют у разных пациентов [3, 4]. С этой целью применяется протромбиновый тест (ПТ), в прошлом и в настоящее время относящийся к так называемым «глобальным», простым и повсеместно применяемым методам исследования системы гемостаза, позволяющим проводить скрининг нарушений, связанных с синтезом витамин К-зависимых факторов свертывания крови [4, 5].

При выполнении ПТ используются реагенты, исторически обозначаемые как «тромбопластины», представляющие собой надмолекулярную субстанцию биологического или рекомбинантного происхождения, содержащую смесь тканевого фактора и различных фосфолипидов. В целях стандартизации таких определений у пациентов, получающих антагонисты витамина К, учитывается международный индекс чувствительности тромбопластина (МИЧ), позволяющий принимать во внимание индивидуальную способность того или иного реагента к выявлению дефицита факторов протромбинового комплекса [6, 7]. При этом стремятся к достижению целевого показателя гипокоагуляции (в единицах

международного нормализованного отношения, МНО), как правило, в диапазоне от 2,0 до 3,0. Все эти подходы призваны повысить точность лабораторного мониторинга, уменьшить межлабораторную вариацию получаемых результатов и, прежде всего, избежать геморрагических осложнений и рецидивов сосудистой ишемии у больных, нуждающихся в варфаринотерапии.

Тем не менее, по опыту нашей клиники, при учете результатов определения ПТ у больных, длительно получающих непрямые антикоагулянты, часто имеются серьезные разночтения в случае использования тромбопластинов различного происхождения. Это и послужило основанием для проведения настоящей работы, целью которой явился **сравнительный анализ результатов МНО при мониторинговании антикоагулянтных эффектов варфарина**.

В работе исследовалась плазма крови пяти практически здоровых людей (в возрасте от 20-ти до 34-х лет) и шести больных с ВТЭО в анамнезе, находящихся в стабильной фазе варфаринотерапии (в возрасте от 25-ти до 48-ми лет). Следует отметить, что пациенты проходили обследование в лаборатории патологии гемостаза поликлиники КГБУЗ «Краевая клиническая больница г. Барнаула», в течение последних трех недель не меняли

дозу варфарина, и у них не было проявления геморрагического синдрома.

Для получения анализируемых образцов кровь забиралась из локтевой вены в пробирки VACUETTE с буферным раствором цитрата натрия в соотношении 9 : 1 (9NC Coagulation sodium citrate 3,2%). С целью получения обедненной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали при 1400 g в течение 15 минут при комнатной температуре.

В рамках данного исследования были использованы 15 коммерческих образцов тромбопластина российских и зарубежных производителей с разными значениями МИЧ (табл. 1). В соответствии с паспортом к набору реагентов основное число тромбопластинов имели индекс чувствительности от 0,97 до 1,25.

Методика определения протромбинового времени свертывания и расчета МНО по результатам ПТ в исследуемом и контрольном (нормальном) образцах плазмы соответствовала имеющимся рекомендациям [4, 8, 9].

Измерения протромбинового времени проводились с использованием полуавтоматического коагулометра Start4 (Roche), с механическим принципом регистрации образования сгустка фибрина.

Таблица 1
Изученные тромбопластиновые реагенты

№	Реагенты	МИЧ
1.	Тромбопластин, ЭМКО (серия 130305)	1,00
1.	Тромбопластин, ЭМКО (серия 130305)	1,00
2.	Техпластин, жидкий реагент, Технология-Стандарт (серия Д 133234)	1,10
3.	Тромбопластин-тест (сухой), ГНУ ИФОХ НАН Беларуси (серия 280213)	1,10
4.	Ренампластин ПГ 5/1, Ренам (серия 1113)	1,20
5.	Neoplastine R 15, Diagnostica Stago (lot 109991)	0,97
6.	Dade Innovin, Siemens, (lot 539236)	0,94
7.	Hemosil RecombiPlasTin 2G, Instrumentation Laboratory (lot N0821174)	1,03
8.	Thromboplastin PT-S-4, Cormay (lot 208-19)	1,04
9.	Medi PT reagent, BioMedica Diagnostics Inc. (lot 010U-B265A)	1,06
10.	Thromborel S, Siemens (lot 545492)	1,08
11.	TriniCLOT PT excel S, Tcoag (lot C279014)	1,12
12.	HemoStat Thromboplastin-SI, Human, (lot 12016)	1,17
13.	Thromboplastin LI, Helena (lot 21093640)	1,19
14.	Neoplastine CL Plus 5, Diagnostica Stago (lot 110240)	1,25
15.	Thromboplastin PT-4, Cormay (lot 20-210)	2,19

Таблица 2

Значения протромбинового времени в контрольной нормальной (пулированной) плазме

№ реагента (см. табл. 1)	n1	n2	n3	среднее
1.	15,0	14,9	15,1	15,0
2.	13,5	13,5	14,8	13,9
3.	16,5	17,0	17,0	16,8
4.	15,9	15,7	15,5	15,7
5.	11,8	12,3	12,5	12,2
6.	8,2	8,3	8,5	8,3
7.	10,3	9,8	10,3	10,1
8.	13,9	12,7	13,8	13,4
9.	12,7	12,3	12,7	12,6
10.	12,0	11,4	11,8	11,7
11.	13,5	13,5	13,9	13,6
12.	14,1	13,3	13,7	13,7
13.	13,2	12,6	13,0	12,9
14.	10,9	11,3	11,1	11,1
15.	11,4	11,5	11,4	11,4

На первом этапе работы был проведен анализ протромбинового времени контрольной нормальной плазмы (пула из образцов плазмы пяти здоровых доноров, смешанной в равных долях) при использовании различных тромбопластинов.

Все измерения повторяли трижды, вычисляли средний результат (табл. 2).

Можно видеть, что результат ПТ зависел от тех или иных используемых тромбопластинов – искомое время находилось в диапазоне от 7,9 до 17,0 с.

Вторая часть работы предусматривала анализ вариации МНО у одних и тех же пациентов в стабильной фазе варфаринотерапии в случае применения различных, стандартизированных по МИЧ коммерческих тромбопластинов. Полученные данные, приведенные на рис., свидетельствуют о неудовлетворительной сопоставимости результатов по целому ряду исследованных реагентов. В данной работе мы не обозначаем тромбопластины, показавшие «полярные» значения во избежание конфликта интересов. Однако удивительно, что разница минимального и максимального значений МНО в одном из наблюдений (№ 5) составила величину 4,1 (в диапазоне от 2,6 до 6,7). По другим наблюдениям, различия также оказались значительными и заслуживающими внимания.

Отметим, что используемый в работе нашего центра новый жидкий тромбопластиновый реагент «Техпластин» продемонстрировал сравнительно хорошие результаты. Он неизменно находился близко к центру диапазона МНО, измеренного у всех обследованных больных.

Клиницисты и специалисты в области лабораторной диагностики ожидают точности, воспроиз-

водимости и информативности лабораторного мониторинга антикоагулянтного действия принимаемых доз варфарина или его производных. Однако этот вопрос по-прежнему остается в числе проблемных.

Выводы

1. Использование МИЧ тромбопластина с вычислением показателя МНО не позволяет избежать различий при оценке результатов ПТ в случае использования различных тромбопластинов у пациентов, получающих непрямыми антикоагулянты.

2. Рекомендуемые нормальные значения протромбинового времени, указанные фирмой-

производителем тромбопластина, следует использовать лишь для ориентировочной оценки, поскольку его результаты зависят от техники выполнения исследований, серии реагента и ряда других факторов.

Список литературы

1. Кушелевский Б.П. //Очерки по антикоагулянтной терапии. М.: Медгиз. – 1958. – 170 С.
2. Ольбинская Л.И., Гофман А.М. //Лечение и профилактика тромбозов. – М.: Вагриус, 2000. – 196 С.;
3. Савельев В.С., Чазов Е.И., Гусев Е.И. и др. Российские клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике венозных тромбозомболических осложнений. // Флебология. – 2010. – Т. 4, № 1. – Выпуск 2. – С. 2-37.
4. Момот А.П. Патология гемостаза. Принципы и алгоритмы клинико-лабораторной диагностики. – СПб., Изд-во «Форма Т», 2006. – 208 С.
5. Баркаган З.С., Момот А.П. Диагностика и контролируемая терапия нарушений гемостаза. // В кн.: Монография. – Издание 3-е. М.: Изд-во «Ньюдиамед», 2008. – 292 С.
6. WHO Expert Committee on Biological Standardisation. 33rd Report Tech. Rep. Ser. 687. – P. 81-105, Geneva: WHO. – 1983.
7. Hirsh J., Fuster V., Ansell J., Halperin J.L. // American Heart Association / American College of Cardiology Foundation Guide to Warfarin Therapy. // Circulation, 2003. – P. 1692-1711.
8. Practical Hemostasis and Thrombosis. – 2 nd ed. // Ed. by N. Key, M. Makris., D. Or Shaughnessy, D. Lillicrap. – Oxford: Wiley-Blackwell publishing Ltd., 2009. – 311 p.
9. Laboratory Hemostasis. A practical Guide for Pathologists. // Ed. by S.T. Bennet, C.M. Lehman, G.M. Rodgers. – USA: Springer, 2007. – 237 p.

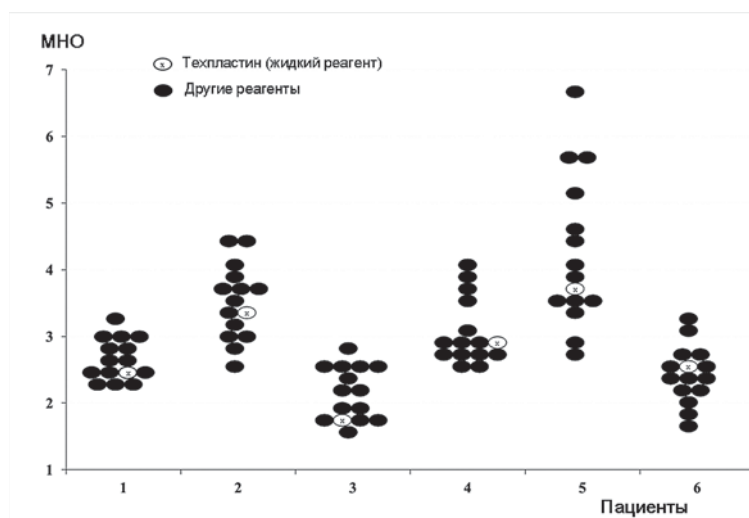


Рис. Результаты определения МНО у больных, получающих варфарин, при использовании различных тромбопластиновых реагентов.