

КОАГУЛОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616.151.5-02:616.72-079.28]-085.273.53-074

Антропова И.П.^{1,2}, Рейно Е.В.², Юшков Б.Г.^{3,4}

КЛОТТИНГОВЫЕ ТЕСТЫ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ОЦЕНКЕ КОАГУЛЯЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ НА ФОНЕ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ДАБИГАТРАНОМ ПОСЛЕ КРУПНЫХ ОРТОПЕДИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ

¹ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, 620028, г. Екатеринбург;

²ГБУЗ СО «Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина», 620014; г. Екатеринбург;

³ФГБУН «Институт иммунологии и физиологии» УрО РАН, 620049, г. Екатеринбург;

⁴ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина», 620002, г. Екатеринбург

Крупные ортопедические операции сопряжены с высоким риском развития тромбоза глубоких вен нижних конечностей (ТГВ). Для антитромботической профилактики в настоящее время широко используются новые оральные антикоагулянты. Коагуляционные изменения на фоне действия прямого ингибитора тромбина дабигатрана исследовали у 30 пациентов, перенесших эндопротезирование коленного сустава (ЭКС). Определяли рутинные клоттинговые показатели, фибринопептид А (ФПА), растворимые фибрин-мономерные комплексы (РФМК), Д-димер (Д-Д). Образцы крови отбирали до операции, через 30 мин, на 1, 3, 7 и 14-е сутки после ЭКС.

Показано, что рутинные клоттинговые тесты, а также определение Д-димера и РФМК не позволяют провести адекватную оценку коагуляционной активности у пациентов, перенесших крупную ортопедическую операцию. Концентрация специфического маркера фибринообразования ФПА остается повышенной не менее 2 нед после ЭКС, что свидетельствует о сохранении гиперкоагуляции и риска тромбоза. Прием дабигатрана этексилата в фиксированной дозе не исключает развития ТГВ, что подтверждает точку зрения о полезности индивидуализации антитромботической профилактики при использовании новых оральных антикоагулянтов.

Ключевые слова: коагуляция; клоттинговые тесты, молекулярные маркеры, дабигатран; эндопротезирование коленного сустава.

Для цитирования: Антропова И.П., Рейно Е.В., Юшков Б.Г. Клоттинговые тесты и молекулярные маркеры в оценке коагуляционных изменений на фоне антитромботической профилактики дабигатраном после крупных ортопедических операций. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62(1): 25-30. DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-25-30>

Antropova I.P.^{1,2}, Reino E.V.², Yushkov B.G.^{3,4}

THE CLOTTING TESTS AND MOLECULAR MARKERS IN EVALUATING OF COAGULATION ALTERATIONS AGAINST THE BACKGROUND OF ANTI-THROMBOTIC PREVENTION BY DABIGATRAN AFTER LARGE ORTHOPEDIC OPERATIONS

¹The Uralskii state medical university of Minzdrav of Russia, 620028 Yekaterinburg, Russia

²The center of specialized types of medical care "The V.D. Chaklin Uralskii institute of traumatology and orthopedics", 620014 Yekaterinburg, Russia

³The institute of immunology and physiology of the Uralskii branch of the Russian academy of sciences, 620049 Yekaterinburg, Russia

⁴The First President of Russia B.N. Yeltsin Uralskii federal university, 620002 Yekaterinburg, Russia

The large orthopedic operations are associated with high risk of development of thrombosis of deep veins of lower extremities. Nowadays, new oral anticoagulants are widely applied for anti-thrombotic prevention. The coagulation alterations against the background of effect of Dabigatran, a direct inhibitor of thrombin were examined in 30 patients underwent endoprosthesis replacement of knee joint. The routine clotting indices, fibrinopeptid A, soluble fibrin-monomeric complexes, D-dimer. The samples of blood were selected before operation, after 30 minutes, and at 1st, 3d, 7th and 14th day after endoprosthesis replacement of knee joint. It is demonstrated that routine clotting tests and also detection of D-dimer and soluble fibrin-monomeric complexes provide no adequate evaluation of coagulation activity in patients underwent large orthopedic operation. The concentration of specific marker of fibrin formation of fibrinopeptid A continues to be increased no less than two weeks after endoprosthesis replacement of knee joint that testifies keeping hyper-coagulation and risk of thrombosis. The intake of Dabigatran etexilate in fixed dosage does not exclude development of thrombosis of deep veins of lower extremities that substantiates point of view concerning usefulness of individualization of anti-thrombotic prevention in case of application of new oral anti-coagulants.

Key words: coagulation; clotting test; molecular marker; Dabigatran; endoprosthesis replacement of knee joint.

Для корреспонденции: Антропова Ирина Петровна, д-р биол. наук, ст. науч. сотр., ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет Минздрава России». ГБУЗ СО, «Центр специализированных видов медицинской помощи «Уральский институт травматологии и ортопедии им. В.Д. Чаклина», e-mail: aip.hemolab@mail.ru

For citation: Antropova I.P., Reino E.V., Yushkov B.G. The clotting tests and molecular markers in evaluating of coagulation alterations against the background of anti-thrombotic prevention by Dabigatran after large orthopedic operations. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)* 2017; 62 (1): 25-30. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-25-30>

For correspondence: Antropova I.P., doctor of biological sciences, senior researcher. e-mail: aip.hemolab@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The authors express their gratitude to the orthopedic department №1 (the head - Piasatopulo K.I.) and the department of anesthesiology and intensive therapy (the head - Zhirova T.A.) of the V.D. Chaklin Uralskii institute of traumatology and orthopedics. The study was supported by the research program of the Russian Federation № 21506304014

Received 20.06.2016
Accepted 01.07.2016

Введение. Обширные хирургические операции в ортопедии сопряжены с высоким риском развития тромбозомболических осложнений [1]. При эндопротезировании коленного сустава (ЭКС) в отсутствие антитромботической профилактики тромбоз глубоких вен (ТГВ) обнаруживается у 41—85% пациентов [2]. Существенное значение для развития патологических тромбов имеют индуцированные хирургическим вмешательством местные и общие реакции системы гемостаза, ключевая роль в которых принадлежит формированию тромбина [3, 4]. Поэтому приоритетным направлением в профилактике тромбозомболических осложнений у хирургических больных является использование фармакологических препаратов, снижающих уровень образования тромбина либо ингибирующих его активность [5, 6]. К последним относится новый оральный антикоагулянт дабигатран, который принимается в форме предшественника — дабигатрана этексилата и в организме преобразуется в активную форму [7]. Дабигатран специфически блокирует свободный и связанный с кровяным сгустком тромбин [8], при этом затормаживается превращение фибриногена (ФГ) в фибрин, а также активация тромбоцитов и факторов свертывания крови V, VIII и XI [9].

Рутинные коагуляционные тесты зависят от уровня тромбина и чувствительны к действию его ингибитора [10—12]. Однако эти тесты определяют только начальную скорость образования тромбина [13] и не дают представления о том, как развивается процесс свертывания на этапе распространения. Существенно дополнить оценку функционирования коагуляционной системы позволяет определение маркеров фибринообразования.

Формирование фибрина из ФГ можно разделить на 3 стадии: протеолитическое отщепление тромбином фибринопептидов А и В с образованием фибрин-мономеров, полимеризацию мономеров с образованием фибриновой сети, стабилизацию фибрина путем образования ковалентных связей под действием фактора XIIIa. Деградация фибрина происходит в процессе его лизиса плазмином, при этом образуются специфические продукты — Д-димеры (Д-Д) [14]. Таким образом, специфическим маркером фибринообразования является фибринопептид А (ФПА) [15], Д-димер отражает как конечную стадию формирования фибрина, так и активность его лизиса.

Цель работы — используя рутинные клоттинговые методы и молекулярные маркеры образования фибрина, изучить изменения в системе свертывания крови на фоне действия дабигатрана у пациентов, перенесших ЭКС.

Материал и методы. В исследование включено 30 пациентов (10 мужчин и 20 женщин) в возрасте $61 \pm 8,5$ года. Критерий включения: поступление в ортопедическое отделение для проведения операции первичного тотального ЭКС. Критерии исключения: патология системы гемостаза, почечная, печеночная недостаточность, онкологические заболевания, антикоагулянтная или антиагрегантная терапия перед операцией. Получено одобрение локального этического комитета, а также информированное согласие всех обследованных.

С целью профилактики тромбозомболических осложнений все включенные в исследование пациенты принимали дабигатрана этексилат по стандартной схеме: первый прием 110 мг через 5 ч после операции, затем 1 раз в день 220 мг в течение 14 сут.

Всем пациентам до операции и через 2 нед после хирургического вмешательства проводилось ультразвуковое исследование вен нижних конечностей с целью выявления ТГВ. Наличие признаков геморрагических осложнений контролировалось в течение всего периода пребывания пациентов в стационаре.

Сбор крови пациентов выполняли за 1—2 сут до операции и на фоне профилактики дабигатраном в 1, 3, 7, 14-е сутки после ЭКС. Образцы венозной крови забирали утром натощак в специализированную пробирку с 3,2% (0,109 М) раствором цитрата натрия в соотношении 1:9 с забираемой кровью и доставляли в лабораторию в течение 10—20 мин после венопункции.

Бедную тромбоцитами плазму получали при центрифугировании крови со скоростью 3000 об/мин (1200 г) в течение 15 мин на лабораторной центрифуге Sorwell («Thermo Electron LED GmbH», Германия). Рутинные клоттинговые исследования проводили непосредственно после получения бедной тромбоцитами плазмы. Для исследования молекулярных маркеров гемостаза, определяемых с использованием иммуноферментного анализа (ИФА), образцы плазмы замораживали и хранили при -20°C не более 1 мес.

Активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое время (ПТВ) и тромбиновое время (ТВ) определяли соответственно реактивами АРТТ-SP (liquid), PT-Fibrinogen HS PLUS, Thrombin Time (HemosIL, «Instrumentation Laboratory», США) на коагулометре ACL-200 («Instrumentation Laboratory», США). В качестве стандартной плазмы при определении ПТВ использовали Calibration plasma (HemosIL, «Instrumentation Laboratory», США), в качестве контроля — Normal Control и Low Abnormal Control (HemosIL, «Instrumentation Laboratory», США). Концентрацию ФГ определяли на коагулометре СА-50 («Sysmex», Япония) по Клаусу в модификации без разведения образца, использовали реактив Multifibren U («Siemens», Германия). Калибровку выполняли с помощью Fibrinogen Calibrators («Siemens», Германия) с диапазоном концентраций от 0,6 до 9,0 г/л.

Уровни ФПА определяли методом ИФА с наборами Imuclone FPA ELISA («American Diagnostic Inc.», США). Для калибровки использовали стандартную коммерческую плазму (разведения 1:1, 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64). Д-Д определяли методом ИФА с реактивами Technozym D-dimer ELISA («Technoclon», Австрия). Калибровочную кривую строили с использованием 5 стандартных растворов с концентрациями от 0 до 1500 нг/мл. Контроль осуществлялся на низком и высоком уровнях. Для ИФА использовали микропланшетный инкубатор/шейкер Stat Fax 2200, микропланшетный вошер Stat Fax 2600, фотометр Stat Fax 2100 («Awareness Technology

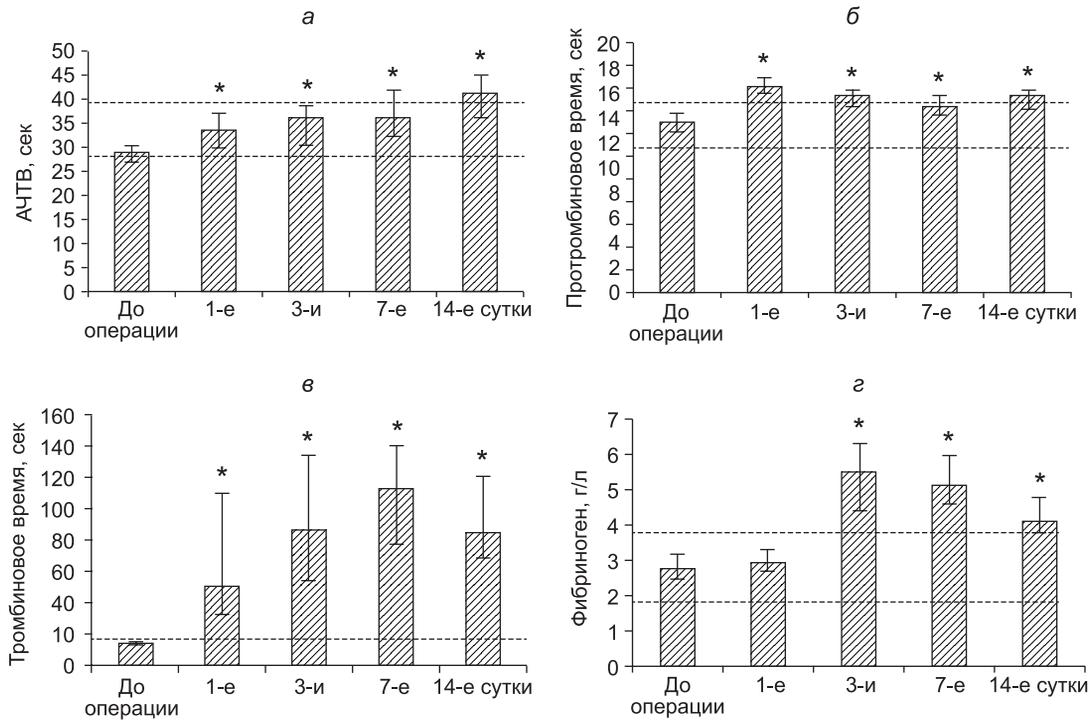


Рис. 1. Коагуляционные показатели до и после эндопротезирования коленного сустава на фоне антитромботической профилактики прямым ингибитором тромбина дабигатраном: АЧТВ (а), ПТВ (б), ТВ (в), концентрация ФГ (г).

Здесь и на рис. 2: * — различия с исходным уровнем имеют статистическую значимость ($p < 0,05$); пунктирными линиями обозначены границы референсной нормы.

Inc.), США). Уровень растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) оценивали с помощью фенантролинового теста («Технология-Стандарт», Россия).

Статистический анализ проводили в рамках правил ва-

риационной статистики. При сравнении послеоперационных показателей с исходными значениями использовали критерий Вилкоксона. Для оценки связи между показателями применялся корреляционный анализ с вычислением коэффициента

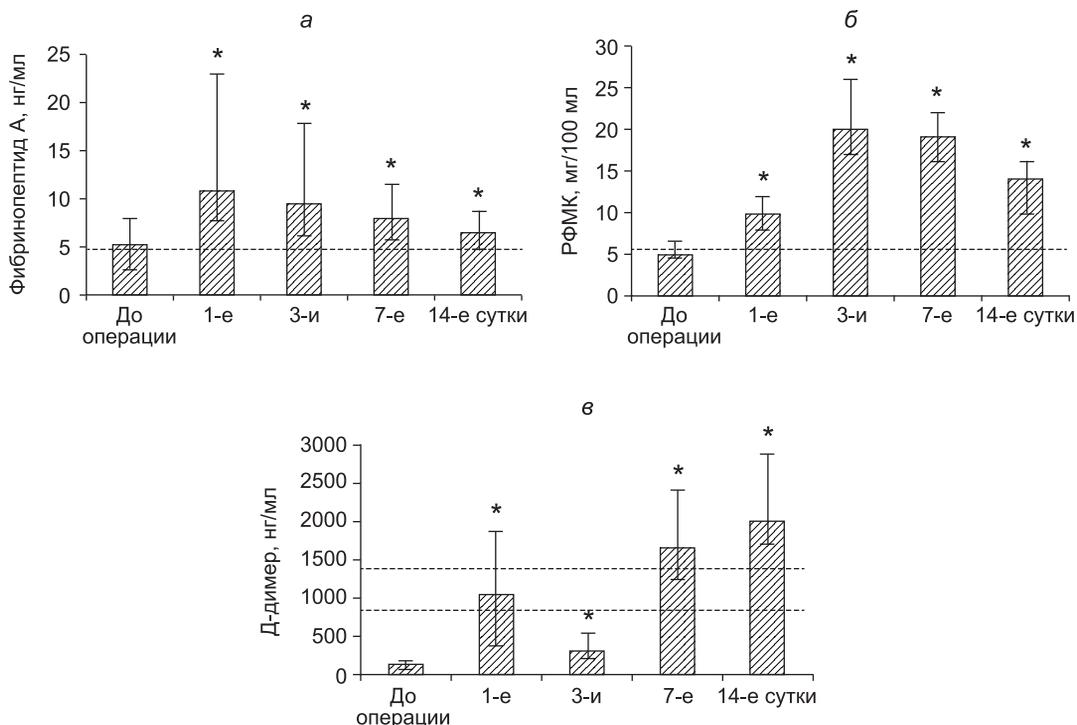


Рис. 2. Маркеры фибринообразования до и после эндопротезирования коленного сустава на фоне антитромботической профилактики прямым ингибитором тромбина дабигатраном: ФПА (а), РФМК (б), Д-димер (в).

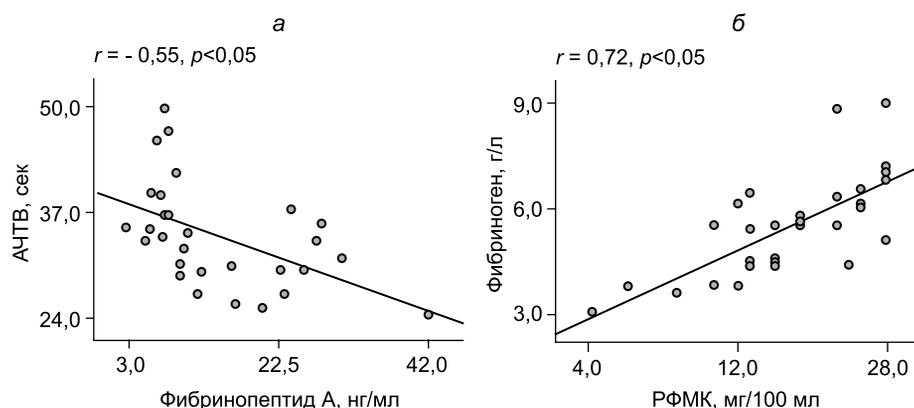


Рис. 3. Корреляция между показателями АЧТВ и ФПА в 1-е сутки после операции (а); между ФГ и РФМК в 3-и сутки после операции (б); r — коэффициент корреляции Спирмена.

корреляции Спирмена. Расчеты производили в программе Statistica version 6.0.

Результаты. До операции у всех обследованных пациентов значения рутинных коагуляционных тестов были в пределах референсной нормы. Спустя сутки после ЭКС наблюдалось значительное удлинение АЧТВ, ПТВ, ТВ, которое сохранялось до конца периода наблюдения (рис. 1, а–в). Наибольшие изменения показало ТВ, наименьшие — ПТВ.

Концентрация ФГ после операции существенно нарастала, достигала максимума к 3-м суткам и оставалась на повышенном уровне не менее 14 сут (рис. 1, з).

Концентрация ФПА в дооперационных пробах 19 (63,3%) пациентов, включенных в исследование, имела значения, превышающие референсную норму. Эти результаты согласуются с опубликованными ранее данными, которые показывают, что у пациентов, имеющих тяжелую патологию крупных суставов и нуждающихся в операции эндопротезирования, наблюдались значительные гиперкоагуляционные изменения в крови [16, 17]. Хирургическое вмешательство индуцировало значительное нарастание формирования ФПА, максимум которого приходился на ранний послеоперационный период (рис. 2, а). Спустя 2 нед после ЭКС концентрация ФПА возвращалась к исходному уровню, оставаясь тем не менее значительно выше референсной нормы

Послеоперационное повышение РФМК достигало максимума к 3-м суткам, тенденция к нормализации появлялась с 7-х суток, однако до конца периода наблюдения данный показатель был выше исходного уровня и референсной нормы (рис. 2, б).

Динамика концентрации Д-Д в послеоперационном периоде имела несколько фаз: значительное повышение в 1-е сутки, существенный сдвиг к нормализации к 3-м суткам, повторное повышение к 7-м суткам с сохранением высокого уровня не менее 2 нед после ЭКС (рис. 2, в).

Анализ связей между рутинными клоттинговыми тестами и маркерами фибринообразования показал значительную отрицательную корреляцию ФПА с АЧТВ в 1-е сутки после операции, $r = -0,55, p < 0,05$ (рис. 3, а). С 3-х суток связь между данными показателями слабеет, $r = 0,34, p = 0,07$. Связь между ФПА и показателями ПТВ, ТВ и ФГ не выявлено.

Для РФМК значимой корреляции с АЧТВ, ПТВ, ТВ не обнаружено, однако выявлена сильная связь между РФМК и ФГ: на 3-и сутки $r = 0,72, p < 0,05$ (рис. 3, б); на 7-е сутки $r = 0,80, p < 0,05$; на 14-е сутки $r = 0,69, p < 0,05$.

Корреляция между концентрацией Д-Д и рутинными клоттинговыми тестами не обнаружено. Отсутствовали также существенные связи между ФПА, РФМК и Д-Д как до операции, ни после ЭКС.

Перед хирургическим вмешательством ни у одного из пациентов, включенных в исследование, не было выявлено тромбоза вен нижних конечностей. В послеоперационном периоде ТГВ развился у 2 (6,7%) больных. Признаков геморрагических осложнений не было выявлено ни у одного из обследованных лиц.

Обсуждение. Эндопротезирование крупных суставов сопряжено со значительной травматизацией костной, мышечной ткани, сосудов [18]. Экспозиция тканевого фактора поврежденными клетками эндотелия инициирует тромбообразование, активированные тромбоциты обеспечивают поверхность для усиления коагуляционного процесса, что приводит к массивной продукции тромбина и фибрина [19]. Высокая интенсивность коагуляции сопровождается активным потреблением факторов свертывания, вызывая существенное падение их уровня. Снижению компонентов системы гемостаза способствует также периоперационная дилуция инфузионными растворами. Исследование, проведенное N. Rosencher и соавт. [20], показало, что через 3 ч после ЭКС концентрация факторов II, V, VII, X падает на 30%, это приводит к удлинению тестов АЧТВ и ПТВ, которые возвращаются к норме между 1-ми и 3-ми сутками. В нашем исследовании также отмечено значительное удлинение рутинных клоттинговых показателей, но возвращения к исходному уровню не происходило, что связано с модулирующим действием дабигатрана.

Прямой ингибитор тромбина оказывает влияние на все лабораторные тесты, которые зависят от активности фактора Па (тромбина), включая ПТВ, АЧТВ, ТВ [10, 12]. В нашем исследовании ПТВ имело наименьшую чувствительность к ингибитору, ТВ было наиболее чувствительным к наличию препарата в плазме крови, но оба теста не имели связи с активностью образования фибрина. Ранее было показано, что АЧТВ зависит от концентрации дабигатрана в крови [21]. С этими данными согласуется обнаруженное нами наличие корреляционной связи между АЧТВ и ФПА на фоне действия препарата. Однако связь с активностью фибринообразования имела место только в раннем послеоперационном периоде, поэтому результаты нашего исследования подтверждают положение о том, что рутинные коагуляционные тесты не позволяют адекватно оценить эффект антикоагулянтного действия дабигатрана.

Крупная ортопедическая операция индуцирует коагуляционный процесс высокой интенсивности, при этом тромбин обнаруживается в циркуляции интраоперационно, а увеличение плазменного уровня маркеров фибринообразования наблюдается уже в ранней послеоперационной стадии [22]. В представленной работе спустя сутки после ЭКС наблюдалось значительное

повышение активности свертывания, о чем свидетельствовало двукратное увеличение концентрации маркера формирования фибрина — ФПА. Нормализация коагуляции после операций ЭКС, по данным разных авторов, может восстанавливаться в различные сроки: Y. López и соавт. [23] наблюдали повышенный уровень маркеров активации свертывания в течение недели после операции, A. Bunesco и соавт. [24] показали, что тромбинемия сохраняется до 10 сут после операции эндопротезирования. В нашей работе концентрация ФПА к 14-м послеоперационным суткам существенно не отличалась от исходного уровня, однако нужно учитывать, что пациенты, включенные в исследование, имели исходную гиперкоагуляцию. Таким образом, активность фибринообразования в конце периода исследования оставалась повышенной, что свидетельствует о длительном сохранении тромбинемии после ЭКС.

Наше исследование показало, что концентрации всех изучаемых маркеров фибринообразования резко повышаются при эндопротезировании. Однако если концентрация ФПА постепенно возвращается к исходному уровню, концентрация Д-димера вновь существенно увеличивается к 7-м суткам. В отличие от ФПА, образующегося в начальной стадии формирования фибрина и являющегося специфическим маркером фибринообразования [15], Д-димер — продукт плазминовой деградации нерастворимого фибрина, поэтому его уровень отражает активность не только формирования, но и лизиса фибрина. Повторное усиление литической активности обусловлено необходимостью освобождения от выполнившего свою функцию фибринового сгустка в процессе репарации поврежденной стенки сосуда.

Данные, полученные ранее с использованием высокоспецифичных иммуноферментных методов, показали, что концентрация фибрин-мономерных комплексов и растворимого фибрина быстро повышается при эндопротезировании, а затем постепенно возвращается к исходному уровню [25]. В нашем исследовании изменение параметров ортофантролинового теста имело максимум, совпадающий с максимумом острофазной гиперфибриногенемии. Корреляционный анализ обнаружил сильную связь между РФМК и ФГ с 3-х послеоперационных суток, однако связи с ФПА, специфичным маркером фибринообразования, выявлено не было. Очевидно, на фоне послеоперационной гиперфибриногенемии тест РФМК имеет сильную зависимость от уровня субстрата фибринообразования.

Послеоперационная воспалительная реакция индуцирует опосредованное цитокинами усиление продукции гепатоцитами ФГ как одного из острофазных белков [26]. Воспаление сопровождается также повышением прокоагулянтной активности эндотелия и стимулирует образование тромбина во всем внутрисосудистом пространстве [27]. Мы наблюдали сохранение гиперфибриногенемии и повышенного уровня фибринообразования спустя 2 нед после ЭКС, что может свидетельствовать о длительном взаимодействии между процессами коагуляции и воспаления после крупной ортопедической операции.

В нашем исследовании на фоне приема стандартной дозы дабигатрана этексилата после ЭКС не выявлено признаков повышенной кровопотери, однако у двух пациентов был обнаружен ТГВ. Новые оральные антикоагулянты, в число которых входит дабигатран, рекомендуется применять в фиксированной дозе без лабораторного мониторинга [7]. Теоретически при этом должен достигаться оптимальный баланс между антитромботической эффективностью и риском кровотечения. В то же время исследования показывают большую межиндивидуальную вариабельность концентрации дабигатрана в крови, что может приводить к избыточности либо недостаточности антикоагулянтного эффекта [21]. Мы обнаружили, что концентрация маркера фибринообразования (ФПА) сильно варьирует у пациентов, перенесших ЭКС. Это может свидетельствовать о значительных различиях в уровне

ингибирования тромбина при использовании фиксированной дозы антикоагулянта.

Заключение. На фоне действия прямого ингибитора тромбина дабигатрана рутинные клоттинговые тесты не позволяют провести адекватную оценку коагуляционной активности после крупной ортопедической операции.

Д-Д и РФМК не имеют связи со специфическим маркером фибринообразования ФПА и не могут адекватно отражать изменения коагуляции у пациентов, перенесших ЭКС, что объясняется зависимостью Д-Д от фибринолиза, а РФМК — от уровня острофазной гиперфибриногенемии.

Формирование ФПА, т. е. активность коагуляционного процесса, повышено у значительного числа лиц спустя 2 недели после ЭКС, что свидетельствует об обоснованности пролонгированной антитромботической профилактики.

Прием дабигатрана этексилата в фиксированной дозе не исключает развития ТГВ после крупной ортопедической операции, что подтверждает точку зрения относительно полезности индивидуализации антитромботической профилактики при использовании новых оральных антикоагулянтов.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ортопедического отделения № 1 (зав. К.И. Пиастопуло) и отделения анестезиологии и реанимации (зав. Т.А. Жирова) ГБУЗ СО «ЦСВМП «УИТО им. В.Д. Чаклина».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование было поддержано научной программой РФ №215063040014

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1—12, 15, 19—27 см. REFERENCES)

13. Добровольский А.Б., Титаева Е.В. Образование тромбина и его функции в системе гемостаза. *Атеротромбоз*. 2013; (1): 66—72.
14. Кузник Б.И. *Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии*. Чита: Экспресс-издательство; 2010.
16. Бернакевич А.И., Васильев С.А., Еськин Н.А. Состояние системы гемостаза у пациентов, подвергающихся эндопротезированию тазобедренного сустава. *Вестник травматологии и ортопедии имени Н.Н. Приорова*. 2009; (1): 37—42.
17. Антропова И.П., Юшков Б.Г. Изучение активности коагуляционного, фибринолитического и антикоагулянтного звеньев плазменного гемостаза у пациентов с дегенеративно-дистрофическими заболеваниями крупных суставов. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2012; 153(4): 495—8.
18. Баешко А.А., Крючок А.Г., Юшкевич В.А., Корсак С.И. Послеоперационная тромбоземболия лёгочной артерии. *Хирургия*. 2000; (2): 45—9.

REFERENCES

1. Guyatt G.H., Eikelboom J.W., Gould M.K., Garcia D.A., Crowther M., Murad M.H. et al. *Approach to outcome measurement in the prevention of thrombosis in surgical and medical patients: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis*, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012; 141(2 Suppl.): e185S—94S.
2. Lowe G.D. Prediction of postoperative deep-vein thrombosis. *Thromb. Haemost.* 1997; 78(1): 47—52.
3. Cohen A.T. Applying risk assessment models in orthopaedic surgery: effective risk stratification. *Blood Coagul. Fibrinolysis*. 1990; 10(Suppl. 2): 63—70.
4. Zaw H.M., Osborne I.C., Pettit P.N., Cohen A.T. Risk factors for venous thromboembolism in orthopedic surgery. *Isr. Med. Assoc. J.* 2002; 4(11): 1040—2.
5. Nicolaidis A.N., Fareed J., Kakkar A.K., Breddin H.K., Goldhaber S.Z., Hull R. et al. Prevention and treatment of venous thromboembolism. International Consensus Statement (guidelines according to scientific evidence). *Int. Angiol.* 2006; 25(2): 101—61.
6. Geerts W.H., Bergqvist D., Pineo G.F., Heit J.A., Samama C.M., Lassen M.R. et al. Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest*. 2008; (6 Suppl.): 381S—453S.

7. Stangier J. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate. *Clin. Pharmacokinet.* 2008; 47(5): 285—95.
8. Huel N.H., Nar H., Priepke H., Ries U., Stassen J.M., Wiene W. Structure-based design of novel potent nonpeptide thrombin inhibitors. *J. Med. Chem.* 2002; 45(9): 1757—66.
9. Lassen M.R. Recent developments in the use of oral anticoagulants. *Expert Opin. Pharmacother.* 2009; 10(11): 1769—81.
10. Freyburger G., Macouillard G., Labrousse S., Sztrik F. Coagulation parameters in patients receiving dabigatran etexilate or rivaroxaban: two observational studies in patients undergoing total hip or total knee replacement. *Thromb. Res.* 2011; 127(5): 457—65.
11. Lindahl T.L., Baghaei F., Blixter I.F., Gustafsson K.M., Stigendal L., Sten-Linder M. et al. Effects of the oral, direct thrombin inhibitor dabigatran on five common coagulation assays. *Thromb. Haemost.* 2011; 105(2): 371—8.
12. Falavero E.J., Lippi G. The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing. *Biochem. Med. (Zagreb).* 2012; 22(3): 329—41.
13. Dobrovolskiy A.B., Titaeva E.V. *Thrombin formation and function in haemostasis. Aterotromboz.* 2013; (1): 66—72. (in Russian)
14. Kuznik B.I. Cellular and Molecular Mechanisms for Regulation of the Hemostatic System in Health and Disease [Kletochnye i molekulyarnye mekhanizmy regulyatsii sistemy gemostaza v norme i patologii]. Chita: Express-izdatel'stvo; 2010. (in Russian)
15. Amiral J., Walenga J.M., Fareed J. Development and performance characteristics of a competitive enzyme immunoassay for fibrinopeptide A. *Semin. Thromb. Hemost.* 1984; 10(4): 228—42.
16. Bernakevich A.I., Vasil'ev S.A., Es'kin N.A. Hemostatic system in patients undergoing total hip arthroplasty. *Vestnik travmatologii i ortopedii imeni N.N. Priorova.* 2009; (1): 37—42. (in Russian)
17. Antropova I.P., Yushkov B.G. Activities of clotting, fibrinolytic, and anticoagulant components of plasma hemostasis in patients with degenerative diseases of large joints. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny.* 2012; 153(4): 495—8. (in Russian)
18. Baeshko A.A., Kryuchok A.G., Yushkevich V.A., Korsak S.I. Post-operative pulmonary embolism. *Khirurgiya.* 2000; (2): 45—9. (in Russian)
19. Perka C. Preoperative versus postoperative initiation of thromboprophylaxis following major orthopedic surgery: safety and efficacy of postoperative administration supported by recent trials of new oral anticoagulants. *Thromb. J.* 2011; 9: 17.
20. Rosencher N., Vassilief N., Guignon V., Toulon P., Conseiller C. Comparison of effects of Elohes and albumin on hemostasis in orthopedic surgery. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* 1992; 11(5): 526—30.
21. Samama M.M., Guinet C., Le Flem L., Ninin E., Debue J.M. Measurement of dabigatran and rivaroxaban in primary prevention of venous thromboembolism in 106 patients, who have undergone major orthopedic surgery: an observational study. *J. Thromb. Thrombolysis.* 2013; 35(2): 140—6.
22. Brueckner S., Reinke U., Roth-Isigkeit A., Eleftheriadis S., Schmucker P., Siemens H.J. Comparison of general and spinal anesthesia and their influence on hemostatic markers in patients undergoing total hip arthroplasty. *J. Clin. Anesth.* 2003; 15(6): 433—40.
23. López Y., Paloma M.J., Rifón J., Cuesta B., Páramo J.A. Measurement of prethrombotic markers in the assessment of acquired hypercoagulable states. *Thromb. Res.* 1999; 93(2): 71—8.
24. Bunescu A., Widman J., Lenkei R., Menyes P., Levin K., Egberg N. Increases in circulating levels of monocyte-platelet and neutrophil-platelet complexes following hip arthroplasty. *Clin. Sci. (Lond).* 2002; 102(3): 279—86.
25. Misaki T., Kitajima I., Kabata T., Tani M., Kabata C., Tsubokawa T. et al. Changes of the soluble fibrin monomer complex level during the perioperative period of hip replacement surgery. *J. Orthop. Sci.* 2008; 13(5): 419—24.
26. Heinrich C., Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340(6): 448—54.
27. Mann K.G. *Thrombin formation.* *Chest.* 2003; 124 (3Suppl.): 4S—10S.

Поступила 20.06.16
Принята к печати 01.07.16

ИММУНОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2016

УДК 616.078.33-074:543.544

Смирнова Д.Н., Крупина К.А., Богачева Н.В., Дармов И.В.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОМПОНЕНТОВ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ИХ РАЗРАБОТКИ

ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет», 610000, Киров, Российская Федерация

В статье обобщены данные научных исследований, посвященных поиску оптимальных условий разработки высокоспецифичных и высокочувствительных иммунохроматографических тест-систем, предназначенных для выявления возбудителей инфекционных заболеваний. Проведен анализ выбора оптимального размера наночастиц коллоидного золота и концентрации антител для получения конъюгата. Представлены варианты наиболее часто используемых комбинаций буферных растворов, применяемых для разработки и анализа иммунохроматографических тест-систем. Выявлены предпочтения в области характеристик мембран, используемых в составе мультимембранного композита иммунохроматографических тест-систем.

Ключевые слова: иммунохроматографическая тест-система; наночастицы коллоидного золота; моноклональные антитела; конъюгат; буферные растворы; мультимембранный композит.

Для цитирования: Смирнова Д.Н., Крупина К.А., Богачева Н.В., Дармов И.В. Сравнительная оценка компонентов иммунохроматографических тест-систем, используемых для их разработки. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2017; 62 (1):30-34

DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-1-30-34>