

# Сравнительный анализ чувствительности АПТВ/АЧТВ-реагентов к дефициту факторов свертывания VIII и IX, а также эффектам волчаночного антикоагулянта

**А.П. Момот**<sup>1,2</sup>, д.м.н., проф., рук. филиала

**И.А. Тараненко**<sup>1,2</sup>, к.м.н., м.н.с. филиала

**Е.В. Григорьева**<sup>1</sup>, к.м.н., м.н.с. филиала

**А.Н. Мамаев**<sup>1,2</sup>, д.м.н., с.н.с. филиала

<sup>1</sup> Алтайский филиал ФГБУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, г. Барнаул

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Барнаул

*Проведена сравнительная оценка возможностей АПТВ-реагентов различного производства при использовании полуавтоматического коагулометра. Изучена чувствительность этих реагентов к дефициту факторов свертывания VIII и IX, а также к эффектам волчаночного антикоагулянта в коммерческих контрольных плазмах, аттестованных по данным параметрам.*

**Ключевые слова:** система гемостаза, активированное парциальное (частичное) тромбoplastинное время, факторы VIII и IX свертывания крови, волчаночный антикоагулянт.

Comparative capability assessment of APTT-reagents of different production was performed using semi-automatic coagulometer. Sensitivity of these reagents to coagulation factors VIII and IX deficiency was studied as well as to lupus anticoagulant effects in commercial control plasma certificated for these parameters.

Keywords: hemostatic system, activated partial thromboplastin time, coagulation factors VIII and IX, lupus anticoagulant.

Исследования системы гемостаза обычно призваны обеспечивать качественную диагностику нарушений гемокоагуляции и эффективный контроль за гемостатической или антитромботической профилактикой и терапией. Немаловажная роль в этом принадлежит так называемым скрининговым тестам коагулограммы, в число которых входит определение протромбинового времени свертывания (протромбиновый тест), активированного парциального (частичного) тромбoplastинного времени (АПТВ или АЧТВ), тромбинового времени и концентрации фибриногена [1, 2]. В отличие от протромбинового теста, второй отмеченный выше метод – АПТВ не проходил процедуру стандартизации [3]. Вероятно, именно с этим связаны значительные расхождения результатов при исследовании данного показателя в разных лабораториях. Известно, что на его результаты влияет состав активаторов контактной фазы (каолин, эллаговая кислота, диоксид кремния) и фосфолипидов, поверхность которых важна для целого ряда гемостатических реакций [4]. Сфера применения АПТВ включает в себя оценку гиперкоагуляционного сдвига, а также гипокоагуляции, обусловленной рядом внутренних и внешних причин. Последние могут быть представлены дефицитом факторов VIII, IX, XI, XII, кининогена и прекалликреина и, в меньшей степени, факторов V, X, протромбина и фибриногена. В связи с этим АПТВ является «золотым стандартом» при лабораторной диагностике и мониторинге гемофилии, обусловленной глубоким дефицитом факторов VIII или IX. Другая воз-

можная причина удлинения времени в данном тесте – присутствие в плазме крови волчаночного антикоагулянта (ВА), являющего собой спектр поликлональных антител к фосфолипидам, протромбину и ряду белков клеточной стенки (аннексину V и  $\beta$ 2-гликопротеину I). Помимо диагностики нарушений коагуляционного гемостаза АПТВ используется для контроля за гепаринотерапией. Отметим, что ранее нами приводился анализ чувствительности АПТВ-реагентов различного происхождения к низким и высоким концентрациям гепарина в плазме крови [5]. В настоящей же работе проведен сравнительный анализ доступных для отечественных клиничко-диагностических лабораторий АПТВ-реагентов по их чувствительности к дефициту факторов свертывания VIII и IX, а также к эффектам волчаночного антикоагулянта, что поможет сориентироваться в их свойствах и предназначении.

## Материалы и методы

В ходе сравнительного анализа использовались коммерческие образцы плазмы производства фирмы «Siemens», аттестованные по уровням факторов VIII и IX (*Plasma Control N, Coagulation Factor VIII и IX Deficient Plasma*) и на наличие волчаночного антикоагулянта (ВА+ плазма из набора реагентов «Экспресс-Люпус тест» фирмы «Технология-Стандарт», Россия). Анализировались результаты, полученные при применении следующих диагностикумов: «АПТВ-Эл-тест» (жидкий

и лиофилизированный с фосфолипидами животного происхождения, содержащий соли эллаговой кислоты), «АПТВ-Эл-тест» (жидкий с растительными фосфолипидами и солями эллаговой кислоты), «АПТВ-тест» (каолин-кефалиновый реагент), «АПТВ ВА+» и «АПТВ ВА-» из набора реагентов «Экспресс-Люпус-тест» – все производства фирмы «Технология-Стандарт», Россия); «АЧТВ-тест» (фирма «Ренам», Россия); «Actin», «Actin FS», «Actin FSL» и «Pathromtin» – фирма «Siemens»; «РТта» и «РТТ» – фирмы «Roche», а также «ES», «APPT-Si L-Minus» и «APPT-Si L-Plus» (фирма «Helena»). Измерения проводились на полуавтоматическом коагулометре «Start-4» фирмы «Roche Diagnostics», предусматривающем механический принцип регистрации результатов.

При оценке чувствительности АПТВ-реагентов к дефициту факторов VIII и IX, а также к эффектам ВА, учитывалось отношение (*Ratio*), рассчитанное при делении времени свертывания по АПТВ (в сек) исследуемого образца плазмы к аналогичному показателю, полученному в контрольной нормальной плазме (*Plasma Control N*).

### Результаты

Первоначально был проведен анализ контрольной нормальной плазмы, активность искомых факторов в которой составляла 98% (для фактора VIII) и 102% (для фактора IX). Полученные результаты АПТВ зависели от используемых тест-систем и находились в диапазоне от 24,5 до 37,4 сек, в среднем ( $X \pm m$ ) 30,7 $\pm$ 0,7 сек, что соответствовало графику, представленному в ранее опубликованной нами статье [5].

Далее была изучена способность различных диагностикумов к определению низкой активности факторов свертывания крови (менее 1%). Установлено, что показатель *Ratio*, определенный при анализе плазмы, дефицитной по фактору VIII, варьировал от 2,04 до 4,66, т.е. отличался в случае использования различных АПТВ-реагентов более, чем в два раза (таблица 1).

Наибольшей чувствительностью в этом случае (по растяжке времени свертывания) обладали тест-системы «АПТВ-Эл-тест» и «Pathromtin», содержащие соевые фосфолипиды, а также «Actin», включающий в себя фосфолипиды из мозга кролика. Самое низкое отношение – 2,04 – зарегистрировано при использовании «АПТВ ВА-» из набора «Экспресс-Люпус-тест», что вполне объяснимо, поскольку данный состав специально предназначен для выявления ВА и не должен активно отзываться на умеренный дефицит факторов свертывания крови [6].

Несколько отличные от представленных выше данных были получены при анализе чувствительности АПТВ-реагентов к низкому содержанию фактора IX (таблица 2). Можно видеть, что *Ratio* в разных случаях варьировало от 3,60 до 1,87, а в число высокочувствительных реагентов вошли «Actin», «Actin FSL» и «АПТВ-Эл-тест», последний – в виде раствора. Максимально низкая чувствительность в этих исследованиях была свойственна, как и в случае дефицита фактора VIII, реагенту «АПТВ ВА-», входящему в состав набора «Экспресс-Люпус-тест», по описанной выше причине.

**Таблица 1. Реакция АПТВ-реагентов на глубокий дефицит фактора VIII**

АПТВ-реагент	Ratio
«АПТВ-Эл-тест» – жидкий, с растительными фосфолипидами	4,66
«Actin»	4,09
«Pathromtin»	3,93
«АЧТВ-тест»	3,90
«Actin FSL»	3,60
«APPT-Si L-Minus»	3,60
«РТта»	3,28
«Actin FS»	3,05
«APPT-Si L-Plus»	3,05
«ES»	3,03
«РТТ»	2,96
«АПТВ-Эл-тест» – жидкий, с фосфолипидами животного происхождения	2,47
«АПТВ ВА+» из набора реагентов «Экспресс-Люпус-тест»	2,47
«АПТВ-тест»	2,32
«АПТВ-Эл-тест» – лиофилизированный, с фосфолипидами животного происхождения	2,30
«АПТВ ВА-» из набора реагентов «Экспресс-Люпус-тест»	2,04

**Таблица 2. Реакция АПТВ-реагентов на глубокий дефицит фактора IX**

АПТВ-реагент	Ratio
«Actin»	3,60
«Actin FSL»	2,95
«АПТВ-Эл-тест» - жидкий, с растительными фосфолипидами	2,90
«Actin FS»	2,89
«АЧТВ-тест»	2,80
«APPT-Si L-Minus»	2,79
«РТта»	2,66
«Pathromtin»	2,63
«APPT-Si L-Plus»	2,55
«РТТ»	2,48
«АПТВ-Эл-тест» - жидкий, с фосфолипидами животного происхождения	2,40
«ES»	2,35
«АПТВ ВА+» из набора реагентов «Экспресс-Люпус-тест»	2,34
«АПТВ-Эл-тест» - лиофилизированный, с фосфолипидами животного происхождения	2,25
«АПТВ-тест»	2,21
«АПТВ ВА-» из набора реагентов «Экспресс-Люпус-тест»	1,87

Следующим этапом исследования стала оценка чувствительности рассматриваемых АПТВ-реагентов к присутствию ВА в плазме крови. Полученные при

**Таблица 3. Результаты АПТВ при исследовании плазмы, аттестованной на наличие волчаночного антикоагулянта**

АПТВ-реагент	Результаты	
	сек	Ratio
«АПТВ ВА+» из набора реагентов «Экспресс-люпус тест»	72,9	2,68
«APPT-Si L-Plus»	85,7	2,39
«АПТВ-Эл-тест» – жидкий, с растительными фосфолипидами	67,5	1,80
«РТТа»	63,8	1,79
«АПТВ-Эл-тест» – жидкий, с фосфолипидами животного происхождения	45,1	1,76
«Actin»	48,5	1,75
«ES»	56,9	1,74
«Actin FSL»	48,8	1,64
«АПТВ-Эл-тест» – лиофилизированный, с фосфолипидами животного происхождения	41,9	1,62
«АЧТВ-тест»	47,7	1,52
«АПТВ-тест»	44,8	1,45
«Actin FS»	38,6	1,35
«Pathromtin»	42,5	1,29
«АПТВ ВА-» из набора реагентов «Экспресс-Люпус тест»	35,1	1,28
«APPT-Si L-Minus»	38,7	1,25
«РТТ»	38,0	1,22

этом данные оказались крайне разнородными – см. таблицу 3.

Наибольшую чувствительность к эффектам ВА показал реагент «АПТВ ВА+» из набора «Экспресс-Люпус-тест». Удлинение времени в этом тесте с его помощью было кратно 2,68 (в сравнении с контрольной нормальной плазмой и плазмой крови, аттестованной по наличию ВА). Следующими в этом «ранге» оказались «APPT-Si L-Plus» и тест-система «АПТВ-Эл-тест» с растительными фосфолипидами. Интересно, но ожидаемо оказалось то, что малочувствительные по определению фирм-производителей реагент «АПТВ ВА-» из набора «Экспресс-люпус тест», «APPT-Si L-Minus», а также «РТТ» в гораздо меньшей степени реагировали на присутствие ВА.

## Заключение

Как видно из проведенного исследования при использовании того или иного АПТВ-реагента удлинение времени свертывания в АПТВ/АЧТВ может значительно различаться. Это касается не только ситуаций, когда в плазме есть гепарин, но и в тех случаях, когда имеется дефицит факторов свертывания VIII и IX или в присутствии волчаночного антикоагулянта.

Представленные данные могут быть полезными для ориентирования специалистов клиничко-диагностических лабораторий в части выбора тех или иных АПТВ-реагентов для решения поставленных задач.

## Литература

1. Баркаган З.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 клиничко-лабораторной диагностики. СПб.: Форма-Т, 2006. - 208 с.
3. WHO Expert Committee on Biological Standardisation. 33rd Report Tech. Rep. Ser. 687. Geneva: WHO. - 1983. - P.81-105.
4. Practical hemostasis and thrombosis / ed. by N. Key, M. Makris, D. O'Shaughnessy, D. Lillicrap. Second edition. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, 2009. - 311 p.
5. Момот А.П., Золовкина А.Г., Григорьева Е.В., Тараненко И.А. Мониторирование гепаринотерапии в клиничко-практике. Поликлиника. Спецвыпуск «Лаборатория ЛПУ». - 2014. - № 4. - С. 61-64.
6. Баркаган З.С., Момот А.П., Сердюк Г.В., Цывкина Л.П. Разработка нового коагуляционного алгоритма диагностики антифосфолипидного синдрома. Клиничко-лабораторный консилиум. - 2007. - № 16 (май). - С. 62-63.