

УДК 616-085

POSSIBILITIES FOR RAPID MONITORING OF THE ANTITHROMBOTIC EFFECTIVENESS OF APIXABAN**Solovev M.,***Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center for High Medical Technologies - Central Military Clinical Hospital named after A.A. Vishnevsky Ministry of Defense of Russia, 143420, Moscow region, Krasnogorsk, Novy village, ter. 3 TsVKG named after. A.A. Vishnevskogo, 1***Gulyaev N.,***Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center for High Medical Technologies - Central Military Clinical Hospital named after A.A. Vishnevsky Ministry of Defense of Russia, 143420, Moscow region, Krasnogorsk, Novy village, ter. 3 TsVKG named after. A.A. Vishnevskogo, 1***Kotlovskaya L.,***Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center for High Medical Technologies - Central Military Clinical Hospital named after A.A. Vishnevsky Ministry of Defense of Russia, 143420, Moscow region, Krasnogorsk, Novy village, ter. 3 TsVKG named after. A.A. Vishnevskogo, 1***Udud V.***Federal State Budgetary Scientific Institution "Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences", Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine named after. E.D. Goldberg, 634028, Tomsk, Lenin Ave. 3.***ВОЗМОЖНОСТИ ОПЕРАТИВНОГО МОНИТОРИНГА ПРОТИВОТРОМБОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ АПИКСАБАНА****Соловьев М.А.***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, 634028, г. Томск, пр. Ленина 3.***Гуляев Н.И.***Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр высоких медицинских технологий – Центральный военный клинический госпиталь имени А.А. Вишневского Минобороны России, 143420, Московская область, г. Красногорск, п. Новый, тер. 3 ЦВКГ им. А.А. Вишневского, д. 1***Котловская Л.Ю.***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, 634028, г. Томск, пр. Ленина 3.***Удуд В.В.***Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, 634028, г. Томск, пр. Ленина 3.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.10246713>***Abstract**

Data are presented on the nuances of the relationship between the pharmacokinetics of Apixaban and its pharmacodynamics in healthy individuals, where, as a control for the anticoagulant effects of the drug, a global method was used - low-frequency piezothromboelastography (LFPTEG), and the pharmacokinetics were assessed by a validated HPLC-MS/MS technique. With a single use of Apixaban at a dose of 5 mg, its maximum concentration was determined at the 4th hour after administration (130 [117;144] ng/ml) with a rapid peak rise from zero to 97 [86;105] ng/ml in the first hour of observation. After reaching the maximum concentration of the drug, there is a fairly smooth decrease: from 120 [108;130] ng/ml on the 6th, to 97 [88;107] ng/ml on the 10th hour of observation, after 84 [75;93] ng/ml at the 12th hour and up to 19 [17;22] ng/ml at the 24th hour. Initially, all analyzed characteristics of LFPTEG were within the reference values. 2 hours after taking apixaban at its concentration within 110 [99;121] ng/ml, according to the results of LFPTEG, a tendency towards chronometric and structural hypocoagulation is formed. At the 3rd hour of observation, with an apixaban concentration within 123 [110;135] ng/ml, a hypocoagulation shift in the hemostatic potential was formed according to a statistically significant increase in the time to reach the "gelation" point and a decrease in the thrombin activity constant in relation to those assessed at baseline ($p \leq 0.05$). The maximum manifestations of hypocoagulation (statistically significant increase in the "gelation" time with a decrease in the maximum amplitude, thrombin activity constant and coagulation drive index $p \leq 0.05$) were detected at the 4th hour of monitoring, where the maximum concentration of the drug was determined. At the 6th hour, LFPTEG revealed moderate structural hypocoagulation, which by the 10th hour of

observation, based on the severity of the manifestations, was determined only as a trend. And at the 12th hour there is an increase in thrombin activity and a reduction in the “gelation” time in relation to the initial data. The results obtained allow us to conclude that it is possible to use LFPTEG technology to monitor the pharmacodynamics of Apixaban, which in healthy individuals is possible in the range of working plasma concentrations of the drug from ~110 ng/ml and above.

Аннотация

Представлены данные о нюансах связи фармакокинетики Аписабана с его фармакодинамикой у здоровых лиц, где, в качестве контроля за антикоагулянтными эффектами препарата, использовался глобальный метод – низкочастотная пьезотромбоэластография (НПТЭГ), а фармакокинетика оценивалась валидированной методикой ВЭЖХ-МС/МС. При однократном применении Аписабана в дозе 5 мг его максимальная концентрация определена на 4-м часу после приема (130 [117;144] нг/мл) с быстрым пиковым подъёмом от нуля до 97 [86;105] нг/мл на первом часу наблюдения. После достижения максимальной концентрации препарата имеет место достаточно плавное её снижение: от 120 [108;130] нг/мл на 6-м, до 97 [88;107] нг/мл на 10-м часу наблюдения, через 84 [75;93] нг/мл на 12-м и до 19 [17;22] нг/мл на 24-м часе. Исходно все анализируемые характеристики НПТЭГ находились в пределах референсных значений. Спустя 2 часа после приема аписабана при его концентрации в пределах 110 [99;121] нг/мл, по результатам НПТЭГ формируется тенденция к хронометрической и структурной гипокоагуляции. На 3-м часу наблюдения, при концентрации аписабана в пределах 123 [110;135] нг/мл, имело место формирование гипокоагуляционного сдвига гемостатического потенциала по данным статистически значимого прироста времени достижения точки «желирования» и снижения константы тромбиновой активности по отношению к таковым, оцененным исходно ($p \leq 0,05$). Максимальные проявления гипокоагуляции (статистически значимый прирост времени «желирования» при снижении максимальной амплитуды, константы тромбиновой активности и индекса коагуляционного драйва $p \leq 0,05$) выявлены на 4-й часе мониторинга, где определена и максимальная концентрация препарата. На 6-м часе по НПТЭГ выявлена умеренная структурная гипокоагуляция, которая к 10-му часу наблюдения, по выраженности проявлений, определяется лишь как тенденция. А на 12-м часу имеет место повышение тромбиновой активности и сокращение времени «желирования» по отношению к исходным данным. Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности использования технологии НПТЭГ для мониторинга фармакодинамики Аписабана, который у здоровых лиц возможен в диапазоне рабочих плазменных концентраций препарата от ~110 нг/мл и выше.

Keywords: low-frequency piezothromboelastography, hemostatic potential, antithrombotic therapy, personification, apixaban, NOAC.

Ключевые слова: низкочастотная пьезотромбоэластография, гемостатический потенциал, противотромботическая терапия, персонификация, аписабан, НОАК.

Введение.

На сегодняшний день клиницисты вооружены весомым набором противотромботических лекарственных средств, позволяющих прицельно корректировать нарушения гемостаза. При этом проблемой остается отсутствие инструментов оперативной диагностики этих нарушений и мониторинга эффективности лечения. [13; 14; 17]. В этом ключе особого внимания заслуживают прямые антикоагулянты с обозначенной в инструкции сомнительной позицией – «... не требующие контроля оценки эффективности». Тем не менее, есть указания на специфические, либо модифицированные лабораторные тесты оценки влияния этих лекарственных средств на гемостаз, где особняком стоит аписабан, определение эффективности которого возможно лишь хромогенным тестом с использованием Rotachrom Heparin, правда, на практике, имеющим значительную вариабельность [1; 2; 3; 4; 5; 7; 12; 15].

В поисках инструментов оперативной диагностики нарушений гемостаза и мониторинга эффективности их лечения следует обратиться к «глобальным» тестам интегративной оценки «поведения» плазменного и клеточного компонентов нативной крови, участвующих в реализации фибриногенеза [8; 9; 10; 16]. Для оценки фармакодина-

мики прямого антикоагулянта - Аписабана в работе был применен метод низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ), позволяющий в режиме реального времени предоставлять информацию об изменении вязкоупругих, напрямую зависящих от состоятельности фибриногенеза, свойств нативной крови в процессе её свертывания с перманентной оценкой гемостатического потенциала [6; 13; 16].

Целью исследования явилась оценка возможности мониторинга антикоагулянтной эффективности 5 мг Аписабана при однократном приеме здоровыми добровольцами и определения её сопряженности с плазменными концентрациями препарата.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 12 здоровых добровольцев, из них мужчины - 7, женщины - 5, возраст от 35 до 45 лет, после подписания информированного согласия на обследование. Исследование проведено в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации, дизайн исследования одобрен локальным этическим комитетом.

Перед началом исследования в вену предплечья на 24 часа устанавливался катетер для забора крови в вакутейнеры объемом 6 мл, содержащие К ЭДТА в качестве антикоагулянта для оценки плаз-

менной концентрации препарата. Забор крови проводили: исходно (за 10-15 минут до приема 5 мг Аликсабана «Bristol-Myers Squibb Company», США и через 1, 2, 3, 4, 6, 10, 12 и 24 часа после приема препарата). Плазму крови отделяли центрифугированием при 300 об/мин в течение 30 мин при охлаждении, после чего переносили в криопробирку (объем аналитической аликвоты составлял не менее 1,5 мл) и незамедлительно замораживали на сухом льду. Далее образцы отправлялись в лабораторию для анализа концентрации препарата. Определение концентраций Аликсабана в образцах проводили методом ВЭЖХ-МС/МС валидированным в соответствии с руководствами [11].

Состояние гемостаза оценивалось исходно, через 2, 4, 6 и 12 ч после приема препарата методом НПТЭГ на тромбоэластографе АРП-01М «Меднорд» (ООО «Меднорд-Техника», Россия). Исследовалось 0,45 мл нативной венозной крови, взятой из сосуда предплечья свободной руки без наложения жгута, интервал между взятием крови и помещением ее в кювету прибора не превышал 20 с. [16].

Анализировали: t_1 - период реакции (время в мин от начала исследования до достижения минимальной амплитуды НПТЭГ – A_1); t_3 - время свертывания крови (ВСК) – точка желирования (ТЖ) в мин; t_5 - время достижения максимальной амплитуды НПТЭГ (A_5), ИКК – Интенсивность контактной коагуляции, отражающий преимущественно суспензионную стабильность форменных элементов крови (ССК); ИКД - Интенсивность коагуляционного драйва, характеризующего преимущественно протеолитический этап III-ей фазы гемокоагуляции. КТА - Константа тромбиновой активности, как универсальный критерий оценки интенсивности протеолитического этапа фибринообразования; МА - Максимальная амплитуда, характеризующая максимальную плотность сгустка.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы IBM SPSS Statistics 22.0. Для проверки нулевой гипотезы сравнение исследуемых независимых групп проводилось с использованием критерия Манна-Уитни, различия считались статистически достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$. Количественные показатели представлены в виде $Me [LQ; Uq]$, где Me – медиана, $LQ (Q_{25})$ – нижний квартиль, $UQ (Q_{75})$ – верхний квартиль.

Результаты

На рисунке 1 приведены результаты 24-х часового мониторинга плазменной концентрации 5мг Аликсабана при его однократном приеме здоровыми добровольцами.

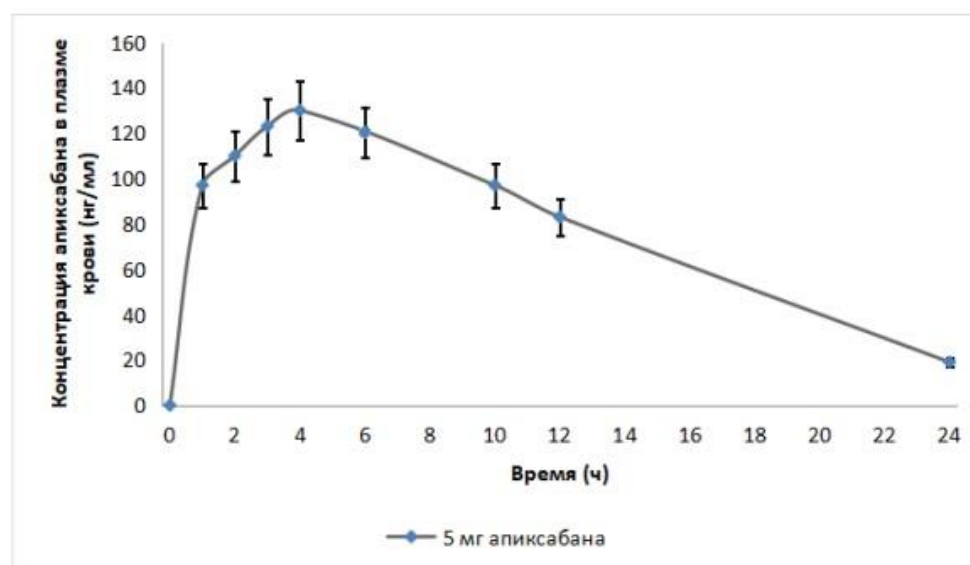


Рис. 1 Доверительные интервалы 24-х часового мониторинга концентрации Аликсабана в плазме крови здоровых лиц после однократного приема 5 мг препарата.

Как видно из полученных результатов, уже на 1-м часу наблюдения, благодаря высокой биодоступности и большой скорости всасывания, в плазме крови определяется концентрация препарата в пределах 97 [86;105] нг/мл. Ко 2-му часу наблюдения концентрация препарата возрастает до 110 [99;121] нг/мл, а на 3-м часе достигает 123 [110;135] нг/мл. Практически в соответствии со справочными данными, C_{max} определяется на 4-м часу после приема препарата, достигая ≈ 130 [117;144] нг/мл, при исходной «нагрузке» в 5 мг. К 6-му часу мониторинга плазменная концентрация препарата снижается до 120 [108;130] нг/мл, далее, на 10-м до 97 [88;107] нг/мл, а на 12-м до 84 [75;93]

нг/мл. Через 24 часа у здоровых добровольцев плазменная концентрация препарата сохраняется в пределах 19 [17;22] нг/мл.

Результаты НПТЭГ мониторинга состояния и поведения гемостатического потенциала в обозначенные точки исследования приведены в таблице 1. Как видно из приведенных данных исходно все анализируемые характеристики НПТЭГ находились в пределах референсных значений. Через 1 час после приема препарата его плазменных концентраций, определяемых в пределах ~ 97 [86;105] нг/мл, недостаточно для формирования статистически значимых изменений анализируемых характеристик

кривой НПТЭГ. Только на 2-м часу, при плазменных концентрациях апиксабана в пределах 110 [99;121] нг/мл, по результатам НПТЭГ формируется умеренная хронометрическая ($p \leq 0,05$) и тенденция к структурной гипокоагуляции. На 3-м часу наблюдения, при концентрации апиксабана в ≈ 123 [110;135] нг/мл, имело место формирование гипокоагуляционного сдвига гемостатического потенциала по данным статистически значимого прироста времени достижения точки «желирования» и снижения константы тромбиновой активности по отношению к таковым, оцененным исходно ($p \leq 0,05$). Максимальные проявления гипокоагуляции (статистически значимый прирост времени «желирования» при снижении максимальной амплитуды, константы тромбиновой активности и индекса коагуляционного драйва - все $p \leq 0,05$) выявлены на 4-й часе мониторинга, где определена и максимальная концентрация препарата. На 6-м часу по НПТЭГ сохраняется умеренная структурная гипокоагуляция, подтвержденная статистически значимым снижением КТА и МА ($p \leq 0,05$), которая, к

10-му часу наблюдения, по выраженности проявлений, определяется лишь как тенденция. А на 12-м часу имеет место статистически значимое, вероятно компенсаторное, повышение тромбиновой активности ($p \leq 0,05$) и сокращение времени «желирования» ($p \leq 0,05$) по отношению к исходным данным.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать заключение о возможности использования технологии НПТЭГ для мониторинга фармакодинамики Апиксабана. При этом, на примере здоровых лиц, плазменная концентрация препарата, достаточная для формирования гипокоагуляционного фенотипа гемостатического потенциала определяется в пределах ~ 110 нг/мл и выше.

Исследование выполнено при поддержке РФФ (грант № 22-15-20041, <https://rscf.ru/project/22.03.2022/>) и Администрации Томской области.

Таб.1

Величины измеряемых характеристик НПТЭГ по «точкам» наблюдения у здоровых добровольцев после однократного приема 5 мг Апиксабана

Показатели	исходно	2 часа	3 часа	4 часа	6 часов	10 часов	12 часов
t_1 (мин.)	1 [0,8;1,8]	1,3 [1,1;2,0]	1,8 [1,3;2,1]*	1,6 [1,1;1,9]*	1,2 [1,5;3,1]	1,1 [0,8;1,7]	0,9 [0,7;2,0]
ИКК (о.е.)	16 [11;22]	13 [11;18]	14 [11;21]	18 [15;22]	15 [10;19]	17 [11;20]	16 [14;24]
t_3 (мин.)	8 [7;10]	11 [10;15] *	13 [12;15] *	15 [14;17] *	15 [14;16] *	10 [9;12]	6 [5;7]#
КТА (о.е.)	30 [25;34]	26 [25;34]	23 [20;24] *	15 [12;18] *	20 [17;23] *	27 [24;32]	35 [29;40] #
ИКД (о.е.)	32 [30;35]	29 [27;32]	29 [26;33]	22 [19;28] *	30 [28;35]	30 [27;34]	31 [27;35]
t_5 (мин.)	31 [29;33]	40 [30;48] *	37 [31;45]	46 [41;50] *	37 [30;48]	34 [30;48]	28 [25;34]
МА (о.е.)	560 [490;610]	530 [500;630]	550 [490;600]	430 [400;530]*	450 [420;500]*	550 [480;600]	590 [500;650]

* - статистически значимые различия с исходными значениями ($p \leq 0,05$ – изменения гипокоагуляционного плана)

- статистически значимые различия с исходными значениями ($p \leq 0,05$ – изменения гиперкоагуляционного плана)

Список литературы:

- Gouin-Thibault I., Flaujac C., Delavenne X., Quenet S., Horellou M. H., Laporte S., ... & Lecompte T. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. *Thromb. Haemost.* 2014; 111(02): 240-248. doi: 10.1160/TH13-06-0470
- Heidbuchel H., Verhamme P., Alings M., Antz M., Hacke W., Oldgren J., Sinnaeve P., Camm A.J., Kirchhof P. European Heart Rhythm Association. European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Europace* 2013;15:625–651.
- Momot A.P., Semenova N.A., Belozero D.E., Trukhina D.A., Kudanova I.Y. The dynamics of the hemostatic parameters in physiological pregnancy and after delivery. *J Hematol Blood Transfus Disord.* 2016; 3:005. doi:10.18411/d-2016-058
- Ruff, C. T., Giugliano, R. P., Braunwald, E., Morrow, D. A., Murphy, S. A., Kuder, J. F., ... & Antman, E. M. (2015). Association between edoxaban dose, concentration, anti-Factor Xa activity, and outcomes: an analysis of data from the randomised, double-blind ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *The Lancet.* 2015; 385(9984), 2288-2295.
- Sanna T., Diener H.C., Passman R.S., Di Lazzaro V., Bernstein R.A., Morillo C.A., Rymer M.M., Thijs V., Rogers T., Beckers F., et al; CRYSTAL AF Investigators. Cryptogenic stroke and underlying atrial fibrillation. *N Engl J Med.* 2014; 370:2478–2486. doi: 10.1056/NEJMoa1313600
- Solovyev M.A., Tutrin I.I., Uduv V.V., Borodulina E.V., Turenko A.V. *Global Tests*

Evaluating the Functional Condition of Hemostasis. *Clin Exp Pharmacol.* 2015; 5: 178. doi:10.4172/2161-1459.1000178

7. Titaeva E.V., Dobrovolsky A.B. Chromogenic anti-Xa test: the ratio between heparin activity units and concentration of apixaban and rivaroxaban. *Aterotromboz = Atherothrombosis.* 2020; (2):96-104. (In Russ.) doi: 10.21518/2307-1109-2020-2-96-104.

8. Udut V.V. , Tutrin I.I. , Solovyev M.A., Kotlovskaya L. Yu. , Borodulina E. V., Kotlovskii M. U., Gulyaev N. I. Low-frequency piezoelectric thromboelastography technology for antithrombotic therapy monitoring. *Clin. Exp. Pharmacol.* 2017;11:10-17. doi:10.30906/0869-2092-2017-80-11-10-17

9. Udut V.V., Tyutrin I.I., Solov'ev M.A. et al. Global Tests in Evaluation of the Function of Proand Anticoagulant Systems: Present and Future. *Bull Exp Biol Med* 2015; 159: 205–208. doi:10.1007/s10517-015-2923-8

10. Дементьева И. И., Морозов Ю. А., Чарная М. А., Гончарова А. В. Технологии point of care в клинике неотложных состояний. *Клин. лаб. диагн.* 2013; (7), 5-10.

11. Миронов А.Н., ред. Руководство по экспертизе лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2013. Т. 1. 328 с.

12. Ревитшвили А.Ш., Шляхто Е.В., Замятин М.Н. и др. Особенности оказания экстренной и неотложной медицинской помощи пациентам, получающим прямые оральные антикоагулянты.

Согласительный документ междисциплинарной группы экспертов // *Вест. аритм.* 2018; 92: 59-72. doi: 10.25760/VA-2018-92-59-72.

13. Соловьев М.А. , Тютрин И.И., Удут В.В., Клименкова В.Ф. Опыт диагностики и мониторинга критических нарушений гемостаза. *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв.ситуациях.* 2013; 4: 55 – 60

14. Сулимов, В. А., Напалков, Д. А., Соколова, А. А., Жиленко, А. В., Аникина, О. С. Антикоагулянтная терапия в реальной клинической практике: данные ретроспективного одномоментного исследования. *Рац. фарм. в кард.* 2015; 11(2), 116-123.

15. Тютрин И.И., Клименкова В.Ф., Удут В.В. Новая технология оценки фармакодинамики антиагрегантов. *Эксперим. и клин. фармакол.* 2014; 77(2): 21 – 25. doi 10.30906/0869-2092-2017-80-11-10-17

16. Тютрин И.И., Удут В.В. Низкочастотная пьезотромбоэластография цельной крови: алгоритмы диагностики и коррекции гемостазиологических расстройств. *ИД Томского гос. ун-та, Томск:* 2016. 170 с.

17. Удут В. В., Тютрин И. И., Котловская Л. Ю. и др. Технология низкочастотной пьезотромбоэластографии в оценке гемостатического потенциала. *Вест. нов. мед. техн.* 2016; 4: 104-113. doi: 10.12737/22220