

Измерение параметров гемостаза: приборная база и перспективы развития

Аннотация

В обзоре проанализированы методы измерения параметров гемостаза, а также характеристики медицинской техники, используемой для оценки показателей коагуляционного и тромбоцитарно-сосудистого звеньев гемостаза. Оптимальный способ и устройство имеют решающее значение при выборе корректного метода контроля параметров гемостаза при антикоагулянтной и антиагрегантной терапии, что является особенно важным в клинической практике в качестве инструмента профилактики тромбозов. Особое внимание уделено измерительным приборам, используемым на месте оказания помощи или у постели больного, как современной тенденции к мобильности и упрощению использования оборудования.

Введение

Проблема изучения системы гемостаза и коррекции его нарушений является актуальной проблемой медицины. Для успешного решения этих задач необходимо получение достоверных значений измеряемых характеристик различных звеньев гемостаза, что является одной из самых сложных задач лабораторного медицинского приборостроения [1], [2].

Условно гемостаз подразделяется на коагуляционный, объединяющий систему растворенных в плазме факторов свертывания, и тромбоцитарно-сосудистый, охватывающий совокупность клеточных реакций тромбоцитов. Это биологическое явление стало основанием для развития двух отдельных ветвей приборостроения, направленного на контроль свертывающей системы крови. Таким образом, можно выделить приборы для оценки параметров коагуляционного и тромбоцитарного звеньев гемостаза. Все имеющиеся приборы детектируют изменения лишь в одном из них. Когда речь идет о постоянной или длительной профилактике тромбозов антикоагулянтами непрямого действия (препятствуют образованию сгустка) и/или антиагрегантами (воздействуют на тромбоциты), необходимо отслеживать функциональные изменения соответствующего звена гемостаза, иначе при избыточном использовании препаратов велик риск кровотечений, а при недостатке – тромбозов [1], [3]. Своевременная коррекция дозы обеспечивают максимальную эффективность и безопасность терапии [4]. Основным препятствием для лечения варфарином (наиболее популярный антикоагулянт в большинстве стран) является низкое качество управления дозой препарата [5]. Примерно в половине случаев вариабельность терапевтической дозы варфарина зависит от генетически определенной чувствительности к препарату [6], [7]. В свою очередь, тромбоз является одной из основных причин не только смертности, но и инвалидизации населения, для реабилитации которого требуются серьезные материальные затраты [8]. Именно эти факторы определяют необходимость тщательного мониторинга системы гемостаза у пациентов, получающих антикоагулянтную и/или антиагрегантную терапию.

При диагностике патологии свертывания крови особое внимание уделяют стандартизации, приборному обеспечению и преаналитическому этапу [9]. Преаналитический этап исследования гемостаза заключается в адекватном назначении анализов, выборе наиболее информативного метода при данных клинических симптомах. Кроме того, важна подготовка пациента к исследованию с учетом лечебно-диагностических процедур, получаемых лекарственных препаратов, влияющих на гемостаз (инфузий, трансфузий, таблетированных препаратов). Стандартизация предполагает единую методику подготовки пробы к исследованию, транспортировке и практически полному отсутствию стадии хранения образца. Самой критичной процедурой для получения точного и воспроизводимого результата является взятие крови, так как любое повреждение сосуда приводит к инициации тромбообразования. Не менее важным является и то, какая кровь – цельная, стабилизированная капиллярная кровь или плазма венозной крови – используется для выполнения того или иного теста [10]. Селективное использование активаторов или ингибиторов позволяет упростить задачу измерения отдельных параметров гемостаза.

Принципы оценки коагуляционного гемостаза

Самые широко используемые клоттинговые («clot» – тромб) методы основаны на регистрации времени образования фибринового сгустка [11]. Клоттинговые методы позволяют выполнять исследования протромбинового теста (протромбиновое отношение, тест по Квику, международное нормализованное отношение – МНО), определение концентрации фибриногена, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), тромбинового теста, антитромбина III, определение активности VIII и IX факторов свертывающей системы, определение волчаночного антикоагулянта и др.

Учитывая разнообразие клоттинговых тестов, к современному коагулометру можно предъявить следующие требования: 1) достаточная чувствительность при работе с образцами сильно разведенной плазмы крови и плазмы с низким содержанием фибриногена (для определения активности антитромбина III, факторов VIII и IX, концентрации фибриногена по Клауссу, диагностики нарушений в системе протеина С и др.); 2) возможность проводить исследования как на плазме, так и на цельной крови.

Протромбиновое время (ПТВ) и его производные – протромбиновый индекс (ПТИ) и МНО – это основные лабораторные показатели коагуляционного гемостаза. МНО наиболее широко применимо для оценки эффективности терапии варфарином и рекомендовано экспертами ВОЗ для стандартизации показателя ПТВ с учетом разной активности тромбопластина, используемого в лабораториях.

Современная медицинская техника для измерения параметров коагуляционного гемостаза

Новое поколение портативных коагулометров и реагентов для экспресс-тестов позволяет получать результаты, близкие по точности к лабораторным «CoaguChek» («Roche»), «INRatio2» («HemoSense»), система «ProTime» («ITC») (табл. 1). Полученные результаты могут использоваться как работниками здравоохранения, так и пациентами самостоятельно, непосредственно в домашних условиях. Быстрое и точное измерение ПТВ или МНО помогает врачам и самим пациентам поддерживать значение МНО в нужном диапазоне от 2,5 до 3,5 ед. [12], позволяя повысить безопасность и эффективность проводимой варфаринотерапии.

При сравнении двух типов устройств – компактных «qLab» («INR qLab») и «CoaguChek XS», где используется капиллярная кровь и стационарной «Sysmex CA-500», где используется венозная кровь, для небольшой выборки пациентов показаны достаточно хорошее совпадение и воспроизводимость значений ПТВ, представленных в виде МНО [13].

Общими недостатками всех существующих портативных коагулометров являются высокая стоимость одного теста и отсутствие возможности оперативной передачи полученных результатов лечащему врачу для своевременного принятия решения по коррекции дозы препарата. Отметим, что отечественные версии подобных приборов в настоящее время отсутствуют.

Принципы оценки тромбоцитарного гемостаза

В настоящее время доказана роль функционального состояния тромбоцитов в развитии сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений, что обуславливает назначение антиагрегантной терапии, несмотря на вариабельную индивидуальную чувствительность к препаратам [14], [15].

Традиционными тестами для определения функционального состояния тромбоцитов являются: 1) время кровотечения (устаревший, не используется в клинике); 2) исследование агрегации тромбоцитов, который признан «золотым стандартом» мониторинга состояния тромбоцитов. В основу теста положен эффект агрегации тромбоцитов при добавлении агониста к богатой тромбоцитами плазме, где измерение проводится методом турбидиметрии (light transmission aggregometry, LTA), или к цельной крови, где измерение проводится методом электрического импеданса (whole blood aggregometry, WBA). Агрегация тромбоцитов определяется взаимодействием гликопротеинов и интегринов мембран тромбоцитов (GpIIb/IIIa) [16]. Оба метода предполагают использование индукторов, которые делятся на два типа:

- 1) сильные индукторы (коллаген, тромбин, тромбоксан A2) вызывают агрегацию тромбоцитов, синтез тромбоксана A2 и секрецию тромбоцитами гранул;
- 2) слабые индукторы (аденозиндифосфат – АДФ, адреналин) индуцируют агрегацию, не активируя при этом секрецию гранул.

Наиболее широко используемые индукторы и их рабочие концентрации приведены в *табл. 2*.

Согласно механизму действия индукторов, для мониторинга антиагрегантной терапии, в частности резистентности к аспирину, наиболее применимы АДФ, коллаген и арахидоновая кислота [17].

Метод LTA. Для измерения агрегации тромбоцитов методом турбидиметрии последовательно получают оптические характеристики бедной (нулевая точка) и богатой тромбоцитами плазмы. Затем происходит добавление индуктора агрегации. Классическая агрегационная кривая имеет S-образный вид, измерение оптической плотности прекращают при выходе кривой на плато. Результатом является процент прироста оптической плотности относительно нулевой точки. В качестве референсных значений для людей, не получающих антиагрегантную терапию, приняты значения от 50 до 80 %.

Достоинства: широкая панель применяемых агонистов, позволяющих дифференцировать ряд заболеваний. Недостатки: 1) нефизиологичность условий протекания реакции; 2) исключение из реакции ее естественных участников – эритроцитов, лейкоцитов и плазменных факторов; 3) неизбежность воздействия центрифугирования на тромбоциты; 4) потеря уже агрегировавших тромбоцитов; 5) большой объем крови для проведения исследований; 6) невозможность анализа липимичных и гемолизированных образцов.

LTA-метод, несмотря на недостатки, используется во множестве стационарных приборов для проведения исследований в условиях клинико-диагностической лаборатории [18]. Данный метод не может использоваться прикроватно в условиях клиники или непосредственно самим пациентом.

Метод WBA основан на том, что при добавлении агониста (АДФ, коллаген, арахидоновая кислота) тромбоциты агрегируют на поверхности одного из электродов, тем самым увеличивая сопротивление между двумя электродами. Метод подразумевает использование цельной крови без антикоагулянтов сразу после взятия образца от пациента без какой-либо

пробоподготовки, что исключает потерю субпопуляций тромбоцитов и активацию клеток вследствие центрифугирования. Метод может использоваться прикроватно в условиях клиники или непосредственно самим пациентом.

Метод люминесцентной агрегации основан на регистрации биолюминесценции при превращении АДФ, высвобождаемом из гранул тромбоцитов, в аденозинтрифосфат (АТФ), который в дальнейшем вступает в люциферин-люциферазную реакцию с образованием аденил-люциферина. В результате окисления аденил-люциферина происходит излучение света, интенсивность которого пропорциональна количеству образовавшегося АТФ [19], [20].

Метод проточной цитометрии. Одним из самых чувствительных и специфичных методов оценки функциональной активности тромбоцитов является анализ экспрессии GP-белков на мембране тромбоцитов. Пробоподготовка заключается в предварительном окрашивании моноклональными антителами PAC-1 и CD62P, меченными флуоресцентной меткой, образца цельной крови с добавленным к нему индуктором. Затем окрашенная клеточная суспензия поступает в оптическую систему проточного цитометра, где флуорофор возбуждается лазером определенной длины волны, а по величине эмиссии света делается заключение о наличии или отсутствии исследуемого маркера на поверхности клетки, что может быть выражено количественно [21].

Также проточная цитометрия используется в мониторинге терапии тиенопиридинами, так как они опосредованно способствуют фосфорилированию белка VASP (vasodilator stimulated phosphoprotein), который вызывает снижение агрегации тромбоцитов [22]. Измерение VASP-P происходит в цельной крови с использованием коммерческой тест-системы PLT VASP/P2Y12 («BioCytex»). Достоинства: малое количество образца (10 мкл) и его физиологичность (используется цельная кровь). Недостатки: необходимость предварительного окрашивания образца, дороговизна оборудования и высокие требования к персоналу, проводящему исследование.

Медицинская техника для измерения параметров тромбоцитарного гемостаза

В настоящее время на рынке существует ряд приборов для измерения агрегации тромбоцитов в лабораторных условиях [23]: PAP-8E («Bio/Data Corp.»), AggRAM («Helena Lab») и «Chrono-log 700» («CHRONO-LOG Corp»). Основными недостатками этих анализаторов являются отсутствие мобильности, низкая воспроизводимость, а также необходимость в высококвалифицированном персонале для проведения тестирования [24].

В связи с широким распространением антиагрегантной терапии клопидогрелем и аспирином, что особенно важно после эндоваскулярных хирургических вмешательств, потребовалась разработка приборной и реагентной базы для проведения тестирования непосредственно у постели больного (point-of-care). К современным приборам для исследования агрегации тромбоцитов относятся: «VerifyNow» («Accriva Diagnostics, Inc.») [16], «Plateletworks» («Helena Lab»), «Multiplate» («Roche») [25] и PFA-100 («Siemens»), который позволяет также исследовать функции тромбоцитов [16], [26] (*табл. 3*).

Таблица 1

Характеристики портативных коагулометров

Название, производитель	CoaguChek, «Roche»	INRatio2, «HemoSense»	ProTime, «ITC»
Принцип действия	Амперометрическое (электрохимическое) определение ПТВ после активации свертывания рекомбинантным тромбопластином	Амперометрическое (электрохимическое) определение ПТВ после активации свертывания рекомбинантным тромбопластином	Микромеханическая система детекции сгустка
Измеряемые характеристики	МНО, ПТВ, время по Квику	МНО, ПТВ	МНО, ПТВ
Время измерения, с	100	60	120
Объем аналита, мкл	8	15	27...65
Проба	Капиллярная кровь из пальца		
Особенности	Коррекция показаний на наличие гепарина и величину гематокрита	–	–

Заключение

Мониторинг параметров как коагуляционного, так и тромбоцитарно-сосудистого звеньев гемостаза позволяет существенно повысить эффективность проводимой антикоагулянтной и антиагрегантной терапии, что помогает не только повысить качество жизни пациентов, но и существенно снизить материальные затраты на лечение за счет наиболее оптимального подбора терапевтической дозы препаратов [15], [27], [28]. Разработка отечественного прибора, сочетающего в себе возможности контроля как коагуляционного, так и тромбоцитарно-сосудистого звеньев гемостаза с возможностью удаленной передачи результатов исследования лечащему врачу, позволит увеличить количество пациентов, получающих эффективную терапию как на дому, так и в амбулаторных условиях, и повысить доступность подобного метода терапии.

На основе анализа характеристик портативных коагулометров и анализаторов функций тромбоцитов (табл. 1 и 3) можно сформулировать требования к устройству, характеристики которого наиболее оптимальны для решения данной задачи:

- 1) портативность и оперативная беспроводная передача результатов исследования врачу;
- 2) простота проведения теста, для которого не требуется специального обучения пациента или персонала;
- 3) высокая точность измерения при использовании малого количества крови;
- 4) универсальность, т. е. возможность использования одного устройства для оценки различных параметров звеньев гемостаза за счет различных сменных картриджей;
- 5) низкая стоимость самого прибора и расходных реагентов, что достигается за счет отечественного производства.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение № 14.607.21.0066, идентификатор RFMEFI60714X0066).

Список литературы:

1. Saba H.I., Roberts H.R. Hemostasis and Thrombosis. – John Wiley & Sons, 2014.

2. Базаев И.А., Пржиялговская А.В., Руденко П.А. и др. Современные методы измерения параметров свертываемости крови // Медицинская техника. 2015. № 3. С. 9-13.
3. De Schryver E.L., Algra A., Kappelle L.J. et al. Vitamin K antagonists versus antiplatelet therapy after transient ischaemic attack or minor ischaemic stroke of presumed arterial origin // Cochrane Database Syst. Rev. 2012. Vol. 9. P. CD001342.
4. Кох Н.В., Слепухина А.А., Цветовская Г.А. и др. Сравнение эмпирического и фармакогенетического подхода в оценке эффективности антикоагулянтной терапии // Кардиология. 2015. Т. 55. Вып. 4. С. 57-60.
5. Кропачева Е.С., Боровков Н.Н., Вавилова Т.В. и др. Быстрые темпы насыщения варфарином – предиктор развития предмерной гипокоагуляции. Модернизация алгоритма подбора варфарина // Атеротромбоз. 2015. Вып. 1. С. 74-86.
6. Шевела А.И., Лифищ Г.И., Новикова Я.В. и др. Фармакогенетические основы применения варфарина // Флебология. 2008. Т. 2. Вып. 3. С. 35-37.
7. Belozerceva L.A., Voronina E.N., Kokh N.V. et al. Personalized approach of medication by indirect anticoagulants tailored to the patient-Russian context: What are the prospects? // EPMA J. 2012. Vol. 3 (1). P. 10.
8. Новикова Я.В., Шевела А.И., Лифищ Г.И. Полиморфные варианты CYP2C9 и VKORC1 у пациентов с патологией венозной системы нижних конечностей // Стационарозамещающие технологии. Амбулаторная хирургия. 2007. Вып. 4. С. 153-154.
9. Лифищ Г.И., Николаев К.Ю. Новые методические подходы к оценке сосудистого баланса и выбора препаратов для лечения больных артериальной гипертензией и ИБС. В кн.: Семейные подходы к организации первичной профилактики ишемической болезни сердца и артериальной гипертензии / Под. ред. А.А. Николаевой. – Научно-ис. Новосибирск, 2000. С. 86-93.
10. Vybivantseva A., Demkova O., Saraeva N. et al. Impact of preanalytical delay on results of light transmittance aggregometry in STEMI patients // J. Thromb. Haemost. 2015. Vol. 13 (S2). P. 283.
11. Seo H.S., Choi S.H., Han M. et al. Measurement of platelet aggregation functions using whole blood migration ratio in a microfluidic chip // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2015. Vol. 62 (2). PP. 151-163.

Таблица 2

Индукторы, используемые для оценки функционального состояния тромбоцитов

Индуктор	Рабочая концентрация	Эффект
АДФ	Низкая: 1; 2,5; 5 мкмоль/л [20]; высокая: 10...20 мкмоль/л [18], [30], [31]	АДФ связывается с двумя видами G-белков рецепторов P2Y1 и P2Y2 на поверхности тромбоцитов, что приводит к 1-й волне агрегации. Связывание именно с P2Y1 вызывает выброс кальция и изменение формы тромбоцитов. 2-я волна агрегации вызвана дополнительным выбросом АДФ из депо в тромбоцитах. Низкие дозы вызывают только 1-ю волну агрегации, причем обратимую. Эффект антиагрегантной терапии клопидогрелем основан на связывании P2Y1 рецепторов
Коллаген	1; 4 мг/мл [32], [33]	Связывается с GpVI и GpIa/IIa рецепторами, вызывая выброс тромбоцитарных гранул, генерацию тромбосана A2, и поддерживает GPIIb-IIIa активацию. Рецептор GpIa/IIa участвует в адгезии тромбоцитов. Рецептор GpVI участвует в передаче сигналов тромбоцитов и генерации тромбосана A2
Ристоцетин	Низкая: 0,5 мг/мл; высокая: 1,5; 5 мг/мл [32]	Ристоцетин способен вызывать агглютинацию тромбоцитов путем взаимодействия фактора Вилебранда с GPIb-IX-V комплексом
Адреналин	5; 10 мкмоль [32], [33]	Адреналин связывается с ± 2 -рецепторами на мембране тромбоцитов, ингибируя аденилатциклазу с последующим выбросом кальция. Агрегация при добавлении адреналина похожа на агрегацию с АДФ: 1-я волна агрегации вызывается изменением формы тромбоцитов, а 2-я – выбросом АДФ из депо. Как и в случае АДФ, 2-я волна агрегации блокируется аспирином и НПВС. Таким образом, дефект проведения сигнала от ± 2 -рецепторов сопровождается кровотечениями
Арахидоновая кислота	500 мкг/мл [32]	Арахидоновая кислота является предшественником тромбосана A2, превращаясь в тромбосан A2 под действием циклооксигеназы и тромбосансинтазы. Тромбосан A2 потенцирует агрегацию путем выброса гранул из тромбоцитов, дополнительную генерацию тромбосана A2 и поддерживает активацию GPIIb-IIIa
Тромбин	Низкая: 50 нмоль/л; высокая: 100 нмоль/л [31]	Тромбин является физиологическим активатором PAR1 и PAR4 рецепторов тромбоцитов

12. *Вавилова Т.В.* Гемостазиология в клинической практике (пособие для врачей). – СПб.: Изд-во СПбГМУ, 2005. 92 с.
13. *Dillinger J.-G., Si Moussi T., Berge N. et al.* Accuracy of point of care coagulometers compared to reference laboratory measurements in patients on oral anticoagulation therapy // *Thromb. Res.* 2016. Vol. 140. PP. 66-72.
14. *Киреева В.В., Кох Н.В., Луфищ Г.И. и др.* Дисфункция эндотелия как краеугольный камень сердечно-сосудистых событий: молекулярно- и фармакогенетические аспекты // *РКЖ.* 2014. Т. 10. Вып. 114. С. 64-68.
15. *Кнауэр Н.Ю., Луфищ Г.И., Воронина Е.Н. и др.* Информативность генетических маркеров для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелом // *Кардиология.* 2013. Т. 53. Вып. 8. С. 72-75.
16. *Jilma-Stohlawetz P., Ratzinger F., Schörghofer C. et al.* Effect of preanalytical time-delay on platelet function as measured by multiplate, PFA-100 and VerifyNow // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2016. Vol. 76 (3). PP. 249-255.
17. *Bierend A., Rau T., Maas R. et al.* P2Y12 polymorphisms and antiplatelet effects of aspirin in patients with coronary artery disease // *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2008. Vol. 65 (4). PP. 540-547.
18. *Dunne E., Egan K., McFadden S. et al.* Platelet aggregation in response to ADP is highly variable in normal donors and patients on anti-platelet medication // *Clin. Chem. Lab. Med.* 2015. Vol. 54 (7). PP. 1269-1273.
19. *Feinman R.D., Lubowsky J., Charo I. et al.* The lumi-aggregometer: A new instrument for simultaneous measurement of secretion and aggregation by platelets // *J. Lab. Clin. Med.* 1977. Vol. 90 (1). PP. 125-129.
20. *White M.M., Foust J.T., Mauer A.M. et al.* Assessment of lumiaggregometry for research and clinical laboratories // *Thromb. Haemost.* 1992. Vol. 67 (5). PP. 572-577.
21. *Michelson A.D., Linden M., Barnard M. et al.* Flow cytometry. In: *Platelets.* 2nd ed. San Diego(CA). – Elsevier/Academic Press, 2011. PP. 545-564.
22. *Cattaneo M.* Flow cytometry. In: *Platelets.* 2nd ed. San Diego (CA). – Elsevier/Academic Press, 2011. PP. 201-220.
23. *Oliphant C.S., Trevarrow B.J., Dobesh P.P.* Clopidogrel Response Variability: Review of the Literature and Practical Considerations // *J. Pharm. Pract.* 2016. Vol. 29 (1). P. 26.
24. *Луфищ Г.И., Анарцин К.А.* Проспективное многоцентровое наблюдательное исследование ПРОТОКОЛ: персонализированная терапия клопидогрелом при стентировании по поводу острого коронарного синдрома с учетом генетических полиморфизмов // *Качественная клиническая практика.* 2015. Вып. 1. С. 78-86.
25. *Lim S.T., Coughlan C.A., Murphy S.J.X. et al.* Platelet function testing in transient ischaemic attack and ischaemic stroke: A comprehensive systematic review of the literature // *Platelets.* 2015. Vol. 26 (5). PP. 402-412.
26. *Mueller T., Dieplinger B., Poelz W. et al.* Utility of the PFA-100 instrument and the novel multiplate analyzer for the assessment of aspirin and clopidogrel effects on platelet function in patients with cardiovascular disease // *Clin. Appl. Thromb. Hemost.* 2009. Vol. 15 (6). PP. 652-659.
27. *Coccheri S.* Antiplatelet drugs – do we need new options? With a reappraisal of direct thromboxane inhibitors // *Drugs.* 2010. Vol. 70 (7). PP. 887-908.

Таблица 3

Характеристики прикроватных устройств для исследования агрегации тромбоцитов

Название, производитель	VerifyNow, «Accriva»	Plateletworks, «Helena Lab»	Multiplate, «Roche»	PFA-100, «Siemen»s
Тип	Закрытый, автоматический, одноканальный	Закрытый, автоматический, одноканальный	Открытый, полуавтоматический, пятиканальный	Закрытый, автоматический, одноканальный
Принцип действия	Турбидиметрическое распознавание агрегации тромбоцитов в крови, пропускаемой через картриджи, содержащие индуктор	Подсчет отдельных тромбоцитов до и после их активирования	Импедансный измеритель агрегационной способности тромбоцитов в присутствии активаторов для различных факторов	Измерение времени до закупоривания микроскопических отверстий в мембране, контроль процесса оптический
Измеряемые характеристики	Мониторинг терапии антитромбоцитарными препаратами; оценка реактивности тромбоцитов	Агрегация; ингибирование тромбоцитов; мониторинг терапии антиагрегантами	Агрегация; антиагрегантная терапия (весь спектр); оценка реактивности тромбоцитов	Агрегация; дисфункция тромбоцитов, в том числе при терапии аспирином
Время измерения, мин	2...5	5	10	6
Минимальный объем анализа, мл	8	15	1	1
Проба	Цельная кровь			
Расходный материал	Картриджи; реагенты (аспирин, ингибиторы факторов P2Y12 и GP IIb/IIIa)	Реагенты (АДФ, коллаген)	Реагенты (аспирин, АДФ, ингибитор факторов P2Y12, GP IIb/IIIa и Виллебранда)	Картриджи; пары реагентов коллаген/эпинефрин и коллаген/АДФ
Особенности	Портативность; высокая специфичность в отношении различных групп антиагрегантных препаратов; высокая воспроизводимость; скорость проведения теста	Точность приближена к турбидиметрическим анализаторам	Малое количество образца; высокая специфичность в отношении различных групп антиагрегантных препаратов	Малое количество образца; выявление широкого спектра дисфункции тромбоцитов
Недостатки	Дороговизна; специфичность использования (только для оценки терапии клопидогрелом)	Непортативный	Непортативный	Непортативный; специфичность использования (только для оценки терапии аспирином)

28. Зеленская Е.М., Лифшиц Г.И. Современная антиагрегантная терапия: патофизиологические и клинические аспекты // Вестник НГУ. Серия «Биология, клиническая медицина». 2015. Т. 13. Вып. 2. С. 67-76.
29. Rideg O., Komócsi A., Magyarlaci T. et al. Impact of genetic variants on post-clopidogrel platelet reactivity in patients after elective percutaneous coronary intervention // Pharmacogenomics. 2011. Vol. 12 (9). PP. 1269-1280.
30. Angiolillo D.J., Saucedo J.F., Deraad R. et al. Increased platelet inhibition after switching from maintenance clopidogrel to prasugrel in patients with acute coronary syndromes: Results of the SWAP (SWitching Anti Platelet) study // J. Am. Coll. Cardiol. 2010. Vol. 56 (13). P. 1017.
31. Kreutz R.P., Owens J., Lu D. et al. Platelet factor XIIIa release during platelet aggregation and plasma clot strength measured by thrombelastography in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel // Platelets. 2015. Vol. 26 (4). PP. 358-363.
32. Hayward C.P.M., Pai M., Liu Y. et al. Diagnostic utility of light transmission platelet aggregometry: Results from a prospective study of individuals referred for bleeding disorder assessments // J. Thromb. Haemost. 2009. Vol. 7 (4). PP. 676-684.
33. Lassila R. Platelet Function Tests in Bleeding Disorders // Semin. Thromb. Hemost. 2016. Vol. 42 (3). PP. 185-190.

Галина Израилевна Лифшиц,
д-р мед. наук, зав. лабораторией,
Анастасия Александровна Слепухина,
научный сотрудник,
лаборатория персонализированной медицины,
Анна Игоревна Субботовская,
канд. мед. наук, зав. лабораторией,
лаборатория генной диагностики,
ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск,
Константин Анатольевич Апарцин,
д-р мед. наук, зав. лабораторией,
лаборатория клинических исследований,
Иркутский научный центр хирургии и травматологии,
руководитель отдела медико-биологических
исследований и технологий,
Иркутский научный центр СО РАН, г. Иркутск,
Сергей Анатольевич Долгушин,
канд. физ.-мат. наук, ст. научный сотрудник,
кафедра биомедицинских систем,
Национальный исследовательский университет «МИЭТ»,
г. Москва, г. Зеленоград,
e-mail: gl62@mail.ru

А.В. Губин, В.П. Кузнецов, Д.Ю. Борзунов, А.А. Корюков, А.В. Резник, А.Ю. Чевардин

Проблемы и перспективы применения аддитивных технологий при изготовлении кастомизированных имплантатов для травматологии и ортопедии

Аннотация

Развитие персонализированной медицины в мире связано с успехами в фундаментальных науках, таких как генетика и биохимия. Речь идет прежде всего о создании технологий для таргетного высокоэффективного лечения раковых заболеваний. Возможность быстрого и доступного индивидуального изготовления медицинских изделий, медикаментов и даже органов появилась с приходом в медицину 3D-принтеров. Сможет ли персонализированный подход к изготовлению остеointегрируемых имплантатов для травматологии и ортопедии содействовать развитию новых высокотехнологичных производств, основанных прежде всего на аддитивных технологиях? И смогут ли кастомизированные импланты способствовать улучшению помощи пациентам, требующим хирургического лечения? Для решения этих вопросов необходимо тесное взаимодействие хирургов, организаторов здравоохранения, материаловедов и технологов. И даже если понимание потребности будет определено, реализация таких проектов должна иметь юридические и экономические обоснования, сложность получения которых чаще всего является основным барьером внедрения.

Введение

Появление в начале 90-х годов XX века 3D-принтеров, основанных на аддитивных технологиях, позволило разработать новые решения в биоинженерии. Наиболее успешно данная технология применяется в создании биомоделей из пластика, используемых при хирургическом планировании, а также при изготовлении изделий для протезирования, таблетированных форм лекарственных средств и даже человеческих тканей [1]-[4].

На рынке существует большое количество стандартных протезов для конечностей по низкой цене, но некомфортность в использовании и их косметический вид не удовлетворяют пациентов-инвалидов. Индивидуальные изделия очень сложны в производстве и крайне дороги. Кастомизированные протезы, произведенные с применением аддитивных технологий, уже сейчас могут стать более дешевыми и качественными по сравнению с аналогами, выполненными по обычным методикам [5], [6]. Преодоление проблемы остеointеграции имплантов также имеет немаловажное значение для применения возможностей аддитивных технологий [7].

Увеличение продолжительности жизни, а соответственно и времени нахождения изделия внутри человека приводят к большому количеству осложнений, связанных с расплыванием и разобщением имплантата с костным ложем пациента. Разработчики костно-пластических материалов и протезов пытаются обеспечить кондуктивность поверхности имплантата [8]. Приближение механических свойств трансплантатов к свой-

ствам кости может обеспечить предотвращение перипротезных переломов. Изготовление аналогичных по архитектонике и механическим свойствам конкретной кости имплантатов с точно заданной трехмерной формой становится возможным с внедрением аддитивных технологий. При этом на данный момент фундаментальные биологические задачи по остеointеграции полностью не решены даже в условиях эксперимента. Это делает актуальным применение 3D-принтеров для быстрого изготовления прототипов и опытных образцов для экспериментальных животных [9], [10].

При разработке и внедрении медицинских методик, основанных на аддитивных технологиях, во всем мире возникают финансовые и организационные проблемы, обуславливающие применение данных технологий только для больных с редкими заболеваниями. Подобные работы поддерживаются грантами; примером является сетевой проект Евросоюза PHIDIAS по внедрению быстрого прототипирования в медицине.

Наиболее широко в клинической практике применяются кастомизированные импланты для восполнения дефектов черепа, где косметический аспект первостепенен, а сложность формы делает применение 3D-принтеров рентабельным [11]. Второй областью широкого применения аддитивных технологий в сложной ортопедической хирургии является создание 3D-моделей в качестве навигаторов и образцов для выполнения высокоточных манипуляций [12], [13]. Актуальным направлением является создание маленьких по размеру, но высоких по сложности элементов для наружных и погружных динамичес-