

ПРИМЕНЕНИЕ АНТИКОАГУЛЯНТОВ ПРИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ (ЧАСТЬ 1)

Т.В. Головачева, В.В. Скворцов, К.Ю. Скворцов

ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет Росздрава»

ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет Росздрава»

Гемостаз

При повреждении сосуда место его разрыва должно быть закрыто как можно скорее для предотвращения потери крови. В месте повреждения происходит формирование непроницаемого сгустка из тромбоцитов и фибрина. Однако, для предотвращения системного тромбообразования необходимо лишь локальная активация тромбоцитов и механизмов коагуляции. После ликвидации проблемы тромб подвергается растворению посредством протеиназных реакций, фибринолиза, которые также предотвращают поврежденный сосуд от окклюзии. Существует шаткое равновесие между системами гемостаза (коагуляции) и фибринолиза, нарушение в одной из систем приводит либо к тромбозу, либо развитию кровотечения [2].

Артериальные тромбозы

Известно, что артериальные тромбозы развиваются посредством реализации двух механизмов: эрозии эндотелия и/или разрыва атеросклеротической бляшки (АБ) [3-5]. По данным аутопсии, примерно в 25% случаев фатальных коронарных тромбозов развивается эрозия (денудация, оголение) эндотелиальной выстилки, покрывающей АБ, а разрыв АБ является причиной коронарных тромбозов примерно в 75% случаев. Разрыв покрышки АБ приводит к контакту тромбогенных субстанций (коллагена и тканевого фактора) с элементами циркулирующей крови. Содержащиеся в липидном ядре тканевой фактор (ТФ) и подлежащий соединительнотканый матрикс вступают во взаимодействие с форменными элементами циркулирующей крови,

что приводит к активации тромбоцитов и системы коагуляции параллельно с выбросом вазоактивных веществ. Таким образом, запускается процесс образования тромба и вазоконстрикции, что может спровоцировать возникновение и/или усугубление ишемии миокарда с развитием острого коронарного синдрома (ОКС).

Тканевой фактор

В настоящее время процессы коагуляции считается многоуровневой реакцией, которая происходит на поверхности клеток [6, 7]. Основным фактором, запускающим коагуляционный каскад, является ТФ, представляющий собой трансмембранный гликопротеид. ТФ является представителем цитокиновых рецепторов (класс II) и, следовательно, действует и как рецептор, и как кофактор для факторов VII и VIIa свертывания крови. Связывание комплекса «ТФ-ФVIIa» с рецепторами клеточных мембран ведет к активации X фактора свертывания крови (ФХа) и запускает каскад коагуляции. ТФ облигатно экспрессируется клетками, окружающими сосуды и крупные органы для формирования гемостатического барьера, но его источником могут являться и сосудистые клетки, подвергшиеся действию таких воспалительных стимулов, как молекулы адгезии (например, Р-селектин и лиганд CD40 [CD40L]), цитокины, окисленные или модифицированные липопротеиды низкой плотности (ЛПНП) [8]. Помимо участия в процессах гемостаза, комплекс «ТФ-ФVIIa» стимулирует внутриклеточную передачу сигналов, ведущую к индукции различных генов, играющих важную роль в процессах эмбриогенеза, миграции клеток, воспаления, апоптоза и ангиогенеза [9-11].

Ингибитор пути тканевого фактора

Ингибитор пути ТФ (ИПТФ, ранее известный под названием антиконвертин) является мощным ингибитором сериновой протеазы, запускающей коагуляцию, индуцированную комплексом «ТФ-ФVIIa». Его действие нейтрализует каталитическую активность ФХа и в присутствии X активированного фактора по механизму обратной связи ингибирует образование комплекса «ТФ-ФVIIa» [12]. ИПТФ содержит три домена ингибитора Кунитца (Kunitz): первый домен связывается с ФVIIa, второй – с ФХа. Третий домен вовлечен в процесс связывания ИПТФ с липопротеидами. С-концевая область ИПТФ необходима для связывания с рецепторами на поверхности клеток [13]. Первичным местом синтеза ИОТФ являются клетки сосудистого эндотелия [14], кроме того, ряд других клеток также обладают способностью к его синтезу (моноциты, мегакариоциты, тромбоциты). In vivo примерно 80% ИПТФ плазмы циркулирует в соединении с липопротеидами. Основной пул ИПТФ («свободный» ИПТФ) связан с поверхностью эндотелия и секретируется в кровеносное русло при внутривенном (в/в) введении нефракционированного гепарина (НФГ) или после подкожного (п/к) введения низкомолекулярных гепаринов (НМГ) [15].

Клеточные механизмы регуляции коагуляции

Процессы свертывания крови коагуляции включает три последовательные фазы [7, 16, 17]. Процесс запускается клетками, экспрессирующими ТФ, и продолжается на поверхности активированных тромбоцитов.

Первая фаза (самая сложная и продолжительная) происходит с участием клеток, несущих на своей поверхности ТФ, т.е. в случаях, когда субэндотелиальные ткани вступают в контакт с циркулирующей кровью в результате повреждения сосуда. Протеолитический комплекс «ТФ-ФVIIa» активирует незначительные количества ФIХ и ФХ. Затем, на поверхности ТФ-экспрессирующих клеток ФХа связывается с ФVa с образованием протромбиназного комплекса. Заметим, что существует несколько источников ФVa, в том

числе и активированные в месте повреждения сосуда тромбоциты и плазма, где ФV активируется ФХа. Затем протромбиназный комплекс переводит протромбин в незначительные количества тромбина, который ответственен за формирование тромба. Концентрации «ТФ-ФVIIa» и ИПТФ регулируют продолжительность первой фазы свертывания крови. При образовании достаточного количества ФХа он связывается с ИПТФ и формируется четвертичный комплекс ТФ и ФVIIa.

В отличие от ФХа, ФIХа не ингибируется ИПТФ, его активность медленно подавляется лишь антитромбином (АТ). В месте повреждения сосуда растворенная часть (жидкая фаза) ФIХа переходит из ТФ-продуцирующих клеток к тромбоцитам.

Во вторую фазу свертывания низкие концентрации тромбина активируют тромбоциты в месте повреждения сосуда и стимулируют выброс ФV из их α -гранул. Активируется механизм положительной обратной связи, в то время как тромбин активирует выброшенный ФV и связывание ФVIII с фактором фон Виллебранда (ФФВ). Эти активированные факторы связываются с поверхностью тромбоцитов, что обеспечивает образование больших количеств тромбина в третью фазу свертывания крови. Тромбин также активирует связывание ФXI с тромбоцитами. ФXIa, участник внутреннего механизма свертывания крови, усиливает продукции ФIХа на поверхности тромбоцитов и, следовательно, увеличивает образование тромбина [17].

В третью фазу свертывания фосфолипидная мембрана активированных тромбоцитов действует как кофактор активации комплексов «ФVIIa-ФIХа» (называемого «геназой») и «ФVa-ФХа» (называемого «протромбиназой»), которые ускоряют образование ФХа и тромбина, соответственно. Кроме того, ФXIa, связываясь с рецепторами мембраны тромбоцитов, активирует ФIХ с образованием большего количества геназы. Образующийся ФХа быстро связывается с ФVa мембран тромбоцитов, что приводит к лавинообразному росту образования тромбина. Это в свою очередь приводит к переходу больших количества фибриногена в фибрин. Растворимый

фибрин затем стабилизируется FXIIIa, который также активируется тромбином, с образованием нитей фибрина, т.е. тромба.

Тромбомодулин (ТМ), трансмембранная молекула эндотелиальных клеток, также связывает тромбин, и тромбин-тромбомодулиновый комплекс активирует протеин С системы противосвертывания. Активированный протеин С подавляет активность комплекса «FXa-FVa» (т.е. протромбиназы) на поверхности эндотелиальных клеток поврежденного сосуда и, следовательно, третью фазу коагуляции [17]. Однако, лавинообразное образование тромбина также индуцирует активацию карбоксипептидазного тромбин-активируемого ингибитора фибринолиза (КТАИФ), который удаляет плазмин(-оген)-связывающие С-концевые области, и таким образом увеличивает устойчивость сгустка к лизису.

«Классические» мишени для действия антикоагулянтов рассматриваются в контексте применения гепаринов и антагонистов витамина К. Для действия на первую фазу свертывания крови разрабатываются препараты, ингибирующие активность комплекса «TF-FVIIa» (рекомбинантный ИПТФ-тифагозин, рекомбинантный антикоагулянт нематод и др.)

Препараты, действие которых направлено на коагуляционные протеазы третьей фазы, включают лекарственные средства, прямо или опосредованно блокирующие FXa или FXa. Эти препараты уменьшают образование тромбина. С другой стороны, действие активированного протеина С и растворимого ТМ направлено на инактивацию факторов FVa и FVIIIa, необходимых для образования тромбина. К ингибиторам FXa относятся моноклональные антитела и ингибиторы активных центров. Однако, эти препараты еще не достигли финальной фазы клинических испытаний. Синтетическим пентасахаридам присущ не прямой, АТ-зависимый, ингибиторный эффект в отношении FXa. Значительное количество оральных форм прямых ингибиторов FXa находится в различных фазах клинических исследований. Одним из преимуществ представителей этого класса препаратов является их способность блокировать не только свободный FXa, но и FXa, входящий в состав протромбиназного

комплекса, локализующегося на поверхности тромбоцитов. Другим возможным преимуществом этих препаратов является то, что они имеют более широкий диапазон терапевтического действия по сравнению с ингибиторами тромбина и их отмена, вероятно, не сопровождается феноменом рикошета (ребаунд-феномен), проявляющегося в развитии гиперкоагуляции при прекращении введения ингибиторов тромбина.

К новым ингибиторам фибрина относятся прямые ингибиторы тромбина, связывающие тромбин и блокирующие его взаимодействие с субстратами. Это предотвращает образование фибрина и активацию тромбоцитов, факторов V, VIII, XI и XIII. Эти препараты могут также ингибировать тромбин-индуцируемые внутриклеточные пути передачи сигналов, в том числе и тромбин-индуцируемую активацию тромбоцитов. Прямые ингибиторы тромбина также блокируют связывание тромбина с фибрином в дополнении к влиянию на тромбин плазмы [18].

Взаимосвязи между коагуляцией и воспалением

Коагуляция и воспаление пересекаются посредством множества компонентов [19-21]. Оба этих процесса вносят значительный вклад в развитие заболевания, примером которого является формирование тромба на поверхности «взорвавшейся» АБ, содержащей обилие воспалительных клеток. Коагуляционные протеазы влияют на процесс воспаления за счет активации протеазо-активируемых рецепторов (protease-activated receptors, PARs) и влияния на ТМ, связывания активированного протеина С с его рецепторами на поверхности эндотелия [22, 23]. PARs представляют собой семь трансмембранных доменов, а именно, G-протеин-связанные рецепторы, экспрессируемые на поверхности множества клеток (тромбоцитов, эндотелиоцитов, лейкоцитов). Тромбоциты экспрессируют PAR 1 и 4 типов, с которыми связывается тромбин и, следовательно, индуцируется активация тромбоцитов, экспрессия Р-селектина и CD40L, а также выброс воспалительных цитокинов и факторов роста. «Диалоги» между клетками тромбоцитарно-лей-

коцитарных комплексов посредством Р-селектина и CD40L ведут к экспрессии ТФ и большому выбросу цитокинов. PAR1 также связываются с третичным комплексом «ТФ-ФVIIa-ФХа». PAR 2 типа не способны связывать тромбин, но могут по отдельности реагировать с комплексом «ТФ-ФVIIa» и ФХа, что приводит к их активации [24]. Связывание различных коагуляционных протеаз с PARs приводит к стимуляции большого количества генов, вовлеченных в реализацию воспалительного ответа (интерлейкин-8 [ИЛ-8], фактор некроза опухоли- α [ФНО α]). На основе этих данных предпринимаются попытки создания нового класса лекарственных препаратов, предотвращающих активацию PARs.

Эпидемиология применения антикоагулянтов при ССЗ

Ишемическая болезнь сердца

Популяционные исследования, проведенные в Европе в 1999-2001 гг., продемонстрировали, что основная масса пациентов с ОКС (более 90%) получала аспирин в течение всей госпитализации. Примерно 80% больных получали НФГ или НМГ приблизительно в равных долях [25-27]. Частота назначения гепарина незначительно варьировала в зависимости от наличия подъема сегмента ST ЭКГ при поступлении или заключительного диагноза (Q/неQ-инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия). Следует заметить, что использование гепарина существенно различилось по странам. При выписке более 90% больных получало рекомендации о необходимости приема антиагреганта (в основном, аспирина), в одном исследовании 6% пациентов был рекомендован варфарин и в 9% случаях НМГ [27]. В исследовании EUROASPIRE-II анализировалось лечение больных с признаками инфаркта миокарда или миокардиальной ишемии, подвергнутых оперативному вмешательству на коронарных артериях (коронарное шунтирование или ЧКВ) [28]. При поступлении примерно половине больных назначался дезагрегант, 7% - антикоагулянт (который, как можно предположить, был для перорального введения). При выписке 90% больных для даль-

нейшего приема рекомендовался антиагрегант, 12% больным были рекомендованы антикоагулянты (либо для перорального приема, либо подкожное введение НМГ). Следует заметить, что в этом исследовании частота назначения антикоагулянтов существенно различалась среди европейских стран [28].

Фибрилляция предсердий неклапанного генеза

В исследовании Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation анализировались рекомендации европейских кардиологов больным с фибрилляцией предсердий (ФП) в течение 2003-2004 гг. [29]. Большинство пациентов, включенных в исследование, имели факторы риска развития инсульта и, следовательно, показания для перорального назначения антикоагулянтов. Приблизительно 80% больных с персистирующей или постоянной формой ФП получали антикоагулянтную терапию, пациентам с пароксизмальной формой ФП антикоагулянтная терапия назначалась в половине случаев. Только 4% больных с персистирующей или постоянной формами ФП не получали антитромботическую терапию. Есть основания предполагать, что результаты этого исследования несколько завышают частоту использования антикоагулянтов в общей врачебной практике. Согласно результатам этого исследования, только около половины больных с очень высоким риском развития инсульта принимали варфарин [30].

Протезированные клапаны сердца

Назначение оральных форм антикоагулянтов широко практикуется у больных с протезированными клапанами сердца. В то же время они нерегулярно назначаются у больных с митральным стенозом ревматической этиологии при сохраненном синусовом ритме [31].

Сердечная недостаточность

В исследовании PRIME-II анализировалось применение ибупамина у 1825 больных застойной сердечной недостаточности (ЗСН) III-IV функционального класса по классификации

НУНА [32]. В исследовании принимали участие жители 13 европейских стран. Примерно 43% больных принимали антикоагулянты, но частота их назначения варьировала от 19% во Франции до 70% в Нидерландах. Существует косвенное доказательство того, что антикоагулянты назначались вместо антиагрегантов, поскольку в областях с высоким назначением антикоагулянтов назначение антиагрегантов было ниже среднего уровня. Подобные результаты подчеркивают необходимость проведения крупных рандомизированных исследований для решения вопроса о том, какая терапия более целесообразна у больных с СН - антикоагулянтная или антиагрегантная.

Антикоагулянты для парентерального применения: общая фармакология

Гепарин и его производные

В настоящее время используются следующие препараты: нефракционированный гепарин (НФГ), низкомолекулярные гепарины (НМГ) и синтетические пентасахариды (фондапаринукс и идрапаринукс). Все они являются средствами для парентерального применения и должны вводиться либо внутривенно (в/в), либо подкожно (п/к). Они относятся к группе непрямых антикоагулянтов, поскольку для реализации антикоагулянтного эффекта им необходим плазменный кофактор, а именно, эссенциальный АТ. Гепарин и его производные связываются с АТ плазмы, являющимся ингибитором протеаз, что увеличивает способность гепариноидов ингибировать активность ФХа и тромбина.

Нефракционированный гепарин (НФГ)

НФГ известен практически 90 лет. Это продукт естественной жизнедеятельности, который может быть выделен из легких КРС или слизистой оболочки тонкого кишечника свиней. Из-за опасности передачи заболеваний из КРС в настоящее время в качестве источника естественного гепарина используется тонкий кишечник свиньи [33].

Механизм действия. Гепарин состоит из высоко сульфатированных полисахаридных цепочек, молекулярный вес которых колеблется от 3000 до 30 000 Да (средний вес 15 000 Да) [33]. Только 1/3 цепочек гепарина обладает уникальной пентасахаридной последовательностью, высоко аффинной для АТ, и именно эта фракция ответственна за антикоагулянтный эффект гепарина [33]. Цепочки гепарина, лишённые данной пентасахаридной последовательности, обладают минимально выраженной антикоагулянтной активностью при назначении гепарина с профилактической или лечебной целями. При введении больших доз препарата цепочки гепарина с данной пентасахаридной последовательностью или без таковой активируют II кофактор гепарина, второй плазменный кофактор [34]. Но в отличие от АТ, II кофактор гепарина ингибирует только тромбин [34]. В более высоких концентрациях гепарин способствует уменьшению продукции ФХа по механизму, независимому от АТ и кофактора II гепарина [35, 36].

Гепарин катализирует ингибицию тромбина антитромбином за счет одновременного связывания как с АТ (через пентасахаридную последовательность), так и с тромбином (потенциал-зависимое связывание). Формирование этого третичного комплекса «гепарин-АТ-тромбин» связывает ингибитор и фермент воедино и ускоряет процессы их взаимодействия [33]. Затем аргининовый активный центр АТ связывается ковалентно с активным сайтом тромбина с образованием стабильного комплекса «тромбин-АТ». Гепарин отщепляется от этого комплекса и становится способным активировать дополнительные молекулы АТ.

Только цепочки гепарина, состоящие из 18 или большего числа сахаридных единиц (что соответствует молекулярному весу примерно 5400), обладают достаточной длиной для образования связи АТ с тромбином. Производные гепарина, содержащие более короткие пентасахаридные последовательности, могут катализировать ингибицию ФХа антитромбином, поскольку эта реакция не требует связывания. Вместо этого, для катализа ингибиции ФХа гепарину необходимо лишь связаться с АТ через свою пентасахарид-

ную последовательность [33]. Это связывание вызывает конформационные изменения аргининового активного центра антитромбина, что ускоряет его взаимодействие с ФХа.

Фармакокинетика. НФГ следует назначать парентерально. Предпочтительнее в/в постоянная инфузия или п/к инъекции. Для лечения тромбозов различных локализаций п/к следует вводить большие дозы гепарина, чем при в/в инфузии, поскольку биодоступность гепарина при п/к пути введения составляет около 30% [33]. Однако, последний показатель крайне индивидуален [37]. Рабочая группа по тромбозам ЕОК выступает против п/к назначения НФГ в качестве «переходной терапии» при прекращении кратковременной в/в инфузии антагониста витамина К.

В циркулирующей крови за связывание гепарина с АТ конкурируют большое количество белков плазмы, что снижает антикоагулянтную активность препарата. Уровни концентраций гепарин-связывающих белков индивидуальны. Именно концентрации этих белков и обуславливает выраженность антикоагулянтного ответа на введение гепарина, а также формирование резистентности к гепарину [33]. Кроме того, гепарину присуще связывание с эндотелиальными клетками и макрофагами, что усложняет его фармакокинетику.

Процесс выведения гепарина из организма достаточно сложен [33]. Первая фаза (фаза насыщения), вероятно, отражает связывание гепарина с эндотелиальными клетками, тромбоцитами и макрофагами, после чего молекулы гепарина интернализуются и деполимеризируются. После «насыщения» рецепторов клеток гепарином препарат попадает в циркуляторное русло, откуда он более медленно элиминируется почками. При использовании терапевтических доз гепарина значительная часть препарата выводится посредством первого механизма [33].

Сложная кинетика клиренса придает антикоагулянтному действию терапевтических доз НФГ нелинейный характер. Причем пик активности и продолжительность эффекта увеличиваются непропорционально увеличению дозы препарата. Так, средний период полужизни НФГ увеличивается от 30 мин после в/в болюсного введения

25 Ед/кг до 60 мин при болюсном введении 100 Ед/кг и до 150 мин при болюсном введении 400 Ед/кг [33].

Режимы дозирования и мониторинг. Эффективность применения НФГ при лечении венозной тромбоэмболии (ВТЭ) носит дозозависимый характер [38, 39]. Гепарин может назначаться в фиксированной дозировке или из расчета веса тела больного. Кроме того, для облегчения расчетов дозирования НФГ были разработаны специальные номограммы [39]. Дозы НФГ, используемые для лечения ОКС, обычно меньше таковых, применяемых для лечения ВТЭ. Поскольку гепарин связывается с фибрином, подобная разница дозировок, вероятно, отражает более мелкие размеры тромба при артериальном тромбозе по сравнению с размерами такового при венозном.

Поскольку антикоагулянтный ответ на введение НФГ индивидуален, необходимо осуществление мониторинга и коррекции дозы. Наиболее часто используемым лабораторным методом мониторинга является активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ). Мониторинг активированного времени свертывания (АВС) используется при назначении НФГ в более высоких дозах у пациентов, подвергаемых ЧКВ или коронарному (кардиопульмональному) шунтированию.

Результаты выполненного Basu D. et al. (1972) ретроспективного исследования позволили предположить, что значение АЧТВ между 1,5 и 2,5 было связано со снижением риска развития повторной ВТЭ [40]. На основании результатов этого исследования значение отношения АЧТВ (рассчитывается делением достигнутого терапевтического значения АЧТВ на контрольную величину данного реагента), равное 1,5-2,5, принято как диапазон терапевтического действия НФГ. Следует заметить, что клиническое значение этого терапевтического диапазона не ясно, поскольку он никогда не рассчитывался при проведении проспективных исследований и совершенствования лабораторной техники и реагентов. В настоящее время большинство современных коагулометров и реактивов определяют терапевтический диапазон значением АЧТВ, равным 2,0-3,0 [41]. Представители рабочей группы

по тромбозу ЕОК считают, что терапевтический диапазон должен рассчитываться в зависимости от используемого реагента. Кроме того, ученые этой рабочей группы также выступают против использования оценки АЧТВ в секундах при назначении НФГ в лечебных целях.

Побочные эффекты. Кровотечение является основным осложнением гепаринотерапии, лечение которого требует особых подходов (см. ниже).

Другими осложнениями гепаринотерапии являются гепарин-индуцированная тромбоцитопения (ГИТ) и остеопороз. ГИТ вызывается антителами, действие которых направлено непосредственно на неопептид 4-го тромбоцитарного фактора, который экспрессируется при формировании комплексов «гепарин-4 тромбоцитарный фактор». Связываясь с Fc-фрагментами тромбоцитов, эти антитела (являющиеся представителями IgG) могут активировать тромбоциты [42, 43]. Активированные тромбоциты затем удаляются из циркуляторного русла, что вызывает тромбоцитопению. Кроме того, активированные тромбоциты и их микровезикулы служат «площадкой», на которой осаждаются факторы свертывания крови, что в свою очередь стимулирует образование тромбина. Этот феномен, вероятно, объясняет тот факт, почему тромбоцитопения является протромботическим состоянием [42, 43].

Остеопороз развивается при длительном использовании гепарина. По всей видимости, этот процесс является результатом связывания гепарина с остеобластами с последующей активацией остеокластов [33]. До сих пор неизвестно, является ли гепарин-индуцированный остеопороз обратимым состоянием после прекращения введения препарата.

Низкомолекулярные гепарины

Подобно НФГ, НМГ являются продуктами естественного происхождения, получаемыми из НФГ путем химической или ферментативной деполимеризации [33]. НМГ обладают рядом фармакологических и биологических преимуществ по сравнению с НФГ, что делает их более удобны-

ми для введения. Безусловным преимуществом перед гепарином также является тот факт, что представители это класса гораздо реже вызывают ГИТ [33, 44].

Механизм действия. Средний молекулярный вес НМГ составляет примерно 1/3 часть молекулярного веса НФГ и колеблется в среднем от 4000 до 5000 Да, что соответствует 15 сахаридным остаткам. НМГ являются гетерогенными соединениями и состоят из полисахаридных цепочек, молекулярный вес которых колеблется от 2000 до 9000. Приблизительно 1/5 часть этих цепочек обладает именно той полисахаридной последовательностью, которая и придает им антикоагулянтные свойства [33, 44].

В настоящее время для клинического применения доступно несколько представителей группы НМГ. Каждый препарат синтезируется по собственной технологии деполимеризации и поэтому каждый обладает своим уникальным молекулярным профилем, различными фармакокинетическими и антикоагулянтными свойствами. Следует заметить, что НМГ не являются взаимозаменяемыми препаратами.

Подобно НФГ, НМГ осуществляют свой антикоагулянтный эффект за счет активации АТ и ускорения ингибирования последним ФХа и тромбина. Поскольку только пентасахарид-содержащие цепочки, состоящие как минимум из 18 сахаридных остатков, имеют достаточную длину для связывания АТ с тромбином, приблизительно 50-75% цепочек НМГ слишком коротки для катализа ингибиции тромбина. Однако, эти короткие цепочки сохраняют способность ускорять ингибицию ФХа, поскольку эта реакция не требует связывания (bridging). НМГ в большей степени ускоряют ингибицию ФХа нежели ингибицию тромбина. Значение их показателя анти-Ха/анти-IIa колеблется от 2:1 до 4:1 в зависимости от собственного молекулярного профиля. Так, к примеру, отношения анти-Ха/анти-IIa у НФГ составляет 1 [33, 44] (табл. 1). По сравнению с НФГ НМГ значительно уменьшают выброс фактора фон Виллебранда, который является предиктором клинических исходов при ОКС без подъема сегмента ST (ОКСБПcST) и инфаркте миокарда с подъемом сегмента ST (ИМСПcST) [47, 48]. НМГ

также усиливают выброс ИПТФ, что ингибирует образование комплексов «ТФ-ФVIIa» [49]. Однако клиническое значение этих свойств продолжает оставаться неизученным.

Таблица 1

Значения отношений анти-Ха/анти-IIa низкомолекулярных гепаринов

Препараты	Анти-Ха (МЕд/мг сухого вещества)	Анти-IIa (МЕд/мг сухого вещества)	Значение отношения
Эноксапарин	103	25	4,1
Надропарин	104	30	3,5
Ревипарин	127	36	3,5
Далтепарин [45]	167	64	2,6
Тинзапарин	100	54	1,9
Цертопарин	106	45	2,4
НФГ [45]	193	193	1

Фармакокинетика. НМГ имеют ряд фармакокинетических преимуществ перед НФГ. Биодоступность НМГ после п/к инъекции превышает 90%, что, вероятно, отражает лучшую абсорбцию более коротких цепочек гепарина из места инъекции. При введении НМГ развивается более предсказуемый антикоагулянтный ответ, чем после введении НФГ, поскольку у коротких цепей имеется меньшая аффинность связывания гепарина с белками плазмы. Кроме того, у НМГ имеется больший период полужизни (полувыведения), причем этот период не является дозозависимым. Эти феномены отражают сниженное (уменьшенное) связывание НМГ с эндотелием.

НМГ элиминируются в основном почками, следовательно, кумуляция может наблюдаться у больных с нарушенной функцией почек.

Режимы дозирования и мониторинг. Как правило, НМГ назначаются в фиксированных дозировках или дозировках, рассчитанных на основе веса тела пациента. Особенно тщательный мониторинг следует проводить у пациентов с ожирением, почечной недостаточностью, при назначении этих препаратов в терапевтических дозировках во время беременности. Рекомендуемым тестом мониторинга является определение анти-Ха уровня [33]. НМГ лишь незначительно

удлиняют АЧТВ, это наблюдается гораздо реже, чем при использовании НФГ, поэтому определение этого показателя для проведения динамического наблюдения не рекомендуется [33].

Результаты недавно проведенных исследований позволили предположить, что у больных с ожирением НМГ могут назначаться в зависимости от веса тела. Мета-анализ, включивший 921 пациента с ИМТ более 30, не показал увеличения частоты развития крупных кровотечений при введении НМГ с использованием этого метода дозирования [50]. Адекватное дозирование НМГ у больных с нормальной функцией почек менее ясное. Существует обратная взаимосвязь между клиренсом креатинина и уровнем анти-Ха [51, 52], а риск развития кровотечений при введении НМГ выше у пациентов с нарушенной функцией почек [50, 53]. У пациентов с тяжелым нарушением функции почек препаратом выбора является НФГ.

Побочные эффекты. Как и для всех антикоагулянтов, основным побочным действием НМГ является развитие кровотечений (см. ниже).

ГИТ реже развивается при использовании НМГ, чем при применении НФГ [42, 54]. Это отражает факт, что НМГ обладают меньшей аффинностью к тромбоцитам и вызывают менее значимый выброс 4 тромбоцитарного фактора по сравнению с НФГ. Кроме того, в случае выброса 4 тромбоцитарного фактора меньшая аффинность НМГ к нему приводит к образованию меньшего количества комплексов «гепарин-4 тромбоцитарный фактор», которые являются антигенными мишенями для ГИТ-антител [42]. Однако, НМГ могут образовывать комплексы с 4 тромбоцитарным фактором, которые способны связываться с ГИТ-антителами. Этот феномен, вероятно, объясняет перекрестную реактивность НМГ у пациентов с ГИТ. Следовательно, НМГ не должны использоваться в качестве альтернативных препаратов у больных с подозрением на ГИТ или наличием последней.

Риск развития остеопороза ниже при использовании НМГ, чем при использовании НФГ. Это, вероятно, отражает меньшую аффинность НМГ к клеткам костной ткани. В небольших клинических исследованиях не было показано, что

НМГ уменьшают плотность костной ткани при назначении в профилактических или терапевтических дозировках [55-57].

Пentasахариды: фондапаринукс и идрапаринукс

Сравнительно новым производным гепарина является фондапаринукс, синтетический аналог пентасакхаридной последовательности, представленной у НФГ и НМГ и опосредующей их взаимодействие с АТ [58, 59].

Для фондапаринукса свойственны все фармакологические и биологические преимущества НМГ над НФГ. Однако, по сравнению с НМГ, фондапаринукс селективно ингибирует ФХа без специфического угнетения активности тромбина. Являясь синтетической молекулой, фондапаринукс лишен свойства антигенности. Производное фондапаринукса, идрапаринукс, является синтетическим длительно действующим сульфатированным производным фондапаринукса с увеличенным периодом полужизни.

Механизм действия. Молекулярный вес фондапаринукса составляет 1728 Да [58, 59]. По сравнению с естественными пентасакхаридами-производными гепарина, его структура была изменена таким образом, чтобы усилить аффинность с АТ. Специфическая анти-Ха активность фондапаринукса приблизительно в семь раз выше, чем у НМГ (около 700 анти-Ха Ед/мг и 100 анти-Ха Ед/мг, соответственно). Фондапаринукс обратимо связывается с АТ, производя необратимые конформационные изменения в реактивном центре петли АТ, что усиливает его способность связываться с ФХа приблизительно на два порядка. Поскольку молекула слишком коротка для образования «мостика» между АТ и тромбином, фондапаринукс не влияет на АТ-опосредованную ингибицию тромбина.

Биодоступность фондапаринукса после п/к введения составляет 100%, что выше, чем у НМГ и многократно выше, чем у НФГ. Лекарство быстро абсорбируется, период полужизни составляет 17 часов у молодых больных и 21 час у пациентов старших возрастных групп. Подобная разница в полужизни, вероятно, связана со снижением функции почек у пациентов пожилого и старчес-

кого возраста. Фондапаринукс экстретируется в неизменном виде с мочой [58, 60]. Поэтому его не следует назначать пациентам с клиренсом креатинина менее 30 мл/мин.

При введении фондапаринукса развивается прогнозируемый антикоагулянтный эффект, демонстрирующий линейную фармакокинетику при п/к введении препарата в дозе от 2 до 8 мг [58, 59]. Он не связывается с белками плазмы крови, именно этот факт объясняет развитие более предсказуемого антикоагулянтного эффекта по сравнению с гепарином.

Подобно фондапаринуксу, идрапаринукс является селективным непрямым ингибитором ФХа [61]. Аффинность идрапаринукса к АТ в 10 раз выше таковой по сравнению с фондапаринуксом. Вероятно, именно большее «сродство» к АТ и объясняет длительный период полужизни в плазме крови (такой же как и у АТ, около 80 часов). Активность анти-Ха и ингибция образования тромбина при использовании идрапаринукса являются дозозависимыми.

Режим дозирования. Фондапаринукс назначается подкожно, однократно в сутки в фиксированной дозировке. Доза 2,5 мг используется у пациентов с ОКС с подъемом или без подъема сегмента ST, а также для профилактики тромбозов у пациентов. Доза 7,5 мг используется для лечения ВТЭ. Из-за длительного периода полужизни идрапаринукс можно назначать 1 раз в неделю [61].

Мониторинг. В клинических исследованиях не проводился мониторинг показателей системы гемостаза. Доказано, что оба препарата практически не влияют на показатели рутинно используемых тестов коагуляции (АЧТВ или АВС) [62]. Поэтому для мониторингования состояния свертывающей системы крови больных эти тесты не используются. При необходимости мониторингования, антикоагулянтная активность препаратов должна производиться с определением анти-Ха-активности с использованием фондапаринукса или идрапаринукса в качестве относительного стандарта.

Побочные эффекты. Помимо кровотечений (см. ниже), побочные эффекты фондапаринукса и идрапаринукса в основном неизвестны. В отличие от НФГ или НМГ, фондапаринукс не вызы-

вает ГИТ и с успехом используется для лечения этого состояния. Он также с успехом применялся у пациентов с уртикарной сыпью в местах введения НМГ. Следует сказать, что в доступной нам литературе мы не встретили результатов клинических исследований, оценивавших влияние этих препаратов на костную ткань. Тем не менее, имеющиеся данные позволяют предположить, что фондапаринукс в меньшей степени влияет на костную ткань в отличие по сравнению с НФГ или НМГ [63, 64].

Прямые ингибиторы тромбина для парентерального введения

В отличие от непрямых ингибиторов тромбина (НФГ, НМГ или пентасакхаридов), действующих как катализаторы ингибиции тромбина анти-тромбином или II кофактором гепарина, прямые ингибиторы тромбина (ПИТ) непосредственно связываются с тромбином и блокируют его взаимодействие с субстратами, что предотвращает образование фибрина, тромбин-опосредованную активацию FV, VIII, XI или XIII и тромбин-индуцируемую агрегацию тромбоцитов.

Гирудины были первыми полипептидами, выделенными из слюны медицинских пиявок. Они являются бивалентными ингибиторами, которые, как правило, связываются с активным центром и фибрин-связывающим центром тромбина с последующим образованием комплекса «гирудин/тромбин». Они элиминируются через почки с периодом полужизни 90-120 минут при в/в введении и 120-180 минут при подкожном. В Европе используются две формы препаратов этого класса: дезирудин и лепирудин. Последний препарат (период полужизни 90 минут) одобрен для в/в введения при лечении ГИТ. Следует заметить, что не существует селективного антагониста, способного подавлять сверх-коагуляцию при введении гирудинов.

Бивалирудин, ранее известный как гирулол, представляет собой последовательность из 20 аминокислот и является синтетическим аналогом гирудина. Подобно оригинальным молекулам является бивалентным ингибитором тромбина. Однако, бивалирудин медленно освобождается

от тромбина, восстанавливая функцию активного центра фермента. Период полужизни бивалирудина около 25 минут, его деградация осуществляется комбинацией печеночного метаболизма и протеолиза, незначительная часть препарата выводится через почки. Не существует селективного антагониста антикоагулянтного действия бивалирудина.

Аргатробан представляет собой синтетическую унивалентную молекулу, конкурентно и обратимо ингибирующую активный центр свободного и фибрин-связанного тромбина. Период полужизни препарата составляет 45 минут, он метаболизируется в печени с образованием трех активных промежуточных продуктов. Не существует селективного антагониста для антикоагулянтного действия аргатробана. Как класс препаратов ПИТ обладают рядом потенциальных биологических и фармакокинетических преимуществ перед гепаринами. В отличие от НФГ и НМГ, ПИТ инактивируют фибрин-связанный тромбин в дополнении к растворенному тромбину. Вследствие этого ПИТы более эффективно подавляют процессы фиксации тромба. Кроме того, ПИТы дают более предсказуемый антикоагулянтный эффект по сравнению с гепаринами, поскольку они не связываются с белками плазмы и не нейтрализуются 4 тромбоцитарным фактором. В Северной Америке и Европе были лицензированы три парентеральные формы ПИТ для ограниченного применения. Использование гирудина и аргатробан одобрено для лечения ГИТ, в то время как бивалирудин рассматривается как альтернатива гепарина у пациентов, подвергаемых ЧКВ.

Сравнение фармакологических свойств НФГ, НМГ, пентасакхаридов и ПИТ

Сравнительная характеристика фармакологических свойств основных классов лекарственных ингибиторов тромбина приведена в табл. 2.

АТ-действие при п/к введении НФГ лимитируется в основном за счет низкой биодоступности, неспецифического связывания с белками плазмы, нейтрализации 4 тромбоцитарным фак-

Сравнение фармакологических свойств различных ингибиторов тромбина, применяющихся в современной клинической практике

Свойства	НФГ	НМГ	Пентасахариды	ПИТы
Необходимость наличия кофактора	+++	+++	+++	-
Клинически значимая экскреция через почки	±	++	+	++
Неспецифичное связывание с белками	+++	+	+	-
Биодоступность при п/к или пероральном введении	+ (для п/к НФГ)	++	+++	+ (для пероральных форм ПИТ)
Предсказуемость фармакологического эффекта	-	++	++	++
Угнетение образования тромбина	++	++	++	+
Угнетение активности тромбина	+++	+	-	+++
Угнетение связанного тромбина	-	-	-	+++
Усиление образования тромбина при прекращении лечения	+++	++	-	++
Активация тромбоцитов	+++	+	-	-
Аутоиммунная тромбоцитопения	+++	+	-	-
Снижение плотности костной ткани	+++	+	-	-

Примечание. «-» - отсутствует; «±» - крайне редко; «+» - присутствует в малой степени; «++» - присутствует в средней степени; «+++» - присутствует в высокой степени

тором и отсутствия действия на фибрин-связанный тромбин [49]. Доказаны протромботические свойства, связанные с активацией тромбоцитов [65] и усилением образования тромбина после прекращения введения [33].

Из-за уменьшенного неспецифического связывания с белками и уменьшенной нейтрализации 4 тромбоцитарным фактором практически полностью исчезает необходимость мониторинга показателей системы гемостаза.

Фондапаринукс и идрапаринукс имеют черты, отличающие их от НМГ. Поскольку их молекулы слишком коротки для образования «мостиков» между АТ и тромбином, эти препараты увеличивают скорость инактивации ФХа антитромбином, тем самым, блокируя образование тромбина, но не влияя на его активность. Оба препарата обладают практически полной биодоступностью после п/к введения. Ни фондапаринукс, ни идрапаринукс не взаимодействуют с белками плазмы, за исключением АТ. Вследствие этого при введении этих препаратов развивается прогнозируемый антикоагулянтный эффект, что исключает необходимость мониторинга показателей рутинных коагуляционных тестов [66].

ПИТы (табл. 2) не связываются с белками плазмы, что обеспечивает более предсказуемый фармакологический ответ по сравнению с НФГ. На них не влияет 4 тромбоцитарный фактор. Кроме того, представители этой группы препаратов активны в отношении фибрин-связанного тромбина. Однако, поскольку они непосредственно (стехиометрические) связываются с тромбином в соотношении 1:1, количество ингибируемого тромбина пропорционально концентрации ПИТ. Это является основным ограничением их действия. Увеличение их концентрации с целью большей ингибиции образования тромбина сопровождается с увеличением частоты развития кровотечений [49].

**Антагонисты витамина К:
общая фармакология**

Механизм действия. Антагонисты витамина К (АВК) осуществляют свой антикоагулянтный эффект за счет влияния на процессы γ-карбоксилирования и, следовательно, активации витамин К-зависимых факторов свертывания крови II, VII, IX и X [67].

Терапия АВК: взаимодействие с пищевыми продуктами и лекарственными препаратами

На фармакокинетику и фармакодинамику АВК существенно влияют различные препараты и пищевые продукты [67]. В связи с этим очень часто при профилактике и лечении тромбоэмболических осложнений требуется изменение дозы АВК и более частый контроль значений МНО. Следует заметить, что уровни доказательности при использовании АВК были пересмотрены в 2004 г. [67, 68].

Лабораторный контроль. Определение протромбинового времени (ПТВ) является чувствительным для выявления ингибции факторов, карбоксилирование которых подавляется АВК. В течение десятилетий этот тест используется для мониторинга выраженности (интенсивности) пероральной антикоагулянтной терапии. Определение ПТВ выполняется с добавлением кальция и тромбопластина к цитратной плазме. Следует подчеркнуть, что определение ПТВ не стандартизовано при лечении антагонистами витамина К. Экспертами ВОЗ по стандартизации было доказано, дозировки варфарина, основного перорального антикоагулянта, значительно варьируют в зависимости от производителя применяемых реагентов тромбопластина, используемых для определения ПТВ. Поэтому в ранних исследованиях очень часто регистрировался повышенный риск развития кровотечений при передозировке или неудовлетворительный уровень гипокоагуляции вследствие недостаточности дозировки препарата [69, 70]. Проблема также заключается еще и в том, что различные тромбопластины обладают различной «чувствительностью» при уменьшения витамин К-зависимых факторов свертывания крови. Использование реагента «нечувствительного» тромбопластина даст меньшее удлинение ПТВ при конкретном уменьшении витамин К-зависимых факторов свертывания по сравнению с «чувствительным». В связи с этим в 1983 г. комитет экспертов ВОЗ по стандартизации разработал «золотой стандарт» в виде МНО [69, 71]. Чувствительность тромбопластина определялась путем оценки между-

народного индекса чувствительности (МИЧ). В настоящее время используются высокочувствительные тромбопластины (МИЧ $\approx 1,0$), состоящие в основном из тканевого фактора человека или кролика, полученного по рекомбинантной технологии. Заключения о значениях ПТВ в настоящее время даются за счет конвертации отношения ПТВ, измеренного с использованием «локального» тромбопластина, в МНО, вычисляемого по следующей формуле:

$$\text{МНО} = (\text{ПТВ пациента} / \text{geometric среднее нормальной ПТВ})^{\text{МИЧ}}$$

Или

$$\text{Log МНО} = \text{МИЧ}$$

(log полученного отношения ПТВ),

где МИЧ - МИЧ тромбопластина, использованного в местной лаборатории для определения ПТВ. МИЧ отражает чувствительность конкретного тромбопластина к уменьшению витамин К-зависимых факторов свертывания [67].

История стандартизации ПТВ изложена в обзоре Poller [72]. Однако, система МНО для стандартизации ПТВ была изначально основана на ручном определении ПТВ и величины МИЧ для каждого набора тромбопластиновых реагентов [69, 70]. Но в последние годы ручное определение ПТВ было практически повсеместно вытеснено коагулометрами. Результаты исследований демонстрируют, что МИЧ тромбопластиновых реагентов различаются в зависимости от типа используемого оборудования [73-76]. Некоторые производители предложили использовать «инструмент-специфичный» МИЧ, но это не решало проблему полностью из-за обилия на рынке возможных комбинаций «прибор/реагент». Кроме того, величины МИЧ часто различаются при использовании тромбопластинового реагента в одинаковых приборах. Следовательно, калибровка МИЧ использованием конкретной ПТВ-системы (т.е. тромбопластин-коагулометр) представляет собой достаточно актуальную проблему. Калибровка МИЧ с использованием рекомендуемых ВОЗ процедур не всегда возможна в рутинной клинической практике по ряду причин, в том числе и из-за необходимости ручного

Определения, номенклатура реагентов и показателей для мониторинга АВК

Сертифицированная плазма	Плазма с установленным значением ПТВ (в сек) или значением МНО
МИЧ-калибровка	Определение МИЧ согласно рекомендациям ВОЗ (1999)
Среднее нормальное протромбиновое время согласно рекомендациям ВОЗ (1999), СТПТВ	Геометрическое (логарифмическое) среднее значение ПТВ здоровой взрослой популяции. Для практических целей геометрическое среднее значение ПТВ вычисляется с использованием как минимум 20 свежих образцов здоровых людей обоих полов
Тест система	Комбинация тромбопластина и прибора для определения ПТВ
МИЧ-калибровка местной тест-системы	Определение МИЧ на данной тест-системе с использованием сертифицированной плазмы
«Прямое» определение МНО	Альтернативный подход к определению МНО с использованием сертифицированной плазмы, но без определения МИЧ или СТПТВ

определения ПТВ с использованием ВОЗ-стандартизированной тромбопластина, который не всегда доступен для клинических лабораторий. Более того, процедура ВОЗ по калибровке МИЧ требует наличия 60 образцов плазмы больных, стабильно получающих антикоагулянтную терапию, и 20 свежих образцов плазмы здоровых субъектов (см. табл. 3. для определения терминов).

Чтобы избежать указанных выше сложностей, в настоящее время лаборатории могут калибровать их собственную тест-систему с использованием сертифицированной плазмы, поставляемой производителями лабораторного оборудования или реактивов. В 2004 г. рабочей группой Международного общества по тромбозу и гемостазу (подкомитет контроля антикоагуляции) было опубликовано руководство по приготовлению, сертификации и использованию сертифицированной плазмы [77].

В настоящее время существует еще один метод «локальной» калибровки. В исследовании European Concerted Action on Anticoagulation (ЕСАА) было показано, что для калибровки по стандартам ВОЗ требуемое количество лиофилизированной плазмы больных, получающих антикоагулянтную терапию (60 образцов), может быть уменьшено до 20, если в процесс калибровки включить 7 образцов лиофилизированной плазмы здоровых добровольцев [78]. Большее уменьшение количества сопровождалось со снижением точности калибровки и, следовательно,

увеличением вариабельности значений МНО [79, 80].

При прямом определении значения МНО применяется сертифицированная плазма для вычисления логарифмического отношения ПТВ к МНО [77] с использованием метода ортогональной регрессии [77, 81] (табл. 3).

Режим дозирования. Широкое назначение АВК началось сравнительно недавно. Первые доказательства положительного влияния при введении низких доз АВК были получены в исследованиях, проведенных в Великобритании и Нидерландах (использовалась система лабораторного контроля ВОЗ) [69, 70]. В настоящее время список заболеваний, при которых показано применение АВК, продолжает расширяться. В связи с этим увеличивается количество пациентов, требующих коррекции доз антикоагулянтов, а также количество клиник, в лабораториях которых возможна точная оценка антикоагулянтных сдвигов. Одним из способов сохранения стандартов, достигнутых в специализированных клиниках, является метод компьютеризированного расчета дозировок антикоагулянтов. Жизнеспособность этого метода дозирования АВК было впервые продемонстрировано в исследовании ЕСАА [82].

Обычно в клинической практике лечение АВК начинают со стартовой дозировки с последующей коррекцией суточной дозы в соответствии с результатами значений МНО образцов крови, получаемых в течение ближайших 5-7 дней. Поскольку антикоагулянтный эффект вар-

фарина развивается относительно медленно (как правило, спустя несколько дней), на начальных этапах лечения пациентов с высоким риском развития тромбоемболических осложнений или тромбозом его следует назначать в комбинации с гепарином. После достижения целевого значения МНО лечение продолжают назначением поддерживающей дозировки варфарина [82].

Пациенты должны повторять анализ для подтверждения достижения/поддержания целевого МНО. При длительном лечении, после периода достижения целевого уровня МНО, интервал

между повторными анализами крови может быть увеличен до 4 недель. Следует заметить, что доза АВК, необходимая для достижения целевого значения МНО, может быть установлена с использованием алгоритмов или специальных таблиц. Для упрощения процесса мониторинга антикоагулянтной терапии и дозировок были разработаны специальные компьютерные программы, которые также указывают пациенту на неадекватный контроль МНО и рассчитывают интервалы времени между последующими измерениями [82].

Литература

1. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European society of cardiology. Patrono C., Bachmann F., Baigent C., et al. *Eur Heart J* 2004; 25: 166-181.
2. *Davie E.W.* The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. *Davie E.W., Fujikawa K., Kisiel W. Biochemistry* 1991; 30: 10363-10370.
3. *Libby P.* Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization. *Am J Cardiol* 2000; 86: 3J-9J.
4. *Fuster V., Moreno P.R., Fayad Z.A., et al.* Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *JACC* 2005; 46: 937-954.
5. *Hansson G.K.* Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-1695.
6. *Hoffman M, Monroe D.M.* A cell-based model of hemostasis *Thromb Haemost* 2001; 85: 958-965.
7. *Monroe D.M., Hoffman M., Roberts H.R.* Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1381-1389.
8. *Eilertsen K.E., Osterud B.* Tissue factor: (patho)physiology and cellular biology. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15: 521-538.
9. *Belting M., Dorrell M.I., Sandgren S., et al.* Regulation of angiogenesis by tissue factor cytoplasmic domain signaling. *Nat Med* 2004; 10: 502-509.
10. *Rao L.V., Pendurthi U.R.* Tissue factor-factor VIIa signaling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 47-56.
11. *Siegbahn A., Johnell M., Sorensen B.B., et al.* Regulation of chemotaxis by the cytoplasmic domain of tissue factor. *Thromb Haemost* 2005; 93: 27-34.
12. *Broze G.J., Warren L.A., Novotny W.F., et al.* The lipoprotein-associated coagulation inhibitor that inhibits the factor VII-tissue factor complex also inhibits factor Xa: insight into its possible mechanism of action. *Blood* 1988; 71: 335-343.
13. *Lwaleed B.A., Bass P.S.* Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol* 2006; 208: 327-339.
14. *Bajaj M.S., Kuppuswamy M.N., Saito H., et al.* Cultured normal human hepatocytes do not synthesize lipoprotein-associated coagulation inhibitor: evidence that endothelium is the principal site of its synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 8869-8873.

15. Sandset P.M., Abildgaard U., Larsen M.L. Heparin induces release of extrinsic coagulation pathway inhibitor (EPI). *Thromb Res* 1988; 50: 803-813.
16. Mann K.G. Thrombin formation. *Chest* 2003; 124: 4S-10S.
17. Monroe D.M., Hoffman M. What does it take to make the perfect clot? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 26: 41-48.
18. Linkins L.A., Weitz J.I. New anticoagulant therapy. *Annu Rev Med* 2005; 56: 63-77.
19. Cicala C., Cirino G. Linkage between inflammation and coagulation: an update on the molecular basis of the crosstalk. *Life Sci* 1998; 62: 1817-1824.
20. Esmon C.T. Inflammation and thrombosis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1343-1348.
21. Levi M., van der Poll T. Two-way interaction between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med* 2005; 15: 254-259.
22. Esmon C.T. Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas* 2004; 47: 305-314.
23. Coughlin S.R. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1800-1814.
24. Ruf W., Dorfleutner A., Riewald M. Specificity of coagulation factor signaling. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1495-1503.
25. Fox K.A., Cokkinos D.V., Deckers J., et al. The ENACT study: a pan-European survey of acute coronary syndromes. European Network for Acute Coronary Treatment. *Eur Heart J* 2000; 21: 1440-1449.
26. Fox K.A., Goodman S.G., Klein W., et al. Management of acute coronary syndromes. Variations in practice and outcome; findings from the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Eur Heart J* 2002; 23: 1177-1189.
27. Hasdai D., Behar S., Wallentin L., et al. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes in patients with acute coronary syndromes in Europe and Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J* 2002; 23: 1190-1201.
28. Lifestyle and risk factor management and use of drug therapies in coronary patients from 15 countries; principal results from EUROASPIRE II Euro Heart Survey Program. *Eur Heart J* 2001; 22: 554-572.
29. Nieuwlaat R., Capucci A., Camm A.J., et al. Atrial fibrillation management: a prospective survey of ESC member countries: the Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation. *Eur Heart J* 2005; 26: 2422-2434.
30. DeWilde S., Carey I.M., Emmas C., et al. Trends in the prevalence of diagnosed atrial fibrillation, its treatment with anticoagulation, and predictors of such treatment in UK primary care. *Heart* 2005; 92: 1064-1070.
31. Salem D.N., Stein P.D., Al-Ahmad A., et al. Antithrombotic therapy in valvular heart disease – native and prosthetic: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 457S-482S.
32. van Veldhuisen D.J., Charlesworth A., Crijns H.J., et al. Differences in drug treatment of chronic heart failure between European countries. *Eur Heart J* 1999; 20: 666-672.
33. Hirsh J., Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 188S-203S.
34. Tollefsen D.M., Majerus D.W., Blank M.K. Heparin cofactor II. Purification and properties of a heparindependent inhibitor of thrombin in human plasma. *J Biol Chem* 1982; 257: 2162-2169.
35. Barrow R.T., Parker E.T., Krishnaswamy S., Lollar P. Inhibition by heparin of the human blood coagulation intrinsic pathway factor X activator. *J Biol Chem* 1994; 269: 26796-26800.
36. Sheehan J.P., Kobbervig C.E., Kirkpatrick H.M. Heparin inhibits the intrinsic tenase complex by interacting with an exosite on factor IXa. *Biochemistry* 2003; 42: 11316-11325.
37. Dawes J., Bara L., Billaud E., Samama M. Relationship between biological activity and concentration of a low-molecular-heparin (PK 10169) and unfractionated heparin after intravenous and subcutaneous

- administration. *Haemostasis* 1986; 16: 116-122.
38. Hull R.D., Raskob G.E., Hirsh J., et al. Continuous intravenous heparin compared with intermittent subcutaneous heparin in the initial treatment of proximal-vein thrombosis. *N Engl J Med* 1986; 315: 1109-1114.
 39. Raschke R.A., Reilly B.M., Guidry J.R., et al. The weight-based heparin dosing nomogram compared with a 'standard care' nomogram. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 1993; 119: 874-881.
 40. Basu D., Gallus A., Hirsh J., Cade J. A prospective study of the value of monitoring heparin treatment with the activated partial thromboplastin time. *N Engl J Med* 1972; 287: 324-327.
 41. Bates S.M., Weiltz J.I., Johnston M., et al. Use of fixed activated partial thromboplastin time ratio to establish a therapeutic range for unfractionated heparin. *Arch Intern Med* 2001; 161: 385-391.
 42. Greinacher A., Warkentin T.E. Recognition, treatment, and prevention of heparin-induced thrombocytopenia: review and update. *Thromb Res* 2005.
 43. Arepally G.M., Ortel T.L. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2006; 355: 809-819.
 44. Weitz J.I. Low-molecular-weight heparins. *N Engl J Med* 1997; 337: 688-698.
 45. Hirsh J., Warkentin T.E., Raschke R., et al. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy and safety. *Chest* 1998; 114: 489S-510S.
 46. Bergqvist D., Burmark U.S., Flordal P.A., et al. Low molecular weight heparin started before surgery as prophylaxis against deep vein thrombosis: 2500 versus 5000 Xal units in 2070 patients. *Br J Surg* 1995; 82: 496-501.
 47. Montalescot G., Philippe F., Ankri A., et al. Early increase of von Willebrand factor predicts adverse outcome in unstable coronary artery disease: beneficial effects of enoxaparin. French Investigators of the ESSENCE Trial. *Circulation* 1998; 98: 294-299.
 48. Montalescot G., Bal-dit-Sollier C., Chibedi D., et al. Comparison of effects on markers of blood cell activation of enoxaparin, dalteparin, and unfractionated heparin in patients with unstable angina pectoris or non-ST-segment elevation acute myocardial infarction (the ARMADA study). *Am J Cardiol* 2003; 91: 925-930.
 49. Antman E.M. The search for replacements for unfractionated heparin. *Circulation* 2001; 103: 2310-2314.
 50. Spinler S.A., Inverso S.M., Cohen M., et al. Safety and efficacy of unfractionated heparin versus enoxaparin in patients who are obese and patients with severe renal impairment: analysis from ESSENCE and TIMI 11B studies. *Am Heart J* 2003; 146: 33-41.
 51. Goudable C., Salvin S., Houin G., et al. Pharmacokinetics of low molecular weight heparin (Fraxiparine) in various stages of chronic renal failure. *Nephron* 1991; 59: 543-545.
 52. Becker R.C., Spencer F.A., Gibson M., et al. Influence of patient characteristics and renal function on factor Xa inhibition pharmacokinetics and pharmacodynamics after enoxaparin administration in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2002; 143: 753-759.
 53. Cestac P., Bagheri H., Lapeyre-Mestre M., et al. Utilisation and safety of low molecular weight heparins: prospective observational study in medical inpatients. *Drug Saf* 2003; 26: 197-207.
 54. Warkentin T.E., Levine M.N., Hirsh J., et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995; 332: 1330-1335.
 55. Casele H.L., Laifer S.A. Prospective evaluation of bone density in pregnant women receiving the low molecular weight heparin enoxaparin sodium. *J Matern Fetal Med* 2000; 9: 122-125.
 56. Pettila V., Leinonen P., Markkola A., et al. Postpartum bone mineral density in women treated for thromboprophylaxis with unfractionated heparin or LMW heparin. *Thromb Haemost* 2002; 87: 182-186.

57. Wawrzynska L., Tomkowski W.Z., Przedlacki J., et al. Changes in bone density during longterm administration of low-molecular-weight heparins or acenocoumarol for secondary prophylaxis of venous thromboembolism. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003; 33: 64-67.
58. Bauer K.A. Fondaparinux: a new synthetic and selective inhibitor of Factor Xa. *Best Pract Res Clin Haematol* 2004; 17: 89-104.
59. Tan K.T., Lip G.Y. Fondaparinux. *Curr Pharm Des* 2005; 11: 415-419.
60. Lisman T., Bijsterveld N.R., Adelmeijer J., et al. Recombinant factor VIIa reverses the in vitro and ex vivo anticoagulant and profibrinolytic effects of fondaparinux. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 2368-2373.
61. Herbert J.M., Herault J.P., van Amsterdam R.G., et al. Biochemical and pharmacological properties of SANORG 340006, a potent and long-acting synthetic pentasaccharide. *Blood* 1998; 91: 4197-4205.
62. Linkins L.A., Julian J.A., Rischke J., et al. In vitro comparison of the effect of heparin, enoxaparin and fondaparinux on tests of coagulation. *Thromb Res* 2002; 107: 241-244.
63. Handschin A.E., Trentz O.A., Hoerstrup S.P., et al. Effect of low molecular weight heparin (dalteparin) and fondaparinux (Arixtra) on human osteoblasts in vitro. *Br J Surg* 2005; 92: 177-183.
64. Matziolis G., Perka C., Disch A., Zippel H. Effects of fondaparinux compared with dalteparin, enoxaparin and unfractionated heparin on human osteoblasts. *Calcif Tissue Int* 2003; 73: 370-379.
65. Salzman E.W., Rosenberg R.D., Smith M.H., et al. Effect of heparin and heparin fractions on platelet aggregation. *J Clin Invest* 1980; 65: 64-71.
66. Weitz J.I., Bates S.M. New anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1843-1853.
67. Ansell J., Hirsh J., Poller L., et al. The pharmacology and management of the vitamin K antagonists: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004; 126: 204S-233S.
68. Wittkowsky A.K. Drug interactions update: drugs, herbs, and oral antociagulation. *J Thromb Thrombolysis* 2001; 12: 67-71.
69. WHO Expert Committee on Biological Standartization. Thirty-third report. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1983; 687: 1-184.
70. WHO Expert Committee on Biological Standartization. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1983; 889: 1-111.
71. Kirkwood T.B. Calibration of reference thromboplastins and standartisation of the prothrombin time ration. *Thromb Haemost* 1983; 49: 238-244.
72. Poller L. Progress in standartization in anticoagulant control. *Hematol Rev* 1987; 1: 225-241.
73. Poggio M., van den Besselaar A.M., van der Velde E.A., Bertina R.M. The effect of some instruments for prothrombin time testing on the International Sensitivity Index (ISI) of two rabbit tissue thromboplastin reagents. *Thromb Haemost* 1989; 62: 868-874.
74. Peters R.H., van den Besselaar A.M., Olthuis F.M. A Multi-centre study to evaluate method dependency of the international sensitivity index of bovine thromboplastin. *Thromb Haemost* 1989; 61: 166-169.
75. Ray M.J., Smith I.R. The dependence of the International Sensitivity Index on the coagulometer used to perform the prothrombin time. *Thromb Haemost* 1990; 63: 424-429.
76. van den Besselaar A.M., Houbouyan L.L., Aillaud M.F., et al. Influence of three types of automated coagulometers on the international sensitivity index (ISI) of rabbit, human, and recombinant human tissue factor preparations – a multicenter study. *Thromb Haemost* 1999; 81: 66-70.
77. van den Besselaar A.M., Barrowcliffe T.W., Houbouyan-Reveillard L.L., et al. Guidelines on preparation, certification, and use of certified plasmas for ISI calibration and INR determination. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1946-1953.
78. Poller L., Barrowcliffe T.W., van den Besselaar A.M., et al. Minimum lyophilized plasma requirement for ISI calibration. *European Concerted Action on Anticoagulation. Am J Clin Pathol* 1998; 109: 196-204.

79. *van den Besselaar A.M., Witteveen E., Schaefer-van Mansfeld H., et al.* Effect of plasma pooling on the International Sensitivity Index on prothrombin time systems. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1998; 9: 645-651.
80. *Tripodi A., Chantarangkul V., Manotti C., et al.* A simplified procedure for thromboplastin calibration—the usefulness of lyophilized plasmas assessed in a collaborative study. *Thromb Haemost* 1996; 75: 309-312.
81. *Poller L., van den Besselaar A.M., Jespersen J., et al.* A comparison of linear and orthogonal regression analysis for local INR determination in ECAA coagulometer studies. European Concerted Action on Anticoagulation. *Br J Haematol* 1998; 102: 910-917.
82. *Poller L., Schiach C.R., MacCallum P.K., et al.* Multicentre randomized study of computerized anticoagulant dosage. European Concerted Action on Anticoagulation. *Lancet* 1998; 352: 1505-1509.
83. *Tripodi A., Chantarangkul V., Clerici M., et al.* Determination of the International Sensitivity Index of a new near-patient testing device to monitor oral anticoagulant therapy – overview of the assessment of conformity to the calibration model. *Thromb Haemost* 1997; 78: 855-858.
84. *Poller L., Keown M., Chauhan N., et al.* Reliability of international normalized ratios from two point of care test systems: comparison with conventional methods. *BMJ* 2003; 327: 30.
85. *Poller L., Keown M., Chauhan N., et al.* European concerted action on coagulation. Quality assessment of the CoaguChek Mini and TAS PT-NC point-of-care whole-blood prothrombin time monitors. *Clin Chem* 2004; 50: 537-544.
86. *Meijer P., Kluft C., Poller L., et al.* A national field study of quality assessment of CoaguChek point-of-care testing prothrombin time monitors. *Am J Clin Pathol* 2006; 126: 756-761.
87. *Poller L., Keown M., Ibrahim S.A., et al.* Quality assessment of CoaguChek point-of-care prothrombin time monitors: comparison of the European community-approved procedure and conventional external quality assessment. *Clin Chem* 2006; 52: 1843-1847.
88. *Heneghan C., Alonso-Coello P., Garcia-Alamino J.M., et al.* Self-monitoring of oral anticoagulation: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2006; 367: 404-411.
89. *Gadisseur A.P., Breukink-Engbergs W.G., van der Meer F.J., et al.* Comparison of the quality of oral anticoagulant therapy through patient self-management and management by specialized anticoagulation clinics in the Netherlands: a randomized clinical trial. *Arch Intern Med* 2003; 163: 2639-2646.
90. *Siebenhofer A., Berghold A., Sawicki P.T.* Systematic review of studies of self-management of oral anticoagulation. *Thromb Haemost* 2004; 91: 225-232.
91. *Gadisseur A.P., Kaptein A.A., Breukink-Engbergs W.G., et al.* Patient self-management of oral anticoagulant care vs. management by specialized anticoagulation clinics: positive effects on quality of life. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 584-591.