

## تأثیر داروهای انعقادی بر تست های انعقادی – بخش دوم

### سنجش توان بازدارندگی فاکتور Xa

از آزمایش های سنجش توان بازدارندگی فاکتور ۱۰ فعال (anti Xa) با روش رنگ سنجی یا کروموزنیک در پیگیری درمان با هپارین UFH یا هپارین با وزن مولکولی کم (LMWH) و یا درمان با پنتاساکاریدها (Fondaparinux) بکار می رود. به ویژه زمانی که آزمایش PTT پاسخ مورد انتظار را ندارد. در این آزمایش پلاسمای بیمار به معرف آزمایش که حاوی آنتی ترومبین و نسبتاً مقدار زیادی از فاکتور ۱۰ فعال است افزوده می شود. هپارین موجود در پلاسمای با پیوند آنتی ترومبین موجب خنثی شدن بخشی از فاکتور ۱۰ فعال می شود. فاکتورهای ۱۰ فعال آزاد که خنثی نشده است در مجاورت سوبسترای مصنوعی فاکتور ۱۰ فعال که با پارانیتروانیلن کونژوگه (PNA) شده است قرار می گیرد. رهاشدن رنگ زرد PNA در ارتباط با مقدار فاکتور ۱۰ فعال آزاد و در نتیجه غلظت هپارین در نمونه است.

### مداخله ضد انعقادها روی ارزیابی انعقادی و روش های کنترل

#### • زمان پروترومبین: (PT)

Rivaroxaban به صورت رقابتی و برگشت پذیر با Xa آزاد باند شده و Xa در کمپلکس پروترومبیناز باند می شود. تست PT به کمپلکس پروترومبیناز حساس است و PT تحت تأثیر rivaroxaban به صورت وابسته به غلظت افزایش چند ثانیه ای دارد. از آنجاکه آزمون PT به طور گسترده در آزمایشگاه های کلینیکی به عنوان یک سیستم نظارت کننده برای آنتاگونیست های ویتامین K به کار می رود، تلاش زیادی برای استفاده از این تست برای نظارت ریوارکسابان و حتی برای تطابق سیستم INR برای این فاکتور خوراکی جدید مهارکننده ی Xa شده است. مشخص شده که INR کلاسیک نمی تواند تغییرپذیری

ترومبوپلاستین را در واکنش به این دارو اصلاح کند. سیستم کنترل INR که برای مشتقات کومارین به کار می رود نمی تواند برای کنترل این دارو به کار رود. PT می تواند برای اندازه گیری های کیفی حداکثر غلظت داروی rivaroxaban مثلاً زمانی که بیمار مشکوک به مصرف بیش از حد داروست با یک معرف ترومبوپلاستین حساس به کار می رود. اثر وابسته به دوز ( عوارض جانبی مصرف وابسته به مقدار دارو ) از rivaroxaban روی آزمون PT به طور کامل توسط تولید کننده تعریف می شود.

در بیمارانی که ۱۵ میلی گرم rivaroxaban را دو بار در روز مصرف می کنند، برای PT به کمک معرف Neoplastin plus در زمان حداکثر اثر یعنی ۲ تا ۴ ساعت بعد از مصرف قرص حدود ۱۶ تا ۳۳ ثانیه است و در پایین ترین سطح یعنی ۸ تا ۱۶ ساعت بعد از مصرف قرص، از ۱۴ تا ۲۵ ثانیه می باشد. درجه مقدار PT بین حداکثر غلظت و حداقل غلظت بالاست و حتی معرف حساس ترومبوپلاستین به کار رود.

در apixaban هم به عنوان یک مهار کننده انتخابی مستقیم دیگر فاکتور Xa، طولانی شدن PT وابسته به غلظت است. با این وجود تأثیر apixaban به روی تست PT در مقایسه با rivaroxaban کمتر است. تأثیر dabigatran به عنوان مهار کننده ی ترومبین در PT نیز متغیر است و وابسته به غلظت است.

#### • زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال شده: (aPTT)

aPTT غالباً در کنترل بیماران مصرف کننده هپارین به کار می رود. مهار کننده های مستقیم ترومبین (فاکتور II) شامل hirudin و argatroban و dabigatran خوراکی، تست aPTT را در غلظت بالای پلاسمایی طولانی

می کنند. اگر چه اثر روی aPTT، ۲۴ ساعت بعد مصرف dabigatran به خاطر فارماکوکنتیک آن کاهش می یابد. این تست، تست کیفی برای تست dabigatran است، زیرا در برخی موارد مقادیر aPTT حتی در سطوح حداقل طولانی است. با این وجود معرف های متفاوت حساسیت مختلفی را به dabigatran در یک غلظت پلاسمایی نشان می دهند. طولانی شدن aPTT به صورت خط منحنی نشان داده می شود، که سطوح پایین در غلظت های بالا را قابل توصیف است. به خاطر این مسطح شدن منحنی aPTT در غلظت بالاتر این دارو، دوز بالای تجمع و تراکم دارو با aPTT مشخص نمی گردد.

aPTT < ۸۰ ثانیه، ۱۲ ساعت بعد مصرف دو بار در روز dabigatran (۱۵۰ mg) طبق اظهارات تولید کننده با ریسک بالای خونریزی همراه است. سطوح پلاسمای دبیگاتران > ۲۰۰ ng/mL با دامنه های متغیر aPTT در ارتباط است (۷۰-۵۰، ۱۲ ساعت بعد از مصرف دبیگاتران دوبار در روز). سطوح افزایش یافته ی aPTT پایه می تواند بعنوان یک معیار کیفی از احتمال خطر خونریزی تحت درمان دبیگاتران شناخته شده استفاده شوند.

Rivaroxaban یا apixaban روی aPTT اثر ضعیف تری دارند تا PT. مثل PT، طولانی شدن aPTT ناپایدار است و معرف های متفاوت حساسیت های متفاوت را در یک غلظت مشخص نشان می دهند. اندازه گیری aPTT برای تعیین اثر مهار کننده فاکتور Xa در مقایسه با PT مناسب نیست. آنتی گونیست های ویتامین K مثل وارفارین، aPTT را طی چند ثانیه در بیماران دارای سطح ثابت INR افزایش می دهند. در بیمارانی که اوردوز شده اند aPTT به طور بارزی طولانی است.

#### • زمان ترومبین: (TT)

TT در کنترل بیماران مصرف کننده هپارین غیر شکسته UFH به کار می رود. هپارین به صورت وابسته به دوز باعث افزایش TT می شود. TT بر کنترل ضدانعقاد با هیرودین و دیگر مهارکننده های مستقیم ترومبین بسیار حساس است. TT در اندازه گیری فعالیت ترومبین تحت اثر داروی dabigatran بکار می رود. TT به طور بارزی حتی تا ۲۴ ساعت بعد از مصرف dabigatran به طول می انجامد. در عمل های اورژانس، وقتی شناسایی غلظت کم dabigatran ضروری است، تست TT اطلاعات کیفی را در ارتباط با بروز

دارو حتی در دوزهای بسیار پایین نشان می دهد. اگر چه تست TT نرمال به کنترل غلظت های بالای dabigatran نیز حساس است. تست TT رقیق شده در اندازه گیری غلظت دقیق این دارو بکار می رود. به خاطر منحنی خطی واکنش - دوز، TT رقیق شده در تعیین سطوح حداقل و اوج دارو بکار می رود. همانطور که انتظار می رود آنتاگونیست های ویتامین K و مهار کننده های فاکتور Xa مثل وارفارین روی TT تاثیر ندارند. تحلیل TT می تواند برای تمایزگذاری بین ضدانعقاد های مستقیم خوراکی مختلف (DOAC) در شرایط اضطراری که در آن بیماران به هوش نیستند به کار رود. در مورد دبیگاتران، TT به طول می انجامد در حالی که در مورد ریوارکسaban یا اپیکسابان، TT دارای دامنه ی طبیعی خواهد بود.

#### • سنجش توان بازدارندگی فاکتور Xa:

تحقیقات زیادی استفاده از این آزمون های کروموزنیک آنتی فاکتور Xa را برای تعیین سطح پلاسمای rivaroxaban و apixaban مناسب قلمداد کرده اند. اکنون آزمون های کروموزنیک آنتی فاکتور Xa با استفاده از کالیبراتورها و کنترل rivaroxaban و apixaban که از نظر تجاری در دسترس بوده و قادر به اندازه گیری در آزمایشگاه انعقاد روتین برای غلظت بالا یا پایین پلاسمای باشند.

#### تاثیر ارزیابی های دیگر در آزمایشگاه انعقاد

PT یا aPTT در غربالگری عملکرد مسیر داخلی و خارجی به کار می رود تا فاکتورهای انعقاد بررسی شود. اگر چه ارزیابی های کروموزنیک اختصاصی برای اکثر فاکتورهای انعقادی ایجاد شده است اما اکثر آزمایشگاه ها تست های انعقاد را برای اندازه گیری فاکتورهای انعقادی ترجیح می دهند.

DOAC نیز همانند dabigatran و rivaroxaban به روش وابسته به غلظت و وابسته به معرف مورد استفاده PT و aPTT را افزایش می دهند. از این رو تست های وابسته به PT و aPTT به DOAC هم حساس هستند. غلظت فاکتور به طور کاذب بر حسب نوع و غلظت باقیمانده DOAC کم اندازه گیری می شود که با زمان نمونه گیری خون و مصرف دارو مرتبط است. پروتئین S را نیز می توان با یکی از تست های عملکردی و یا تست های

جدول ۱. تاثیر DOAC روی تست های انعقادی و روش های کنترل DOAC						
Apixaban		Rivaroxaban		Dobigatran		Tests
اثر	کنترل	اثر	کنترل	اثر	کنترل	
↑		بله، اما نه خیلی حساس	↑↑↑↑	↑		PT [INR] یا ثانیه
↑			↑↑	بله، اما نه خیلی حساس	↑↑↑↑	aPTT
-			-	بله، بصورت اصلاح شده	↑↑↑↑↑↑	TT فیبرینوژن روش کلوژ فیبرینوژن مشتق شده
↑		↑			-	آنتی ترومبین تست فاکتور Xa تست فاکتور lia
-		-			↑	
↓		↓			↓↓↓	فاکتور انعقادی داخلی VIII، IX، XI، XII (اگر بر اساس aPTT است)
↓↓↓		↓↓↓			↓	فاکتورهای انعقاد خارجی II، VII، X (اگر بر اساس PT باشد)
-		-			↓↓↓	فاکتور XIII فتومتریک ایمنولوژیکی
↑		↑↑			↑↑	پروتئین S (لختگی)
-		-			-	آنتی ژن پروتئین آزاد (ایمنولوژیکی)
↑		↑			↑	پروتئین C (لختگی) (کروموزنیک)
-		-			-	D-دایمر
↑↑		↑↑↑↑			↑	تست سم مار راسل
↑		↑			↑↑	نسبت C پروتئین فعال (بر اساس تست aPTT)
-		-		بله، به صورت اصلاح شده	↑↑	ECT زمان لختگی اکارین
بله		بله			-	تست آنتی فاکتور Xa

ایمنولوژیک اندازه گیری کرد. تست های عملکردی معمولاً براساس یکی از تست های PT و APTT است. طولانی شدن زمان انعقاد متناسب با غلظت پروتئین S در نمونه پلاسما است نمونه های شامل DOAC زمان انعقاد طولانی خواهند داشت و به تخمین بالای فعالیت پروتئین S می انجامد.

همچنین تست پایداری پروتئین فعال شده ی C زمانیکه انجام تست بر اساس APTT است تحت تاثیر DOAC قرار می گیرد. پلاسمای حاملان FV لیدین هتروزیگوس ممکن است مشابه گونه های وحشی شوند وقتی بیماران با DOAC درمان گردند.

تست های ایمنولوژیک پروتئین S معمولاً با تست های ELISA-based یا تست های آلگوتیناسیون particle-based (برپایه ی ذرات لاتکس) تعیین می گردند. DOAC در این نوع تست ها تأثیری ندارد. تاثیر DOAC روی پارامترهای انعقاد به روش تست به کار رفته در آزمایشگاه بستگی دارد. شناسایی فیبرینوژن به کمک سیستم های تست صورت می گیرد که در آن نمونه ی پلاسما هم با یک ترومبین اضافی (روش Clauss) یا با یک تست فیبرینوژن مشتق از PT انکوباتور می شود. ریوارکسابان بر پایه ی روش Clauss بر تست های فیبروژن تاثیر نمی گذارد زیرا از فعالیت ترومبین جلوگیری نمی کند. در مقابل، تاثیر ریوارکسابان روی تست های فیبروژن مشتق از PT بسته به غلظت rivaroxaban و معرف PT که برای این تست استفاده می شود بطور چشمگیری متغیر است.

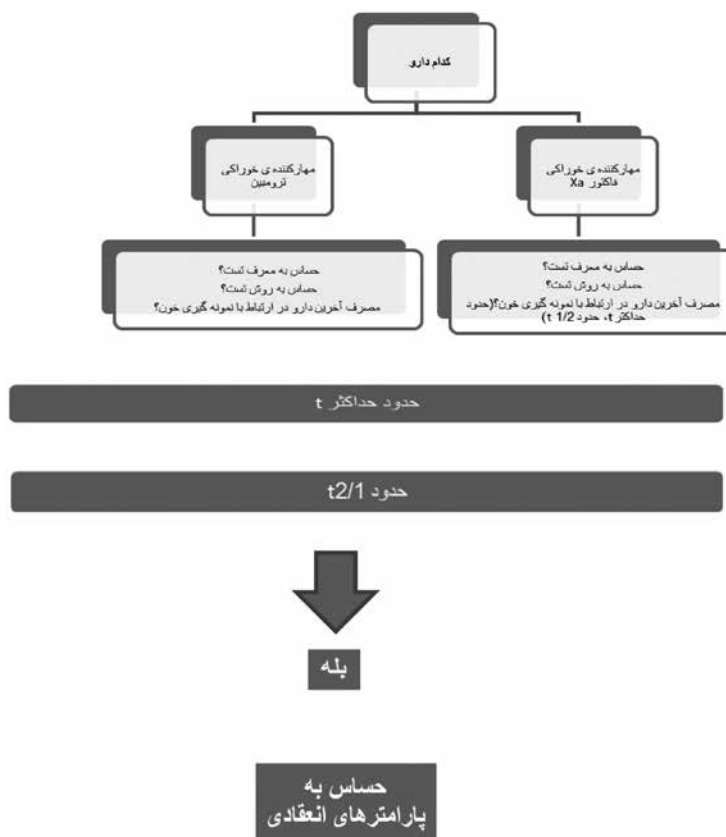
شناسایی دقیق افراد دارای LA در بیمارانی که با آنتاگونیست های ویتامین K درمان می شوند سخت است و این دلیل نقص انعقادی ناشی از این ضدانعقاد ها است، که منجر به طولانی شدن زمان های لختگی وابسته به همه ی فسفولیپیدها می گردد.

همان تست وجود دارد. این پدیده قبلا در شرایط نظارت آنتاگونیست ویتامین K شناخته شده بوده است. برای ارزیابی پارامترهای انعقادی، نمونه گیری خون باید مستقیما قبل از مصرف دارو انجام گیرد تا اثر متقابل DOAC را پایین نگاه دارد. در صورت امکان ارزیابی با اصول تست که تحت تأثیر DOAC قرار نمی گیرند، مثل تست های ایمنولوژیک ترجیح داده می شود.

همه تست های dRVVT را طولانی کرده و باعث نتایج مثبت کاذب ضد انعقادی لوپوس حتی در غلظت پلاسمایی کم این ضدانعقادها می گردد. از این رو، برای آنکه LA را خارج کنیم و از تشخیص اشتباه سندرم آنتی فسفولیپید در یک بیمار تحت درمان ریوارکسابان، ایپیکسابان یا درمان دبیگاتران جلوگیری کنیم، توصیه می شود که دارو قطع شود و یا در صورت نیاز موقتا با یک هپارین جایگزین شود. زمان بین آخرین مصرف داروی DOAC و گرفتن خون برای آزمون dRVVT باید حداقل ۵-۴ نیمه عمر DOAC باشد. (حدود ۳-۲ روز در بیمارانی که عملکرد کلیه ی آنها نرمال است). همان تست باید برای تحلیل TT انجام گیرد. بمنظور جلوگیری از تفاسیر اشتباه کلینیکی، پاسخگویی به سوالات مختلف در آزمایشگاه در زمانی که پارامترهای انعقاد در بیماران تحت درمان DOAC اندازه گیری می شود، لازم است (شکل ۱).

### روش های کنترل در تعیین اثر ضد انعقادی DOAC

DOAC در ابتدا با موفقیت بدون کنترل و تطبیق دوز در تعداد زیادی از بیماران تست شد. غلظت پلاسمای DOAC مورد تحقیق قرار گرفته و در جدول ۲ فهرست شده است. کنترل درمان DOAC یا تعیین غلظت پلازما به نفع گروهی از بیماران است با این وجود که باید به سوالات مشخصی پاسخ دهند. این یک حقیقت است که ارزیابی های کلینیکی و آزمایشگاهی در زمانی که امکان خونریزی در نتیجه ی ناکارآمدی کلیه یا DOAC است، مفید و قابل کاربرد است. در موقعیت های مختلف مثل خونریزی های شدید یا ضربات شدید، ممکن است به ارزیابی سطح ضدانعقادی DOAC کمک کند. اندازه گیری تأثیر فارماکودینامیک DOAC می تواند با آزمون های آزمایشگاهی معمول جهانی که در دسترس



شکل ۱) سوالاتی که باید برای تعیین اثر ضدانعقادهای مستقیم خوراکی روی پارامترهای انعقادی پاسخ داده شوند.

بیمارانی که DOAC مصرف می کنند هم تست LA را مثبت کاذب نشان می دهند.

جدول یک خلاصه این روش ها است که تأثیر DOAC را روی پارامترهای انعقاد و روش های کنترل را نشان می دهد.

### تفسیر بالینی نتایج تست انعقاد در زمینه DOAC

پزشکان باید قادر باشند پارامترهای انعقادی را به طور دقیق در همه ی بیمارانی که ضدانعقاد مصرف می کنند، تفسیر کنند. به طور کلی، تأثیر هر ضدانعقاد (آنتاگونیست های K، ضدانعقادهای مستقیم یا غیرمستقیم) روی پارامترهای انعقادی بسته به هدف دارویی، غلظت های پلازما و روش تست و حساسیت متغیر است. به دلیل فارماکوکینتیک DOAC، سطوح پلاسمای آنها در طول روز متغیر بوده و به همین دلیل اثر آن روی تست های انعقادی نیز در طول روز متغیر است.

پس زمان آخرین مصرف دارو باید مشخص شود چون در تخمین غلظت داروی باقیمانده اهمیت دارد. به علاوه اختلاف چشمگیری در حساسیت معرف های مختلف تست برای

جدول ۲. میانگین غلظت پلاسمای DOAC [22-24] در بالاترین سطح (Cmax) و پایین ترین سطح (Cthrough)

C through (ng/mL)	C max (ng/mL)	دوز و رژیم OD: روزانه یک عدد BiD: روزانه دو عدد	دارو
37 90	183 184	220mg/OD 150 mg/BiD	دیبیگاتران
10 44	120 249	10 mg/OD 20 mg/OD	ردورکسابان
21 50	62 129	2.5 mg/BiD 5 mg/BiD	اپیکسابان

بیشتر کلینیک ها هستند انجام گیرد. PT و aPTT و TT در زمان مصرف DOAC افزایش می یابد اما این تست ها نمی توانند غلظت دارو را پیش بینی کنند چرا که رابطه خطی بین مقدار آزمایشگاهی و غلظت دارو وجود ندارد.

چون حدود شناسایی در دوز دارو درمانی حاصل می شود. تست های اصلاح شده مثل TT رقیق شده و تست آنتی فاکتور Xa در تعیین اثر ضد انعقادی و غلظت خونی DOAC مفید است.

اگر چه حتی اگر کنترل آزمایشگاهی DOAC از قبل در دسترس باشد، اثر ضد انعقادی dabigatran، rivaroxaban یا apixaban به صورت مقدار آزمایشگاهی در زمینه خونریزی یا ریسک ترومبوتیک معین می شود همانطور که در آنتاگونیست ویتامین K صورت گرفت.

### نتیجه گیری

حتی اگر کنترل دارویی DOAC روتین نباشد نیاز است که در افراد تحت درمان با ضدانعقاد ویتامین K انجام شود. تعیین سطح پلاسمایی در افراد می تواند مفید باشد. برای بیمارانی که نسبت به عوارض اکثر داروها از خود حساسیت نشان داده اند، تاثیر ضد انعقادی DOAC در شرایطی که خطر خونریزی است باید کنترل شود. Dabigatran باعث طولانی شدن وابسته به دوز TT رقیق شده می شود و آن را به تست کنترل عملی تبدیل می کند. در حالیکه rivaroxaban یا apixaban با استفاده از آزمون های اصلاح شده ی آنتی Xa با کالیبراتور و کنترل های لازم مورد نظارت قرار گیرند. به خاطر شروع سریع عملکرد و خاصیت های فارماکونوتیک پایدار آنها، همه DOAC تغییراتی غیرمشابه در تست های انعقاد در طول روز برحسب نمونه گیری خون و آخرین زمان مصرف دوز دارو ایجاد می کند.

در کل مهار کننده ترومبین همه تست های وابسته به ترومبین را طولانی می کند مثل aPTT در حالی که مهار کننده PT، Xa را طولانی می کند. این ارزیابی های انعقادی جهانی می توانند در مدیریت اوردوزها و وقایع خونریزی

در وضعیت های اورژانس کمک کننده باشند اما کاربرد آنها برای غلظت های دارویی محدود است.

اگر چه تغییرات در هر آزمایشگاه براساس معرف ها و روش تست به کار رفته تفاوت دارد.

با این وجود DOAC نتایج مثبت کاذب در ارزیابی ضد انعقاد لویوس و افزایش کاذب ارزیابی نسبت پروتئین C فعال شده را ایجاد می کند، وضعیت گروهی از بیماران طبقه بندی نشده با جهش فاکتور لیدین V نرمال گزارش می شود.

در تنظیمات آزمایشگاهی رویکرد عملی لازم است یک سیستم جامع از بیشترین مراقبت از بیمار با حداکثر کنترل بردار و تفسیر صحیح آزمایشگاهی تحت درمان DOAC باید در آینده نزدیک ایجاد شود.

### منابع:

- Internatinal Journal of Labratory Hematology  
H.MANI / coagulation laboratory and oral anticoagulants
- Blood Journal/ The labratory and the direct oral anticoagulants/  
accepted april 3,2013  
<http://www.bloodjournal.org/content/121/20/4032?sso-checked=true>
- Helen mani, PhD; Professor Edelgard Lindhoff-Last,MD/ Influence of  
new anticoagulants on coagulation test
- BIOCHEMIA MEDICA / The new oral anticoagulants and the future  
of haematosi laboratory testing/ <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3900050/>
- Essential Hematology / A.V.Hoffbrand/ P.A.H.Moss/6<sup>th</sup> Edition 2011
- Henry's clinical diagnosis & management by laboratory methods /  
Richard A.McPherson/Matthew R.Pincus
- مهارت های آزمایشگاهی در خون شناسی / تألیف و گردآوری:  
دکتر حبیب اله گل افشان/ بخش بیست و سوم / سیستم انعقاد و داروهای ضدانعقاد