



Оригинальная статья/Original article

Хромогенный антиХа-тест: соотношение между единицами активности гепарина и концентрацией аписабана и ривароксабана

Е.В. Титаева[✉], ORCID: 0000-0001-5271-9074, e-mail: evlti@mail.ru

А.Б. Добровольский, ORCID: 0000-0001-5397-6857, e-mail: abdobrovolsky@inbox.ru

Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии; 121552, Россия, Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15а

Резюме

Введение. Терапия прямыми оральными антикоагулянтами (ПОАК) не требует лабораторного контроля, однако необходимость определения уровня антикоагуляции может потребоваться для выбора тактики лечения при развитии большого кровотечения или необходимости выполнения срочной операции.

Целью этого экспериментального исследования являлось изучение взаимосвязи между остаточной активностью фактора Ха (ФХа), единицами антиХа-активности гепаринов низкой молекулярной массы (ГНММ) и концентрацией в плазме аписабана и ривароксабана в хромогенном тесте на антиХа-активность плазмы.

Материал и методы. Концентрированные растворы ПОАК были получены экстракцией аписабана метанолом, а ривароксабана диметилсульфоксидом из измельченных таблеток. Полученные растворы добавляли к пулу плазм доноров до конечных концентраций ингибиторов в диапазоне от 10 до 100 нг/мл плазмы. Определение антиХа-активности выполнялось на анализаторе STA-compart с использованием набора реактивов Liquid anti-Xa, протокола анализа и калибраторов, предназначенных для контроля терапии ГНММ. Влияние на динамику образования тромбина исследовали с помощью теста генерации тромбина (ТГТ) с использованием в качестве триггера PPR-reagent (конечные концентрации тканевого фактора – 5 пМ, а фосфолипидов – 4 мкМ). Кривые ТГТ анализировали с помощью программы Thrombinoscope.

Результаты. Показано, что в варианте теста на антиХа-активность, предназначенном для контроля терапии ГНММ, наблюдается высокая корреляция ($R2 > 0,98$) между логарифмом остаточной активности фактора Ха и содержанием аписабана и ривароксабана в диапазоне от 10 до 80 нг/мл. В равных концентрациях ривароксабан проявляет примерно в 1,5 раза большую антиХа-активность, чем аписабан. Показано также, что аписабан и ривароксабан в дозах, равных как по концентрации, так и по антиХа-активности различаются по влиянию на динамику образования и инактивации тромбина в ТГТ.

Заключение. В варианте теста на антиХа-активность ГНММ измеряемый диапазон аписабана и ривароксабана включает концентрации 30 нг/мл и 50 нг/мл, принятые в качестве «отрезных точек» для определения тактики лечения в экстренных случаях. Однако отсутствие сертифицированных калибраторов ПОАК ограничивает возможность использования этого теста в клинической практике.

Ключевые слова: аписабан, ривароксабан, антиХа-активность, тест генерации, тромбин

Для цитирования: Титаева Е.В., Добровольский А.Б. Хромогенный антиХа-тест: соотношение между единицами активности гепарина и концентрацией аписабана и ривароксабана. *Атеротромбоз*. 2020;(2):96-104. doi: 10.21518/2307-1109-2020-2-96-104.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Chromogenic anti-Xa test: the ratio between heparin activity units and concentration of apixaban and rivaroxaban

Elena V. Titaeva[✉], ORCID: 0000-0001-5271-9074, e-mail: evlti@mail.ru

Anatoly B. Dobrovolsky, ORCID: 0000-0001-5397-6857, e-mail: abdobrovolsky@inbox.ru

National Medical Research Center of Cardiology; 15a, 3rd Cherepkovskaya St., Moscow, 121552, Russia

Abstract

Introduction. The direct oral anticoagulants (DOC) therapy does not require laboratory control; however, it may be required to determine the anticoagulation level to choose a treatment strategy if large bleeding is developing or emergency surgery is needed.

The objective of this experimental study was to investigate the relationship between the residual factor Xa (FXa) activity, anti-Xa activity units of low molecular weight heparins (LMWH), and the apixaban and rivaroxaban plasma concentrations in a chromogenic anti-Xa assay.

Material and methods. Concentrated DOC solutions were prepared by extracting apixaban and rivaroxaban from crushed tablets using methanol and dimethyl sulfoxide, respectively. The resulting solutions were added to the donor plasma pool until final inhibitor concentrations are achieved in the range from 10 to 100 ng/ml plasma. Anti-Xa activity was determined using an STA-compact analyser and the Liquid anti-Xa reagent kit, an analysis protocol, and calibrators designed to control the LMWH therapy. The effect on the thrombin formation dynamics was investigated using the thrombin generation test (TGT) and the PPR reagent as a trigger (final concentrations of tissue factor are 5 pM, and those of phospholipids are 4 μM). TGT curves were analysed using the Thrombinoscope program.

Results. It was shown that in the anti-Xa activity test version designed to control the LMWH therapy, there is a high correlation ($R2 > 0.98$) between the logarithm of the residual factor Xa activity and the content of apixaban and rivaroxaban in the range from 10 to 80 ng/ml. Rivaroxaban shows about 1.5 times more anti-Xa activity than apixaban at equal concentrations. It was also shown that apixaban and rivaroxaban at doses equal both in concentration and in anti-Xa activity differ in their effect on the thrombin formation dynamics and thrombin inactivation in the TGT.

Conclusion. In the LMWH anti-Xa activity test version, the measured range of apixaban and rivaroxaban includes 30 ng/ml and 50 ng/ml concentrations taken as "cut-off points" to determine the treatment tactics in emergency cases. However, the lack of certified DOC calibrators limits the use of this test in clinical practice.

Keywords: apixaban, rivaroxaban, anti-Xa activity, generation test, thrombin

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

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Результаты больших рандомизированных исследований и последующий опыт лечения показали, что терапия стандартными дозами прямых пероральных антикоагулянтов (ПОАК) по эффективности и безопасности как минимум не уступает контролируемой по МНО терапии варфарином [1, 2]. Поэтому в большинстве случаев лечение ПОАК не требует лабораторного контроля. Однако определение уровня антикоагуляции может потребоваться для выбора тактики лечения в ряде неотложных ситуаций: при развитии большого кровотечения, необходимости выполнения срочной операции или проведения тромболиза [3]. Универсальным методом, позволяющим определять с высокой чувствительностью и специфичностью концентрацию практически любого ПОАК, является использование тандема: жидкостной хроматограф высокого разрешения и масс-спектрометр [4]. Однако этот метод требует специального оборудования и поэтому он вряд ли может быть рекомендован для экстренного определения уровня ПОАК.

Возможность использования рутинных коагулологических тестов для определения

уровня ПОАК изучалась в многочисленных работах [5–9]. В целом эти исследования показали, что 1) протромбиновый тест, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ) и тромбоэластография, которые входят в число экстренно выполняемых тестов, обладают умеренной чувствительностью и специфичностью к ПОАК; 2) результат в значительной степени зависит от используемых реактивов. Поэтому эти тесты в лучшем случае могут использоваться только для выявления случаев чрезмерного накопления ПОАК.

Тромбиновое время (ТВ) в стандартном варианте выполнения теста обладает очень высокой чувствительностью к дабигатрану, и даже при его субтерапевтических концентрациях может наблюдаться значительное удлинение ТВ. К счастью, эта сторона проблемы легко решается путем разведения исследуемого образца нормальной плазмой [10]. Приемлемым для экстренного определения концентрации ингибиторов фактора Ха представляется хромогенный тест «антиХа-активность», который уже в течение длительного времени используется для определения уровня гепаринов. Результат

анализа выдается в международных единицах активности гепарина на 1 мл плазмы (МЕ/мл), которые вычисляются по калибровке, построенной с использованием плазм, содержащих стандартные количества гепаринов [11].

Целью этого исследования являлось изучение взаимосвязи между остаточной активностью фактора Ха (ФХа) и концентрацией в плазме двух его прямых ингибиторов – аписабана и ривароксабана при использовании методики анализа и калибраторов, предназначенных для определения гепаринов низкой молекулярной массы (ГНММ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Определение антиХа-активности выполнялось на анализаторе STA-compact с использованием набора реактивов Liquid anti-Xa, Multi Per Calibrator для построения калибровочного графика и контрольных плазм PreciClot I с нормальным уровнем факторов свертывания производства Diagnostica Stago (Франция).

Методика определения антиХа-активности заключается в смешивании исследуемой плазмы с раствором хромогенного субстрата, инкубации смеси при 37 °С для выравнивания температуры, затем добавляется предварительно прогретый раствор ФХа и по скорости расщепления хромогенного субстрата определяется остаточная активность ФХа. Основное отличие между методиками определения уровня гепаринов и ПОАК заключается в разном соотношении между исследуемой плазмой и количеством добавляемого ФХа. В вариантах теста Diagnostica Stago при определении ГНММ это соотношение в ~5 раз выше, чем при определении ПОАК. Обычно соотношение между компонентами реакционной смеси подбирается таким образом, чтобы при использовании стандартного объема плазмы большинство измерений у больных попадали в пределы калибровки. Следствием увеличения удельного объема плазмы будет сдвиг измеряемой области концентрации ПОАК в сторону низких значений.

Растворы ПОАК были получены путем экстракции аписабана метанолом (2,5 мл на таблетку 2,5 мг), а ривароксабана – диметилсульфоксидом (1,5 мл на таблетку 15 мг) из измельченных в стеклянном гомогенизаторе таблеток. Для удаления нерастворимых наполнителей суспензию центрифугировали 5 мин при 10000 об/мин. Супернатант разводили исходным растворителем до получения концентрации 5 мкг ингибитора на 1 мл раствора. Далее этот раствор добавляли к реконструированным плазмам PreciClot I с нормальным содержанием факторов свертывания крови до конечных концентраций исследуемых ингибиторов в диапазоне от 10 до 100 нг на 1 мл плазмы.

Для сравнительного анализа влияния ГНММ и ПОАК на динамику образования тромбина использовали тест генерации тромбина (ТГТ). Измерения проводили на планшетном флуориметре Fluoroscan Ascent производства ThermoLab Systems (Финляндия) по стандартной методике с использованием в качестве триггера PPR-reagent, обеспечивающего конечные концентрации тканевого фактора – 5 пМ, а фосфолипидов – 4 мкМ. Кривые ТГТ анализировали с помощью программы Thrombinoscope производства Thrombinoscope BV (Нидерланды).

РЕЗУЛЬТАТЫ

АнтиХа-активность. По стандартному протоколу анализа тест на антиХа-активность гепаринов калибруется в пределах от 0 до 2 МЕ/мл. Зависимость между уровнем ГНММ в плазме и остаточной активностью добавленного ФХа описывается логарифмическим уравнением. Для использованной серии калибраторов высокий уровень корреляции сохранялся при инaktivации до 85% добавленного ФХа, которая достигалась при уровне гепаринов до 1,8 МЕ на 1 мл плазмы (рис. 1А).

В зависимости от показаний, промежутка времени от инъекции до забора крови и назначаемого препарата терапевтический диапазон

для ГНММ варьирует от 0,2 до 1,2 МЕ/мл [12]. В этом диапазоне активности ГНММ ингибируется от 25 до 75% добавленного ФХа. При использовании плазм, содержащих ПОАК, такое снижение активности ФХа наблюдается при концентрациях ривароксабана или аписабана до 80 нг/мл. Такие концентрации соответствуют нижней границе терапевтического диапазона и у больных с нормальным метаболизмом ПОАК определяются на минимуме действия (перед приемом очередной дозы препаратов) [13].

Как и в случае гепаринов, зависимость остаточной активности ФХа, определяемой по скорости расщепления хромогенного субстрата, от концентрации ПОАК описывается логарифмическими уравнениями (рис. 1Б, В). При этом уровень антиХа-активности в МЕ/мл плазмы, которая вычисляется анализатором по калибровочному графику для ГНММ, линейно повышается с увеличением концентрации как аписабана, так и ривароксабана. Графики различаются по наклону, и при равных концентрациях ривароксабан проявляет в этом тесте примерно в 1,5 раза большую антиХа-активность, чем аписабан (рис. 2).

В качестве безопасного для проведения инвазивных вмешательств с высоким риском кровотечения было принято считать уровень ПОАК ниже 30 нг/мл [13–15]. Из уравнений, приведенных на рис. 2, следует, что для использованного в данной работе набора реактивов Liquid anti-Xa пороговое значение антиХа в эквивалентах активности ГНММ составляет $\leq 0,44$ МЕ/мл для аписабана и $\leq 0,65$ МЕ/мл для ривароксабана. Важно подчеркнуть, что у больных, получающих ГНММ, такие величины антиХа-активности соответствуют терапевтическому уровню антикоагуляции.

ВЛИЯНИЕ НА ДИНАМИКУ ОБРАЗОВАНИЯ ТРОМБИНА

Аписабан и ривароксабан значительно отличаются от ГНММ по влиянию на динамику

РИСУНОК 1. Зависимость остаточной активности ФХа в тесте Liquid anti-Xa от концентрации ГНММ (А), аписабана (Б) и ривароксабана (В)
FIGURE 1. Dependence of the residual Fx activity in the Liquid anti-Xa test on the concentration of LMWH (A), apixaban (B), and rivaroxaban (C)

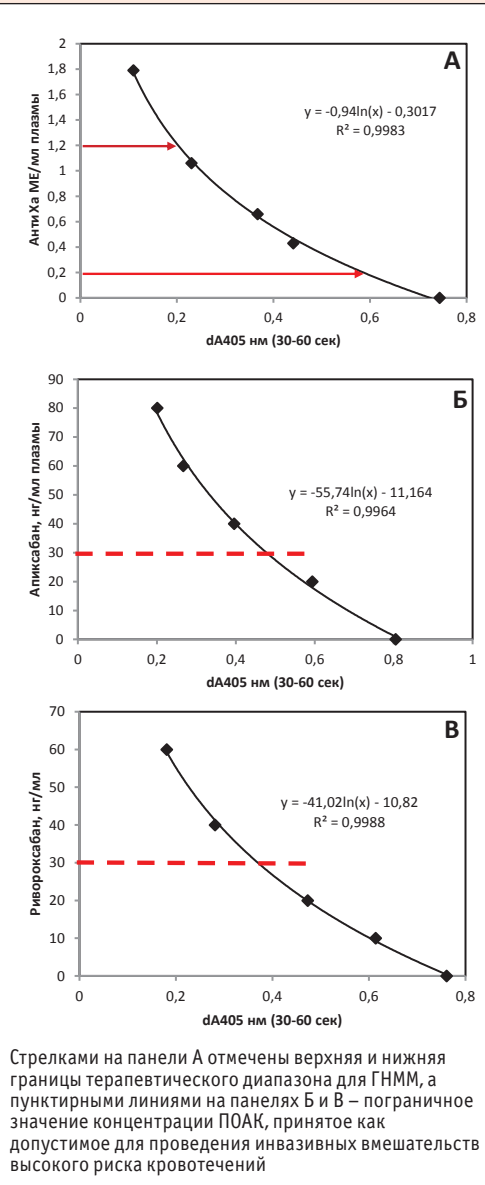
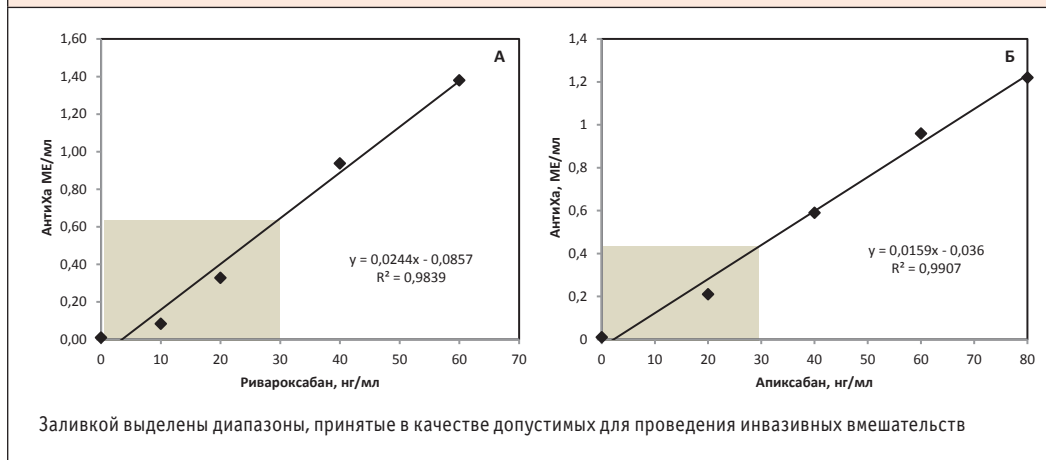


РИСУНОК 2. Соотношение между концентрацией аписабана (А) и ривароксабана (Б) и антиХа-единицами активности ГНММ в тесте Liquid anti-Xa

FIGURE 2. The relationship between the concentration of apixaban (A) and rivaroxaban (B) and LMWH activity anti-Xa units in the Liquid anti-Xa test



образования тромбина в ТГТ (рис. 3, табл.). В наибольшей степени это проявляется по влиянию на эндогенный тромбиновый потенциал (ЭТП), который определяется по площади под кривой, отражающей динамику изменения активности тромбина в ходе реакции. Повышение уровня ГНММ до 0,6 МЕ/мл приводит к 4-кратному снижению ЭТП, в то время как аписабан и ривароксабан в концентрациях, проявляющих такую же, как и ГНММ, величину антиХа-активности в хромогенном тесте,

снижают ЭТП лишь на 15–20%. Основное влияние таких концентраций ПОАК заключается в снижении пика тромбина и удлинении временных показателей ТГТ.

На панели А показано влияние равных концентраций, а на панели Б – равных по величине антиХа-активности доз аписабана и ривароксабана. Каждая кривая построена по средним значениям измерений трех параллельных проб с использованием одного пула плазм и разведения триггера

РИСУНОК 3. Влияние ГНММ и ПОАК на динамику образования и инактивации тромбина

FIGURE 3. Influence of LMWH and DOC on the thrombin formation and inactivation dynamics

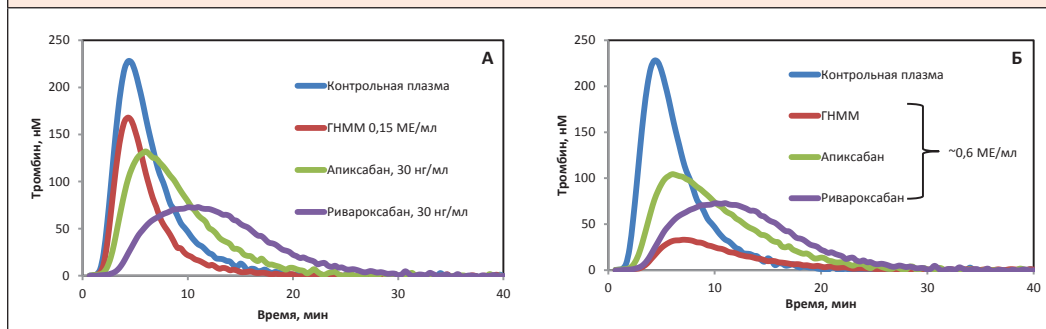


ТАБЛИЦА. Количественные характеристики кривых ТГТ, представленных на рис. 3. Данные представлены в виде $M \pm SD$
TABLE. The quantitative characteristics of the TGT curves shown in Fig. 3. Data are presented as $M \pm SD$

Показатель	ГНММ 0,6 МЕ/мл	ГНММ 0,15 МЕ/мл	Апиксабан 30 нг/мл (0,44 МЕ/мл)	Апиксабан 45 нг/мл (0,6 МЕ/мл)	Ривароксабан 30 нг/мл (0,6 МЕ/мл)	Контрольная плазма
Лag-фаза (мин)	3,33 ± 0,01	2,1 ± 0,01	2,67 ± 0,02	2,84 ± 0,05	3,67 ± 0,07	2,0 ± 0,01
ЭТП (нМ•мин)	314 ± 5,5	771 ± 28,4	1084 ± 11,5	1032 ± 19,3	971 ± 15,5	1205 ± 20,8
Пик (нМ)	33,2 ± 3,56	168 ± 4,3	131 ± 5,7	104,7 ± 5,19	72,4 ± 0,47	228,5 ± 5,52
Время достижения пика (мин)	7,0 ± 0,33	4,33 ± 0,15	6,0 ± 0,15	6,5 ± 0,11	10,3 ± 0,57	4,6 ± 0,16

ОБСУЖДЕНИЕ

Разработка ПОАК, обладающих достаточно широким терапевтическим диапазоном и предсказуемой фармакокинетикой, значительно упростила лечение и длительную профилактику тромботических осложнений. Терапия ПОАК не требует регулярного лабораторного контроля, но определение уровня антикоагуляции, причем срочное, может потребоваться при развитии большого кровотечения или необходимости выполнения инвазивных вмешательств, связанных с высоким риском кровотечения [3].

Необходимость срочного выполнения однократных анализов накладывает ряд требований к методу. Помимо высокой стабильности реагентов, он должен также обеспечивать возможность быстрого получения результата и выполнения на оборудовании, которым обычно оснащены экспресс-лаборатории клиник. В целом этим требованиям отвечает хромогенный тест на антиХа-активность, который первоначально разрабатывался для контроля терапии ГНММ. Тест может выполняться на любом термостатируемом фотометре, время анализа после получения плазмы составляет ~5 мин. Ведущие производители коагулологических диагностикумов выпускают готовые к работе (жидкие) реактивы, сохраняющие стабильность в течение нескольких месяцев при адекватном хранении.

После внедрения в практику ПОАК были разработаны модификации теста «антиХа-активность», которые при использовании соответствующих калибраторов обеспечивают количественное определение каждого из ингибиторов ФХа. Однако на данный момент внедрение в практику этих модификаций теста в наших лабораториях лимитируется отсутствием сертифицированных калибраторов. Поэтому первоочередными задачами этого исследования были установление диапазона концентраций апиксабана и ривароксабана, измеряемого в предназначенном для определения ГНММ варианте теста «антиХа-активность», и определение соотношения между концентрацией ПОАК и антиХа-единицами активности ГНММ. Наши эксперименты показали, что в этом варианте постановки теста остаточная активность ФХа монотонно снижается с высокой корреляцией ($R^2 > 0,99$) с повышением концентрации ПОАК от 0 до 80 нг/мл (рис. 1Б, В). Этот диапазон включает и субтерапевтические концентрации, что свидетельствует о возможности использования данного теста в экстренных ситуациях для определения риска кровотечения при инвазивных вмешательствах или целесообразности назначения антидота при больших кровотечениях.

Высокая чувствительность теста «антиХа-активность» к ПОАК обусловлена тем, что в этом тесте апиксабан и ривароксабан эффективно

ингибируют связывание и расщепление искусственных низкомолекулярных субстратов, взаимодействующих, как и прямые ингибиторы ФХа, только с активным центром фермента. Этим объясняется и кажущийся высоким (в эквивалентах ГНММ) уровень пороговой антиХа-активности, который составил $\leq 0,44$ МЕ/мл для аликсабана и $\leq 0,65$ МЕ/мл для ривароксабана. При лечении ГНММ такие величины антиХа-активности соответствуют терапевтическому уровню антикоагуляции [12]. Однако необходимо подчеркнуть, что прямое сравнение ПОАК и гепаринов по антиХа-активности не является корректным, т.к. они существенно различаются по механизму действия. Гепарины ускоряют *необратимую* инактивацию антитромбином всех протеаз (хотя и в разной степени) системы свертывания, а ПОАК являются *обратимыми* ингибиторами только одного из ферментов – тромбина или ФХа.

Антикоагулянтное действие ПОАК определяется тем, насколько эффективно они могут конкурировать с физиологическими субстратами за связывание с активным центром фермента. Скорость активации протромбина в полном протромбиназном комплексе на пять порядков выше, чем свободным ФХа [16]. Такое повышение эффективности активации при образовании протромбиназного комплекса обеспечивается наличием множественных участков взаимодействия протромбина с факторами Ха и Va на поверхности фосфолипидных мембран, из которых аликсабан и ривароксабан могут конкурировать только с участком протромбина, связывающимся с активным центром ФХа. Существенные различия между ПОАК и ГНММ в механизме ингибирования проявляются в разном соотношении между антиХа (определяемой по ингибированию амидолитической активности ФХа) и антикоагулянтной (определяемой по ингибированию системы свертывания крови) активностями. В ТГТ, в котором ФХа образуется в результате активации системы

свертывания крови, а его субстратом является протромбин, ГНММ в большей степени снижает образование тромбина, чем эквивалентные по уровню антиХа-активности дозы аликсабана и ривароксабана. Более того, аликсабан и ривароксабан в равных как по концентрации, так и по антиХа-активности дозах также различаются по влиянию на динамику образования тромбина. Наличие заметных расхождений между антиХа и антикоагулянтной активностями прямых ингибиторов ФХа было отмечено и в других работах [17–19].

В заключение отметим, что возможность использования хромогенного теста «антиХа-активность» для экстренного определения уровня прямых ингибиторов ФХа в критических ситуациях изучалась во многих работах [20–25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В целом результаты этих исследований, как и наших экспериментов, показали, что:

- 1) в варианте, предназначенном для определения уровня ГНММ, этот тест обладает достаточной чувствительностью для выявления в плазме клинически значимых концентраций (≥ 30 нг/мл) прямых ингибиторов ФХа;
- 2) прямые ингибиторы ФХа значительно различаются как по уровню антиХа-активности, так и по влиянию на динамику образования тромбина;
- 3) величина антиХа-активности зависит не только от концентрации ингибиторов, но и от используемого реактива (источника ФХа и хромогенного субстрата). Отсутствие сертифицированных калибраторов ограничивает возможность использования хромогенного теста «антиХа-активность» для экстренного определения уровня прямых ингибиторов в критических ситуациях.

Поступила / Received 27.10.2020

Поступила после рецензирования / Revised 14.11.2020

Принята в печать / Accepted 15.11.2020

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hirschl M., Kundi M. Safety and efficacy of direct acting oral anticoagulants and vitamin K antagonists in nonvalvular atrial fibrillation – a network meta-analysis of real-world data. *Vasa*. 2019;48(2):134–147. doi: 10.1024/0301-1526/a000746.
2. Явелов И.С. К вопросу о безопасности прямых пероральных антикоагулянтов: результаты сопоставления аликсабана и варфарина. *Атеротромбоз*. 2018;(2):54–67. doi: 10.21518/2307-1109-2018-2-54-67.
Yavelov I.S. On the issue of the safety of direct oral anticoagulants: the results of the comparison of apixaban and warfarin. *Aterotromboz = Atherothrombosis*. 2018;(2):54–67. doi: 10.21518/2307-1109-2018-2-54-67.
3. Raval A.N., Cigarroa J.E., Chung M.K., Diaz-Sandoval L.J., Diercks D., Piccini J.P. et al. Management of Patients on Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants in the Acute Care and Periprocedural Setting. A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2017;135(10):e604–e633. doi: 10.1161/CIR.0000000000000477.
4. Schmitz E.M.H., Boonen K., van den Heuvel D.J.A., van Dongen J.L.J., Schellings M.W.M., Emmen J.M.A. et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-performanceliquid chromatography – tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and coagulation assays for therapy monitoring of novel direct oral anticoagulants. *J Thromb Haemost*. 2014;12(10):1636–1646. doi: 10.1111/jth.12702.
5. Tripodi A., Ageno W., Ciaccio M., Legnani C., Lippi G., Manotti C. et al. Position Paper on laboratory testing for patients on direct oral anticoagulants. A Consensus Document from the SISET, FCSA, SIBioC and SIPMeL. *Blood Transfus*. 2018;16(5):462–470. doi: 10.2450/2017.0124-17.
6. Samuelson B.T., Cuker A., Siegal D.M., Crowther M., Garcia D.A. Laboratory Assessment of the Anticoagulant Activity of Direct Oral Anticoagulants. A Systematic Review. *Chest*. 2017;151(1):127–138. doi: 10.1016/j.chest.2016.08.1462.
7. Jabet A., Stepanian A., Golmard J.-L., Flaujac C., Joly B.S., Gouin-Thibault I., Siguret V. Are screening tests reliable to rule out direct oral anti-coagulant plasma levels at various thresholds (30, 50, or 100 ng/mL) in emergency situations? *Chest*. 2018;153(1):288–290. doi: 10.1016/j.chest.2017.09.047.
8. Gosselin R.C., Adcock D.M., Bates S.M., Douxfils J., Falavalo E.J., Gouin-Thibault I. et al. International Council for Standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost*. 2018;118(03):437–450. doi: 10.1055/s-0038-1627480.
9. Conway S.E., Hwang A.Y., Ponte C.D., Gums J.G. Laboratory and Clinical Monitoring of Direct Acting Oral Anticoagulants: What Clinicians Need to Know. *Pharmacotherapy*. 2017;37(2):236–248. doi: 10.1002/phar.1884.
10. Douxfils J., Mullier F., Robert S., Chatelain C., Chatelain B., Dogné J.-M. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate. *Thromb Haemost*. 2012;107(05):985–997. doi: 10.1160/TH11-11-0804.
11. Gehrie E., Laposata M. Test of the month: The chromogenic anti-factor Xa assay. *Am J Hematol*. 2012;87(2):194–196. doi: 10.1002/ajh.22222.
12. Garcia DA, Baglin TP, Weitz JI, Samama MM. Parenteral anticoagulants: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines *Chest*. 2012;141(2 Suppl):e24S–e43S. doi: 10.1378/chest.11-2291.
13. Douxfils J., Ageno W., Samama C.-M., Lessire S., ten Cate H., Verhamme P., Dogné J.-M., Mullier F. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J Thromb Haemost*. 2018;16(2):209–219. doi: 10.1111/jth.13912.
14. Dubois V., Dincq A.S., Douxfils J., Ickx B., Samama C.M., Dogné J.-M. et al. Perioperative management of patients on direct oral anticoagulants. *Thromb J*. 2017;15:14. doi: 10.1186/s12959-017-0137-1.
15. Pernod G., Albaladejo P., Godier A., Samama C.M., Susen S., Gruel Y. et al. Management of major bleeding complications and emergency surgery in patients on long-term treatment with direct oral anticoagulants, thrombin or factor-Xa inhibitors: proposals of the working group on perioperative haemostasis (GIHP) — March 2013. *Arch Cardiovasc Dis*. 2013;106(6–7):382–393. doi: 10.1016/j.acvd.2013.04.009.
16. Nesheim M.E., Taswell J.B., Mann K.G. The contribution of bovine Factor V and Factor Va to the activity of prothrombinase. *J Biol Chem*. 1979;254(21):10952–1062. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/500617>.
17. Siddiqui F., Hoppensteadt D., Jeske W., Iqbal O., Tafur A., Fareed J. Factor Xa inhibitory profile of apixaban, betrixaban, edoxaban, and rivaroxaban

- does not fully reflect their biologic spectrum. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019;25:1076029619847524. doi: 10.1177/1076029619847524.
18. Artang R., Anderson M., Riley P., Nielsen J.D. Assessment of the effect of direct oral anticoagulants dabigatran, rivaroxaban, and apixaban in healthy male volunteers using a thrombin generation assay. *Res Pract Thromb Haemost.* 2017;1(2):194–201. doi: 10.1002/rth2.12044.
 19. Cini M., Legnani C., Testa S., Tripodi A., Cosmi B., Palareti G. An in vitro study to investigate the interference of enoxaparin on plasmalevels of direct oral factor Xa inhibitors measured by chromogenic assays. *Int J Lab Hematol.* 2019;41(3):309–315. doi: 10.1111/ijlh.12974.
 20. Barrett Y.C., Wang Z., Frost C., Shenker A. Clinicallaboratory measurement of direct Fxa inhibitors: anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay. *Thromb Haemost.* 2010;104(6):1263–1271. doi: 10.1160/TH10-05-0328.
 21. Beyer J., Trujillo T., Fisher S., Ko A., Lind S.E., Kiser T.H. Evaluation of a Heparin-Calibrated Antifactor Xa Assay for Measuring the Anticoagulant Effect of Oral Direct Xa Inhibitors. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2016;22(5):423–428. doi: 10.1177/1076029616629759.
 22. Billoir P., Barbay V., Joly L.M., Fresel M., Chrétien M.H., Le Cam Duchez V. Anti-Xa Oral Anticoagulant Plasma Concentration Assay in Real Life: Rivaroxaban and Apixaban Quantification in Emergency with LMWH Calibrator. *Ann Pharmacother.* 2019;53(4):341–347. doi: 10.1177/1060028018811657.
 23. Gosselin R.C., Francart S.J., Hawes E.M., Moll S., Dager W.E., Adcock D.M. Heparin-Calibrated Chromogenic Anti-Xa Activity Measurements in Patients Receiving Rivaroxaban: Can This Test Be Used to Quantify Drug Level? *Ann Pharmacother.* 2015;49(7):777–783. doi: 10.1177/1060028015578451.
 24. Margetić S., Čelap I., Brkljačić D.D., Pavlović N., Goreta S.Š., Kobasić I. et al. Chromogenic anti-FXa assay calibrated with low molecular weight heparin in patients treated with rivaroxaban and apixaban: possibilities and limitations. *Biochem Med (Zagreb)* 2020;30(1):010702. doi: 10.11613/BM.2020.010702.
 25. Gosselin R., Grant R.P., Adcock D.M. Comparison of the effect of the anti-Xa direct oral anticoagulants apixaban, edoxaban, and rivaroxaban on coagulation assays. *Int J Lab Hematol.* 2016;38(5):505–513. doi: 10.1111/ijlh.12528.

Информация об авторах:

Титаева Елена Владимировна, к.б.н., старший научный сотрудник отдела клинических проблем атеротромбоза Института кардиологии им. А.Л. Мясникова, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии; 121552, Россия, Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15а; Scopus Author ID: 6701595355; Researcher ID: AAN-1972-2020; e-mail: evlti@mail.ru

Добровольский Анатолий Борисович, д.б.н., профессор, главный научный сотрудник отдела клинических проблем атеротромбоза Института кардиологии им. А.Л. Мясникова, Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии; 121552, Россия, Москва, 3-я Черепковская ул., д. 15а; Scopus Author ID: 57208095773; Researcher ID: AAN-1918-2020; e-mail: abdobrovolsky@inbox.ru

Information about the authors:

Elena V. Titaeva, Cand. of Sci. (Bio.), Senior Researcher, Department of Clinical Problems in Atherothrombosis, Myasnikov Cardiology Institute, National Medical Research Center of Cardiology; 15a, 3rd Cherepkovskaya St, Moscow, 121552, Russia; Scopus Author ID: 6701595355; Researcher ID: AAN-1972-2020; e-mail: evlti@mail.ru

Anatoly B. Dobrovolsky, Dr. of Sci. (Bio.), Professor, Leading Researcher, Department of Clinical Problems in Atherothrombosis, Myasnikov Cardiology Institute, National Medical Research Center of Cardiology; 15a, 3rd Cherepkovskaya St, Moscow, 121552, Russia; Scopus Author ID: 57208095773; Researcher ID: AAN-1918-2020; e-mail: abdobrovolsky@inbox.ru