

UNIVERZITET ODBRANE MINISTARSTVO ODBRANE
REPUBLIKE SRBIJE MEDICINSKI FAKULTET
VOJNOMEDICINSKE AKADEMIJE

Jelena M. Džudović

RAZLIKE U AKTIVNOSTI FAKTORA
KOAGULACIONE KASKADE I
KONCENTRACIJAMA FIBRINOGENA I D-DIMERA,
KOD PACIJENATA SA PLUĆNOM
TROMBOEMBOLIJOM NA TERAPIJI DIREKTNIM
ORALNIM ANTIKOAGULANSOM

Doktorska disertacija

Mentor:

pk prof. dr Slobodan Obradović, Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu.

Članovi komisije:

prof. dr Viktorija Dragojević - Simić, Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu – predsednik;

doc. dr Milkica Crevar, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu – član;

pk doc. dr Radoslav Romanović, Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu - član

Boristu, Nini i Marku

SADRŽAJ

SAŽETAK	VI
SPISAK SLIKA	VIII
SPISAK TABELA	IX
SPISAK GRAFIKONA.....	X
UVOD	1
HEMOSTAZA	1
TROMBOZA	2
<i>Arterijska tromboza</i>	<i>3</i>
<i>Venska tromboza.....</i>	<i>3</i>
<i>Aktivacija koagulacione kaskade</i>	<i>4</i>
<i>Faktori koagulacione kaskade</i>	<i>6</i>
<i>Regulacija koagulacije.....</i>	<i>8</i>
<i>Fibrinoliza</i>	<i>9</i>
PLUĆNA TROMBOEMBOLIJA	10
<i>Epidemiologija.....</i>	<i>10</i>
<i>Prezentacija bolesti.....</i>	<i>12</i>
<i>Mortalitet</i>	<i>12</i>
<i>Lečenje venskog tromboembolizma</i>	<i>13</i>
LEKOVI U TERAPIJI TROMBOZA	14
ANTIKOAGULANSI.....	14
<i>Parenteralni antikoagulansi</i>	<i>15</i>
<i>Oralni antikoagulansi</i>	<i>16</i>
<i>Antagonisti vitamina K</i>	<i>17</i>
<i>Direktni oralni antikoagulansi.....</i>	<i>17</i>
DABIGATRAN ETEKSILAT	18
<i>Hemijska struktura.....</i>	<i>18</i>
<i>Farmakokinetika</i>	<i>19</i>
<i>Mehanizam dejstva</i>	<i>20</i>
RIVAROKSABAN	20
<i>Hemijska struktura.....</i>	<i>20</i>
<i>Farmakokinetika</i>	<i>21</i>
<i>Mehanizam dejstva</i>	<i>22</i>
APIKSABAN	22

<i>Hemijska struktura</i>	23
<i>Farmakokinetika</i>	24
<i>Mehanizam dejstva</i>	24
LABORATORIJSKO PRAĆENJE DOAK-A	25
ANALITIČKE METODE ZA ODREĐIVANJE DOAK-A	26
<i>Tečna hromatografija sa tandem masenom detekcijom</i>	26
<i>Konvencionalni testovi hemostaze</i>	27
HIPOTEZE	30
CILJEVI	30
METODOLOGIJA	31
STATISTIČKE ANALIZE KORIŠĆENE U IZRADI REZULTATA.....	34
REZULTATI	35
DISKUSIJA	50
ZAKLJUČCI	60
LITERATURA	61

SAŽETAK

UVOD: Antikoagulantna terapija direktnim oralnim antikoagulansima (DOAK) je prema savremenim vodičima apsolutna preporuka za nastavak lečenje pacijenata sa plućnom tromboembolijom (PTE) nakon stabilizacije opšteg stanja pacijenta. Nije poznato da li, i na koji način, ovi oralni antikoagulansi utiču na aktivnost faktora koagulacije koji nisu njihova direktna meta prema mehanizmu delovanja.

CILJ: Osnovni cilj je bio da se izmere aktivnosti faktora koagulacione kaskade kod pacijenata lečenih od plućne embolije koji uzimaju neki od tri dostupna DOAK-a i te aktivnosti uporede između grupa pacijenata formiranih prema antikoagulansu koji uzimaju.

METODOLOGIJA: Uzorci krvi uzimani su venepunkcijom od pacijenata koji su zbog PTE već mesec dana na stabilnoj terapiji jednim od DOAK-a (apiksaban, rivaroksaban ili dabigatran) i to u momentu očekivane najniže koncentracije leka (15 min pre uzimanja sledeće doze). Merena je aktivnost sledećih faktora koagulacione kaskade: FII, FVII, FVIII, Protein C i antitrombin, kao i koncentracije fibrinogena i D-dimera. Kod pacijenata na apiksabanu i rivaroksabanu određivana je anti-Xa aktivnost. Isključeni su pacijenti sa malignom bolešću i klirensom kreatinina ispod 50 ml/min.

REZULTATI: Sve kriterijume za potrebne analize ispunilo je ukupno 100 pacijenata i to 32 (32%) u grupi na apiksabanu, 36 (36%) u grupi na rivaroksabanu i 32 (32%) u grupi lečenih dabigatranom. Nije bilo statističke razlike između grupa kada su poređene prema osnovnim demografskim, kliničkim i laboratorijskim karakteristikama. Aktivnost FII je bila značajno viša kod pacijenata na apiksabanu u poređenju sa pacijentima na rivaroksabanu ($p < 0,001$) i dabigatranu ($p = 0,003$). Takođe je i aktivnost FVII i proteina C bila značajno veća kod pacijenata na apiksabanu u poređenju sa pacijentima na rivaroksabanu, dok je aktivnost FVIII bila značajno veća u odnosu na pacijente na dabigatranu. Ostali mereni faktori koagulacione kaskade, kao i koncentracije D-dimera i aktivnost anti-Xa (za apiksaban i rivaroksaban) nisu se bitno razlikovali između grupa.

ZAKLJUČAK: Kod pacijenata sa PTE lečenih apiksabanom nakon mesec dana stabilne terapije postoji značajno viša aktivnost faktora koagulacione kaskade II (trombina) u odnosu na pacijente koji u terapiji uzimaju rivaroksaban ili dabigatran. Uz to, povišene su i vrednosti faktora VII,

VIII i proteina C. Klinički značaj razlika u aktivnosti ovih faktora koagulacione kaskade, posebno trombina, kod pacijenata sa PTE na različitim antikoagulansima iz grupe DOAK, potrebno je utvrditi novim studijama.

Spisak slika

Slika 1. Virhovljeva trijada	3
Slika 2. Koagulaciona kaskada	6
Slika 3. Mesta delovanja varfarina i direktnih oralnih antikoagulanasa u koagulacionoj kaskadi	16
Slika 4. Hemijska struktura dabigatran-eteksilata	19
Slika 5. Hemijska struktura rivaroksabana	21
Slika 6. Hemijska struktura apiksabana	23
Slika 7. Senzitivnost i linearnost koagulacionih testova za subterapijske, terapijske i supraterapijske koncentracije dabigatrana, rivaroksabana i apiksabana	29

Spisak tabela

Tabela 1: Faktori koagulacije.....	7
Tabela 2: Najčešći faktori rizika za VTE.....	11
Tabela 3a: Osnovne demografske karakteristike pacijenata sa plućnom tromboembolijom.....	35
Tabela 3b: Prisustvo faktora rizika za plućnu tromboemboliju i hroničnih oboljenja.....	36
Tabela 4a: Proteklo vreme do prijema u bolnicu od pojave simptoma, dužina hospitalizacije i vrsta PTE prema uzroku.....	36
Tabela 4b: Osnovne kliničke karakteristike na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.....	37
Tabela 4c: Plućna tromboembolija klasifikovana prema riziku od ranog mortaliteta i prisustvo velikog krvarenja.	37
Tabela 5a: Veličina glomerularne filtracije i parcijalni pritiscaci O ₂ i CO ₂	38
Tabela 5b: Parametri zapaljenja, koncentracija produkata razgradnje fibrina, glikemija i parametri opterećenja desne komore na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.	38
Tabela 5c: Osnovni hematološki parametri na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.....	39
Tabela 6: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni rivaroksabanom.	47
Tabela 7: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni apiksabanom.	48
Tabela 8: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni dabigatranom.	49

Spisak grafikona

Grafikon 1a. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije II.	40
Grafikon 1b. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije VII.	40
Grafikon 1c. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije VIII.	41
Grafikon 1d. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti anti-Xa aktivnosti.	41
Grafikon 1e. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti proteina C.	42
Grafikon 1f. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti antitrombina.	42
Grafikon 1g. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti koncentracije fibrinogena.	43
Grafikon 1h. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti koncentracije D-dimera.	43
Grafikon 2. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti faktora II između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.	44
Grafikon 3. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti faktora VII između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.	45
Grafikon 4. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti proteina C između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.	45
Grafikon 5. Poređenje srednjih vrednosti (medijane) aktivnosti faktora VIII između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.	46
Grafikon 6. Regresiona analiza – linearni model korelacije između AT i godina života kod pacijenata lečenih rivaroksabanom.	47
Grafikon 7. Regresiona analiza – linearni model korelacije između FVIII i godina života kod pacijenata lečenih apiksabanom.	48

Grafikon 8. Regresiona analiza – linearni model korelacije između FII i BMI kod pacijenata lečenih dabigatranom.	49
--	----

UVOD

Tromboza je jedan od najčešćih uzroka morbiditeta i mortaliteta u razvijenom delu sveta i ima ključnu ulogu u patogenezi brojnih kardiovaskularnih bolesti, uključujući akutni koronarni sindrom (nestabilna angina pectoris, infarkt miokarda i iznenadna srčana smrt), duboku vensku trombozu (DVT), plućnu emboliju (PE), perifernu arterijsku okluziju i infarkt mozga. Uprkos napretku u terapiji, smrtnost od posledica tromboze i dalje je neprihvatljivo visoka. Zbog toga postoji stalna potreba za razvojem novih, efikasnijih i bezbednijih vidova terapije tromboze.^{1,2}

HEMOSTAZA

Tromboza predstavlja patološko formiranje koaguluma unutar krvnog suda usled poremećaja hemostaze. Termin hemostaza predstavlja zaustavljanje krvarenja udruženim delovanjem endotela krvnih sudova, trombocita i sistema koagulacije. Pored toga, pod dejstvom hemokina dolazi do migracije leukocita na mesto povrede čime se sprečava infekcija i olakšava zarastanje rana. Konačno, u procesu fibrinolize dolazi do razlaganja stvorenog koaguluma i ponovnog uspostavljanja normalne cirkulacije krvi.³ Svi ovi procesi su strogo kontrolisani na više načina.

Hemostaza se odvija u četiri faze koje se dešavaju gotovo istovremeno:

1. **Vaskularna faza** započinje povredom krvnog suda koja trenutno dovodi do vazokonstrikcije glatkih mišića na mestu povrede čime se smanjuje lokalni protok krvi i olakšava zaustavljanje krvarenja.
2. **Trombocitna faza** započinje adhezijom trombocita na mestu oštećenja endotela, vezivanjem trombocita za *von Willebrand*-ov faktor i kolagen ekstracelularnog matriksa subendotela. Daljim vezivanjem trombocita započinje proces agregacije u kojem fibrinogen ima značajnu ulogu. Trombociti se aktiviraju pod dejstvom više faktora, pre svega trombina, podležu morfološkim i strukturalnim promenama, sekretujući supstance sa proagregatornim dejstvom - adenzin difosfat (ADP) i tromboksan A₂ (TXA₂). ADP i TXA₂ stimulišu dalju agregaciju trombocita, a na mestu oštećenja stvara se trombocitni čep koji kod manjih povreda može biti dovoljan da zaustavi krvarenje.

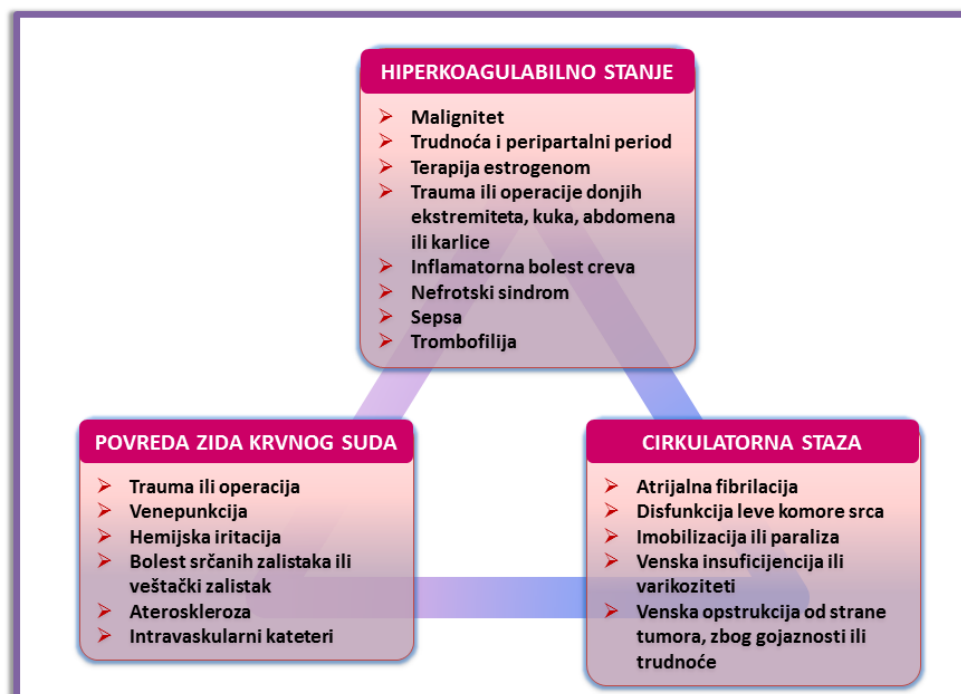
3. **Faza koagulacije** krvi započinje aktivacijom faktora koagulacije. To su većinom proteini (enzimi serin proteaze ili njihovi kofaktori) koji se normalno nalaze u cirkulaciji u neaktivnom obliku kao proenzimi ili prokofaktori. U koagulacionoj kaskadi dolazi do aktivacije protrombina, pri čemu se stvara trombin koji dalje deluje na rastvorljivi protein plazme fibrinogen i konvertuje ga u nerastvorljivi fibrin, koji se sastoji od velikog broja monomera fibrinogena, međusobno povezanih u početku nekovalentnim, a kasnije i znatno stabilnijim kovalentnim vezama. Tako nastaje fibrinska mreža u kojoj su inkorporirani trombociti (beli koagulum) i eritrociti (crveni koagulum) čime se zaustavlja krvarenje. Brzinu ovog procesa regulišu inhibitori koagulacije.

4. **Fibrinoliza** je proces razlaganja koagulumata pod dejstvom plazmina koji nastaje aktivacijom plazminogena čime se omogućava normalno uspostavljanje protoka krvi posle zarastanja rane. To je regulatorni mehanizam kojim se još u toku koagulacije krvi sprečava nekontrolisano formiranje koagulumata. Brzina fibrinolize regulisana je dejstvom različitih inhibitora poput α 2-antiplazmina, inhibitora aktivatora plazminogena (eng. *plasminogen activator inhibitor*, PAI-1, PAI-2, PAI-3) i inhibitora fibrinolize koji se aktivira trombinom (eng. *thrombin activatable fibrinolysis inhibitor*, TAFI).^{3,4}

TROMBOZA

U fiziološkim uslovima sistem hemostaze je uravnotežen u korist antikoagulacije. Ukoliko preovladaju prokoagulantni faktori, dolazi do razvoja tromboze (venske ili arterijske).

Nemački lekar Rudolf Virhov je 1864. godine opisao stanja povezana sa formiranjem tromba poznata kao Virhovljeva trijada koja obuhvata stazu krvi, stanja hiperkoaguabilnosti (urođena ili stečena) i povredu krvnog suda (Slika 1).⁵



Slika 1. Virhovljeva trijada

Arterijska tromboza

Arterijski tromb se formira u uslovima brzog protoka krvi i sačinjen je uglavnom od agregata trombocita vezanih za fibrinske niti dok se venski tromb formira u delovima gde dolazi do staze krvi i dominantno je sačinjen od eritrocita, fibrina i manjeg broja trombocita.^{6,7}

U patogenezi arterijske tromboze usled oštećenja endotela arterijskog krvnog suda, dolazi do aktivacije trombocita, ali se aktivira i proces koagulacije. Naime, aktivirani trombociti stimulišu proces koagulacije preko unutrašnjeg puta aktivacije koagulacione kaskade. Trombin kao enzim koji ima centralnu ulogu u koagulacionoj kaskadi je istovremeno i snažan aktivator trombocita, te se dodatno aktiviraju trombociti čime se ceo proces amplifikuje. Zbog toga se i antikoagulantni i antiagregacioni lekovi koriste u prevenciji i tretmanu arterijske tromboze.^{8,9}

Venska tromboza

U slučaju venske tromboze, tromb se može javiti u površinskim ili dubokim venama u skoro svim delovima tela ali najčešće u dubokim venama donjih ekstremiteta. Životno ugrožavajuća komplikacija DVT je PE koja nastaje usled embolizacije tromba u plućne arterije.¹⁰ Aktivacija koagulacione kaskade je glavni mehanizam patogeneze venske tromboze. Zbog toga

su antikoagulansi veoma efikasni u prevenciji i tretmanu venske tromboze dok su antiagregacioni lekovi manje efikasni.

Aktivacija koagulacione kaskade

Šesdesetih godina prošlog veka, istraživači su utvrdili da se koagulacija može aktivirati posredstvom dva puta: spoljašnjeg koji se aktivira oštećenjem tkiva tj. pod dejstvom tkivnog faktora, i unutrašnjeg koji se aktivira pod dejstvom unutrašnjih faktora tj. u kontaktu sa negativno naelektrisanom površinom brojnih molekula prisutnih u cirkulaciji. Međutim, danas se smatra da se in vivo ovaj process u stvari odvija preko spoljašnjeg puta koagulacije, a da unutrašnji put služi kao amplifikator procesa.

Spoljašnji put koagulacije započinje nakon oštećenja tkiva i oslobađanja tkivnog faktora (eng. *tissue factor*, TF) iz subendotelnog tkiva. Tkivni faktor aktivira faktor VII i nastali kompleks TF-VIIa onda prevodi faktor X u aktivni Xa.¹¹ Aktivnost spoljašnjeg puta koagulacije procenjuje se određivanjem protrombinskog vremena (PT).

Unutrašnji (kontaktni) put koagulacije uključuje faktore FVIII, FIX, FXI, FXII, prekalkrein i kininogen velike molekulske mase (eng. *high molecular weight kininogen*, HMWK). Zapocinje aktivacijom faktora XII u faktor XIIa nakon kontakta sa kolagenom poreklom iz oštećenog endotela krvnog suda. Aktivirani faktor XII katalizuje reakciju aktivacije faktora XI u XIa koji zatim aktivira faktor IX u faktor IXa. Faktor IXa zajedno sa svojim kofaktorom (faktor VIII) katalizuje reakciju aktivacije faktora X u Xa. Svaki aktivirani faktor u koagulacionoj kaskadi povećava aktivnost i koncentraciju sledećeg faktora koagulacije u krvi.¹² Aktivnost unutrašnjeg puta koagulacije se procenjuje određivanjem aktiviranog parcijalnog tromboplastinskog vremena (aPTT).^{3,13}

Konverzija faktora X u faktor Xa predstavlja početak zajedničkog puta koagulacije koji pokreće nastajanje trombina i dolazi do konverzije fibrinogena (faktor I) u fibrin. Do aktivacije faktora X dolazi posredstvom složenih mehanizama u kojima učestvuju kompleks tenaza – spoljašnji koga čine faktor VII, TF i Ca^{2+} i unutrašnji koga čine faktor VIII, IXa, fosfolipidi i Ca^{2+} . Aktivirani faktor X zajedno sa svojim kofaktorom (faktor V), fosfolipidima i Ca^{2+} čini protrombinaza kompleks koji prevodi protrombin (faktor II) u trombin (faktor IIa). Trombin dalje

prevodi cirkulišući fibrinogen u nerastvorni fibrin i dovodi do aktivacije faktora XIII neophodnog za formiranje čvrste fibrinske mreže koja stabilizuje koagulum (Slika 2).¹²

Prema trenutnom konceptu, proces koagulacije prolazi kroz sledeće faze:

INICIJACIJA: Ova faza započinje ekspresijom TF iz oštećenog krvnog suda koji vezuje faktor VIIa a nastali kompleks dalje aktivira faktore IX i X. Upravo aktivacija faktora IX posredstvom kompleksa TF-VIIa predstavlja vezu između spoljašnjeg i unutrašnjeg puta koagulacije. Faktor Xa se vezuje za protrombin i nastaje trombin čiju produkciju inhibira inhibitor spoljašnjeg puta (eng. *tissue factor pathway inhibitor*, TFPI).

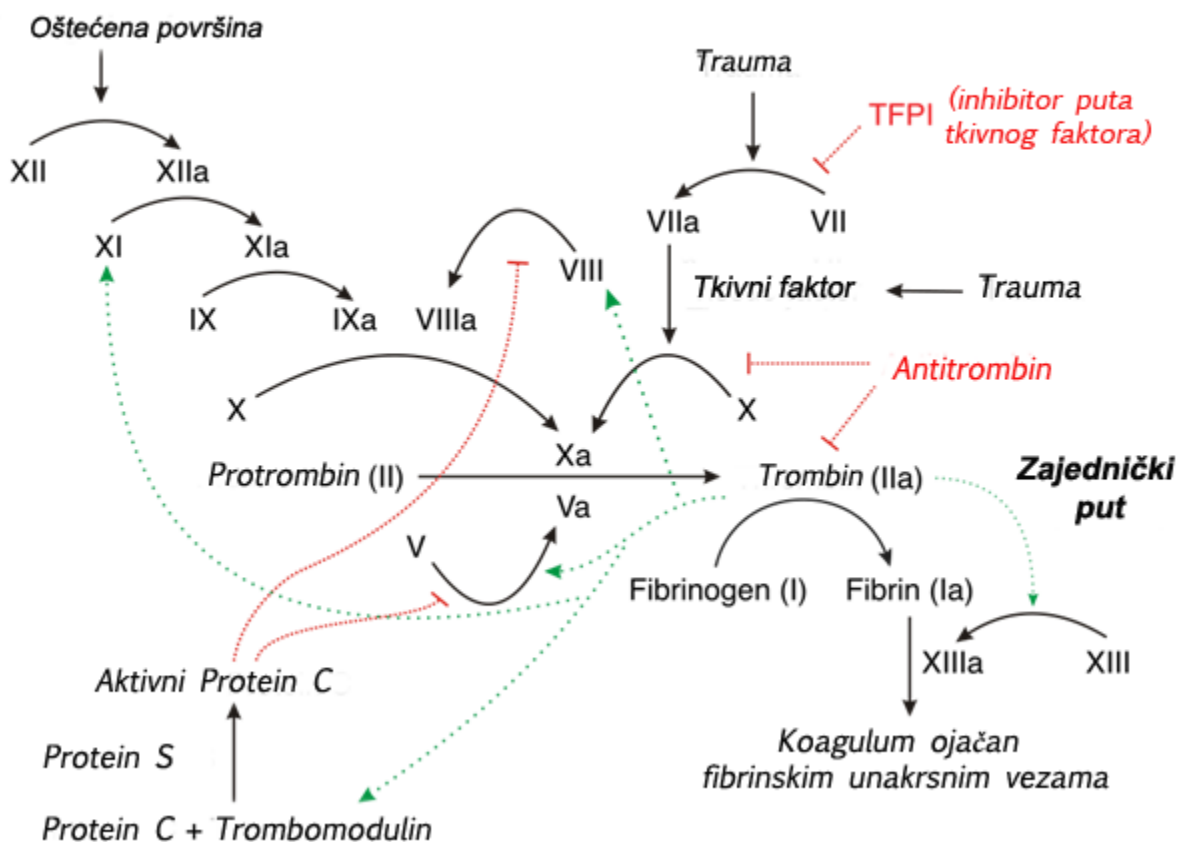
AMPLIFIKACIJA: U ovoj fazi, mehanizmima povratne sprege dolazi do povećane produkcije trombina koji se vezuje za trombocite. Trombin nastao u fazi inicijacije aktivira faktore V i VIII, kofaktore protrombinaza kompleksa, a takođe aktivira i faktor XI, bilo direktno ili preko aktiviranih trombocita. Na ovaj način dolazi do povećanja aktivacije protrombina u trombin posredstvom nagomilavanja protrombinaza kompleksa.

PROPAGACIJA: U ovoj fazi na površini trombocita dolazi do povećane produkcije trombina i aktivacije trombocita posredstvom tenaza i protrombinaza kompleksa čime je omogućeno formiranje fibrina.

STABILIZACIJA: U ovoj fazi posredstvom trombina dolazi do aktivacije faktora XIII (eng. *fibrin stabilizing factor*) koji formira čvrste kovalentne veze fibrina i stabilan koagulum. Istovremeno, trombin aktivira TAFI koji štiti nastali koagulum od fibrinolize.¹⁴

Unutrašnji (kontaktni) put

Spoljašnji put (posredovan tkivnim faktorom)



Slika 2. Koagulaciona kaskada

Faktori koagulacione kaskade

Faktori koagulacije su, izuzev kalcijuma, proteini - enzimi i kofaktori enzima. Većina faktora koagulacije se sintetiše u jetri sa izuzetkom faktora III (tkivni faktor) koji se sintetiše u mnogim tkivima, a naročito u endotelu i monocitno-makrofagnom sistemu, faktora IV (Ca^{2+}) i VIII koji se sintetiše u jetri, ali i u drugim tkivima. Faktori mogu biti slobodni u cirkulaciji, a neki se nalaze koncentrisani u granulama trombocita. Prema internacionalnom sistemu nomenklature, svaki faktor koagulacije obeležen je rimskim brojem u skladu sa redosledom otkrivanja, koji ne odgovara poziciji faktora u kaskadi koagulacije (Tabela 1).¹⁵

Tabela 1: Faktori koagulacije

Broj	Naziv	Aktivnost	Put	Poluživot
I	Fibrinogen	-	Zajednički	90 h
II	Protrombin	Serin-proteaza	Zajednički	60 h
III	Tkivni faktor	Kofaktor	Spoljašnji	-
IV	Ca ²⁺	-	Svi	-
V	Proakcelerin	Kofaktor	Zajednički	12 – 36 h
VII	Prokonvertin	Serin-proteaza	Spoljašnji	4 – 6 h
VIII	Antihemofilni faktor	Kofaktor	Unutrašnji	12 h
IX	Christmas-ov faktor	Serin-proteaza	Unutrašnji	20 h
X	Stuart-Prower-ov faktor	Serin-proteaza	Zajednički	24 h
XI	Prethodnik tromboplastina	Serin-proteaza	Unutrašnji	40 h
XII	Hageman-ov faktor	Serin-proteaza	Unutrašnji	48 – 52 h
-	Prekalikrein	Serin-proteaza	Unutrašnji	48 – 52 h
-	HMWK*	Kofaktor	Unutrašnji	6,5 d
XIII	Protransglutaminaza	Transglutaminaza	Zajednički	3,5 d

* Kininogen visoke molekulske mase (eng. *high molecular weight kininogen*, HMWK)

U fiziološkom stanju, faktori koagulacije se nalaze u cirkulaciji u neaktivnom obliku (zimogeni), kao proenzimi, odnosno pro-kofaktori. Nakon aktivacije koagulacije, oni podležu proteolizi pod dejstvom faktora koji im prethode u kaskadi čime se prevode u aktivni oblik koji se obeležava sufiksom «a». Tkivni faktor je transmembranski glikoprotein koji svoju funkcionalnu aktivnost kofaktora ispoljava nakon oštećenja ćelija, na samoj površini membrane.

Izuzev faktora XIIIa, svi faktori koagulacije su enzimskom aktivnošću (trombin, faktor VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa i kalikrein) su serin-proteaze (proteolitički enzimi koji u aktivnom centru imaju ostatak serina, neophodan za katalitičku aktivnost). Faktor XIIIa služi kao kofaktor koji katalizuje reakciju u kojoj se stvaraju čvrste, kovalentne veze između fibrinskih niti i na taj način stabilizuje strukturu koagulumu.

Regulacija koagulacije

Prekomerna aktivacija koagulacije regulisana je prirodno prisutnim inhibitorima u cirkulaciji koji razlažu aktivne forme određenih faktora koagulacije (protein C i njegov kofaktor, protein S) ili sa njima grade neaktivne komplekse (antitrombin i inhibitor spoljašnjeg puta koagulacije).

Prirodni antikoagulasi:

1. ANTITROMBIN (AT)

AT (raniji naziv AT III) je inhibitor serin proteaze, koji se vezuje i inaktivira trombin kao i faktore IXa, Xa, XIa i XIIa. AT vezuje faktore koagulacije u odnosu 1:1, a ovaj kompleks se uklanja ćelijama retikuloendotelnog sistema. Koncentracija kompleksa trombin-antitrombin (TAT) zavisi od brzine stvaranja trombina, što se koristi kao marker hiperkoagulabilnih stanja. Aktivnost AT se povećava u prisustvu heparina koji deluje kao kofaktor AT što je iskorišćeno kao osnov za primenu heparina u antikoagulantnoj terapiji. Iako je AT glavni inhibitor trombina, postoje i drugi trombin inhibitori kao što su heparin kofaktor II, α_2 - makroglobulin i α_1 -antitripsin.^{16,17}

2. INHIBITOR SPOLJAŠNJEG PUTA (TFPI)

TFPI je polipeptid koga sintetišu endotelne ćelije i deluje tako što inhibira TF-VIIa kompleks čime se efikasno inhibira spoljašnji put koagulacije. Pored toga, TFPI stimuliše i uklanjanje ovog kompleksa iz plazme i njegovu razgradnju.¹⁸ Nalazi na površini endotela i primena heparina takođe dovodi do njegovog oslobađanja u krv.

3. PROTEIN C (PC)

PC je serin proteaza, vitamin K-zavisni inhibitor koagulacije koji ima i profibrinoliticko i antiinflamatorno dejstvo. U cirkulaciji se nalazi u obliku proenzima koji se aktivira pod dejstvom trombina i nastaje aktivirani protein C (APC). Trombin se prvo vezuje za trombomodulin (TM), membranski protein ćelija endotela pri čemu dolazi do promene konformacije trombina koji gubi svoju prokoagulantnu i dobija antikoagulantnu funkciju. Trombin-TM katalizuje reakciju aktivacije proteina C, a ovu reakciju stimuliše endotelni protein C receptor (EPCR), koji služi kao mesto vezivanja protein C proenzima. Aktivirani protein C u prisustvu kofaktora - proteina S (PS) i fosfolipida hidrolizuje faktore Va i VIIIa, vezane za membranske fosfolipide čime se inhibira aktivnost kompleksa koagulacije (unutrašnje X-aze i protrombinaze).¹⁹

Fibrinoliza

Da bi se ograničilo nekontrolisano stvaranje koaguluma neophodno je udruženo dejstvo inhibicije koagulacije i procesa fibrinolize kao finalnog kontrolnog mehanizma. Istovremeno sa aktivacijom koagulacije dolazi i do fibrinolize koja podrazumeva razlaganje fibrina pod dejstvom plazmina, serin-proteaze koja nastaje aktivacijom plazminogena koji ima visok afinitet za fibrin već u toku formiranja ugruška. Ovu reakciju katalizuje tkivni aktivator plazminogena (eng. *tissue plasminogen activator*, t-PA) ili urokinaza aktivator plazminogena (eng. *urokinase plasminogen activator*, u-PA) koja se stvara u ćelijama endotela. Oslobođanje t-PA stimulišu okluzija tkiva, trombin, epinefrin, vazopresin i naporno vežbanje. U odsustvu fibrina, t-PA je neefikasan kao aktivator plazminogena, ali veoma brzo aktivira plazminogen vezan za fibrin. Aktivan plazmin deluje na fibrin i razlaže ga na rastvorljive fragmente (eng. *fibrin degradation products*, FDP) koji se koriste za procenu in vivo aktivnosti fibrinolitičkog sistema u dijagnostici plućne embolije i duboke venske tromboze.²⁰

Da bi se sprečila prerana ili prekomerna fibrinoliza i posledično krvarenje, u plazmi postoji α_2 - antiplazmin, glavni inhibitor aktivnog plazmina koji sa plazminom gradi neaktivni kompleks. Pored α_2 - antiplazmina, za regulaciju fibrinolize značajnu ulogu imaju i inhibitori aktivatora plazminogena PAI-1, PAI-2, PAI-3 i proteaza neksin. PAI-1 je najvažniji inhibitor t-PA u plazmi. Sintetiše se u endotelnim ćelijama i nalazi u višku u odnosu na t-PA, pa se najveći deo t-PA u cirkulaciji nalazi u obliku kompleksa sa PAI-1, čime se sprečava prerana degradacija fibrina i sistemska fibrinoliza. PAI-2 se stvara u placenti i nekim tumorskim ćelijama. Njegova fiziološka uloga nije u potpunosti razjašnjena, ali se smatra da učestvuje u regulaciji proteolize u nekim tkivima i da je jedan od faktora koji je odgovoran za prokoagulantno stanje u kasnoj trudnoći i postpartalno. TAFI je proenzim koji se sintetiše u jetri i aktivira pod dejstvom trombina. Aktivan TAFI deluje inhibitory na proces fibrinolize tako što inhibira plazmin smanjujući afinitet plazminogena za fibrin povećava dejstvo antitripsina u inhibiciji plazmina.¹⁹

Plućna tromboembolija

Epidemiologija

Plućna tromboembolija (PTE) se definiše kao stanje u kome trombn embolus blokira protok krvi kroz neku od arterija u plućnom arterijskom krvotoku. U 90% slučajeva, ishodište trombnog embolusa je tromboza dubokih vena nogu. Zajednički naziv za DVT i PTE je venski tromboembolizam (VTE) i predstavlja treći po učestalosti uzrok smrti među kardiovaskularnim bolestima. Učestalost PTE u opštoj populaciji je 0,6 – 1 na 1000 ljudi.²¹ Incidenca VTE kod starijih od 70 godina je tri puta veća nego kod ljudi u dobi od 45-69 godina, dok je i kod ovih tri puta veća u poređenju sa ljudima u dobi od 20 - 44 godine.²² Čak 5 - 10% uzroka smrti u intrahospitalnim uslovima je PTE.²³ Rana smrtnost od masivne PTE (PTE visokog rizika) iznosi i do 30%, dok kod pacijenata koji su reanimirani zbog PTE smrtnost je i preko 65%. PTE niskog rizika imaju smrtnost oko 1%.²¹ Potencijalni uzroci VTE se dele na tranzitorne i perzistentne, i na male i velike. Faktori rizika za nastanak PTE su najčešće interakcija karakteristika pacijenata (opisuju se kao stalni faktori rizika) i tranzitornih faktora uticaja okolnosti u kojima se pacijent našao. Pa tako, oko 50% VTE je povezano sa nekim od jakih tranzitornih faktora rizika za VTE kao što su skorašnja hirurška intervencija, trauma (najčešće sa frakturama) ili hospitalizacija zbog akutnog pogoršanja zdravstvenog stanja koje imaju najmanju šansu za rekurentni događaj. Na žalost, malignitet je u porastu u opštoj populaciji i oko 20% VTE je udruženo sa postojanjem maligniteta.²⁴⁻²⁶ Najčešći faktori rizika su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2: Najčešći faktori rizika za VTE²⁷

Snažni faktori rizika (OR > 10)	• prelom kuka ili noge • zamena kuka ili kolena • veliki opšti hirurški zahvat • velika trauma • povreda kičmene moždine
Umereni faktori rizika (OR = 2 – 9)	• artroskopska operacija kolena • centralni venski kateter • kongestivna srčana slabost • hormonska terapija ili kontraceptivna terapija • malignitet • inflamatorna bolest creva • paralitički moždani udar • postpartalni period • prethodni VTE • trombofilija
Slabi faktori rizika (OR < 2)	• ležanje u krevetu duže od 3 dana • duga putovanja (dugo sedenje) • starenje • laparoskopska hirurgija (holecistektomija) • gojaznost • dijabetes melitus • trudnoća • varikozne vene

OR – odds ratio (odnos verovatnoće događaja)

Prezentacija bolesti

Klinička slika PTE zavisi od veličine same PTE i prethodnog stanja bolesnika, tj njegove kardio-pulmonarne rezerve. U najvećem broju slučajeva pacijenti sa PTE se prezentuju sa dispnejom, zamaranjem, lupanjem srca, bolom u grudima, i ređe sinkopom ili hemoptizijama.²⁸ Hemodinamska nestabilnost je prisutna u oko 10% PTE, ali je važan znak povećanog mortaliteta ovih pacijenata. U nekim slučajevima PTE se čak dijagnostikuje incidentalno, prilikom primene kompjuterizovane tomografije (eng. *computed tomography*, CT) grudnog koša kod drugih oboljenja.

Mortalitet

Prognoza PTE zavisi od stepena opstrukcije i hemodinamskog efekta PTE, a stratifikacija pacijenata prema riziku od rane smrti koristi se u savremenoj kliničkoj praksi kao osnovni parametar za određivanje terapije. Prema najnovijem vodiču za dijagnozu i lečenje PTE Evropskog Udruženja Kardiologa, pacijenti sa plućnom embolijom se mogu klasifikovati u jednu od četiri grupe: 1) PTE visokog rizika, u koju spadaju pacijenti koji su hemodinamski nestabilni, hipotenzivni sa padom sistolnog krvnog pritiska ispod 90mmHg i znacima značajnog opterećenja desne komore (DK) srca; 2) PTE intermedijarno-visokog rizika, koju čine pacijenti sa znacima opterećenja DK srca, ali su još uvek u kompenzovanom hemodinamskom stanju uz povišeni kardijalni troponin (cTn) u krvi; 3) PTE intermedijarno-niskog rizika, u koju spadaju normotenzivni pacijenti sa objektivizovanom (ultrazvučni i/ili skenerski pregled srca sa kontrastom) disfunkcijom DK, ili pozitivnim – povišenim kardijalnim troponinom u krvi, uz simplifikovani skorn za procenu težine plućne embolije (eng. *simplified Pulmonary Embolism Severity Index*, sPESI) veći od 1; 4) PTE niskog rizika, gde spadaju hemodinamski stabilni pacijenti bez znakova opterećenja DK srca i povišenog kardijalnog troponina u krvi, uz sPESI skor 0, a koji su kandidati za lečenje u kućnim uslovima.²⁴

Lečenje venskog tromboembolizma

Glavni ciljevi terapije VTE su zaustavljanje daljega rasta ugruška, sprečavanje formiranja novih tromba, sprečavanje embolizacije u pluća, i ograničavanje oštećenja vaskularnog endotela koje vodi ka razvoju posttrombotičkog sindroma koji se javlja kod 50% pacijenata sa VTE (bol, otok, i promena boje zahvaćenog ekstremiteta). Hirurško ili katetersko uklanjanje tromba, ili upotreba trombolitičke terapije se primenjuju kada je lokalizacija i veličina tromba takva da ugrožava život. Međutim, za većinu pacijenata, glavna terapija je antikoagulantna terapija. U zavisnosti od stanja pacijenta i faktora rizika zavisi da li će pacijent biti hospitalizovan prilikom uvođenja antikoagulantne terapije ili ne uz obavezno praćenje zbog pojave komplikacija.²⁴

Tretman VTE se može podeliti u tri stadijuma: akutni, kratkoročni i dugoročni. Akutni stadijum obuhvata prvih 5 - 10 dana nakon postavljanja dijagnoze kada se pacijentima najčešće daju parenteralni antikoagulansi kao što su heparin ili heparini niske molekulske mase (enoksaparin, nadroparin, dalteparin, tinzaparin) i parenteralni inhibitor Xa faktora (fondaparinux). U zavisnosti od težine bolesti ili drugih faktora rizika, pacijenti mogu biti hospitalizovani tokom akutne faze. U poslednje vreme, neretko se i u akutnoj fazi lečenje odmah započinje sa oralnim antikoagulanima iz grupe direktnih oralnih antikoagulanasa, kao na primer u slučaju PE niskog rizika. Kratkoročni stadijum obuhvata narednih 3 - 6 meseci kada većina pacijenata uzima oralne antikoagulanse.²⁴ Ekspertski vodiči predlažu da terapija oralnim antikoagulanima traje minimum 3 meseca, ali dužina terapije zavisi od rizika pacijenta da ponovo razvije trombozu, ali i od rizika od krvarenja. Kod pacijenata kod kojih je tromboza izazvana uticajem privremenih, prolaznih faktora rizika kao što su operacije, povrede donjih ekstremiteta ili trudnoća, terapija antikoagulanima se može primenjivati 3 meseca dok komplikovaniji slučajevi zahtevaju lečenje minimum 6 meseci.^{24,29,30} Perzistentni faktori kao što su urođene trombofilije i razne hronične bolesti mogu imati slabiji ili jači uticaj na ponavljanje VTE. Jaki perzistentni faktori su aktivna maligna bolest i višestruko pozitivni antifosfolipidni sindrom koji zahtevaju dugu i snažniju antikoagulantnu terapiju.

VTE je bolest sa visokim stepenom rekurentnosti (20% - 25% pacijenata će ponovo razviti vensku trombozu u periodu od 5 godina). VTE sa nepoznatim uzrokom imaju značajno visoku rekurencu. Zbog toga se preporučuje period dugoročnog lečenja za većinu bolesnika sa VTE nepoznatog uzroka. Pacijenti koji su već imali VTE, tj. dobili su drugi ili sledeći

ponavljajući događaj su za doživotnu antikoagulatnu terapiju. Korist od toga mora biti izbalansirana sa procenom rizika od krvarenja kao komplikacijom antikoagulantne terapije.

Na osnovu velikih randomizovanih studija koje su sprovedene kod pacijenata sa VTE, dabigatran (RECOVER studije I i II), rivaroksaban (EINSTEIN DVT i EINSTEIN PE, EINSTEIN Extension i EINSTEIN Choice) i apiksabana (AMPLIFY i AMPLIFY-EXT) pokazano je da su DOAK najmanje jednako efikasni u prevenciji rekurentnih VTE događaja a da su bezbedniji od vitamin K antagonista, tako da su preporučeni kao prva linija lečenja pacijenata sa VTE (nakon inicijalnog lečenja parenteralnom terapijom) u slučaju da pacijenti nemaju teži stepen bubrežne insuficijencije.^{31–37}

Lekovi u terapiji tromboza

Lekovi koji se koriste u terapiji tromboza obuhvataju antikoagulanse, antiagregacione lekove i fibrinolitike. Antiagregacioni lekovi (acetilsalicilna kiselina, klopidoogrel, prasugrel, tikagrelor i sl.) i fibrinolitici (streptokinaza, urokinaza, alteplaza, tenekteplaza) koriste se u terapiji arterijskih tromboza dok su antikoagulansi lekovi koji se pretežno koriste u terapiji venskih tromboza ali je njihova primena indikovana i u terapiji nekih bolesnika sa arterijskim trombozama.

Antikoagulansi

Antikoagulansi su lekovi koji se više od 70 godina koriste za sprečavanje formiranja ili rasta tromba u venskoj cirkulaciji dok su manje efikasni za tretman arterijskih tromba koji su pretežno sačinjeni od trombocita. Oni deluju inhibitorno na proces koagulacije krvi u cilju prevencije i lečenja tromboze. Profilaktička i terapijska primena antikoagulantne terapije uključuju brojna stanja kao što su DVT, PE, ishemijski moždani udar, atrijska fibrilacija, infarkt miokarda, hiperkoaguabilna stanja i sl. Upotreba antikoagulanasa zahteva poseban oprez s obzirom na veliki rizik od pojave krvarenja kao glavnog neželjenog efekta, tako da se i razvoj novih lekova kreće u smeru smanjenja rizika od krvarenja, a povećanja efikasnosti. Ne postoji antikoagulans koji smanjuje rizik od razvoja tromboze bez istovremenog rizika od krvarenja.

Moguće je da će novi inhibitori XIa faktora koagulacije imati antikoagulantni efekat bez povećanja rizika za krvarenje.³⁸ Odluka o primeni antikoagulantnog leka se zasniva na proceni da li je rizik za razvoj tromboze i njenih komplikacija veći od rizika od krvarenja i mogućih komplikacija kod svakog pacijenta individualno. Antikoagulantni lekovi se mogu podeliti na parenteralne antikoagulanse (heparin, heparini niske molekulske mase, fondaparinux, bivalirudin, danaparoid, argatroban) i oralne antikoagulanse (antagonisti vitamina K i direktni oralni antikoagulansi).

Parenteralni antikoagulansi

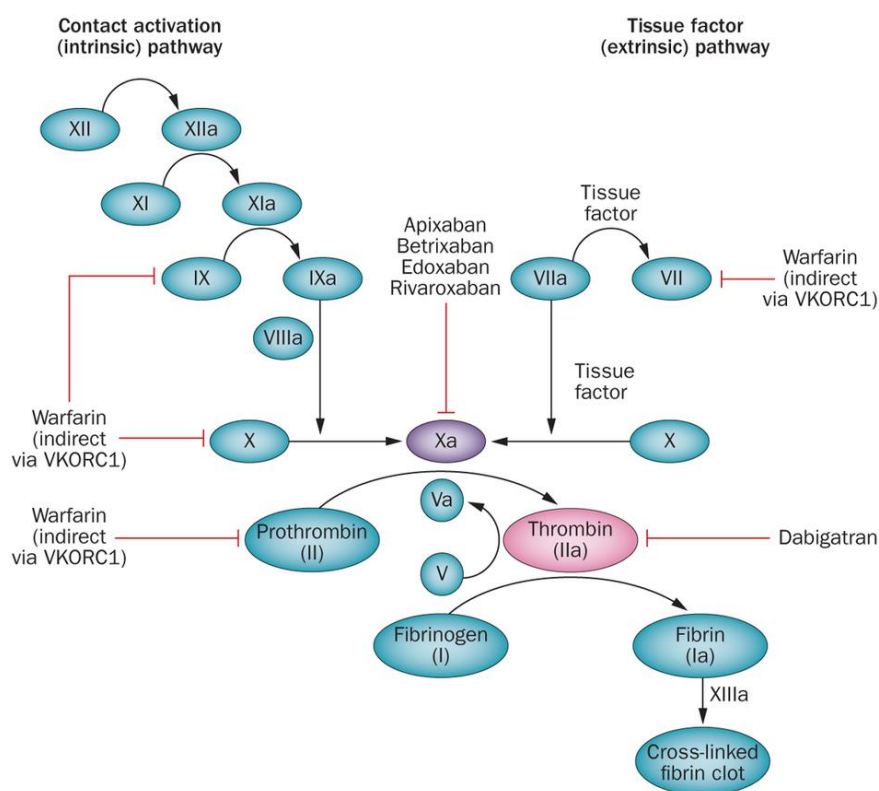
Heparin (eng. *unfractionated heparin*, UFH) deluje tako što se vezuje za AT i povećava njegovu aktivnost. Antitrombin je peptid koji inhibira faktor Xa i trombin (faktor IIa).³⁹ Indikovani su u određenim fazama za profilaksu i terapiju VTE, akutnog koronarnog sindroma, atrijske fibrilacije, za prevenciju VTE nakon hirurških intervencija i kod internističkih bolesnika i diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK). Heparini se mogu primenjivati subkutano, u obliku bolus intravenskih injekcija, a u terapiji u obliku kontinuirane intravenske infuzije. Efekte ostvaruje gotovo momentalno, posebno kada se daje u obliku intravenske infuzije, što mu uz kratko poluvreme eliminacije (1 - 2 sata) omogućava primenu kod pacijenata sa visokim rizikom od krvarenja s obzirom da antikoagulantni efekat prestaje brzo po prekidu infuzije. Hemoragija je najozbiljniji neželjeni efekat kod pacijenata koji primaju heparin i može biti fatalna. Kao antidot koristi se protamin sulfat. Pored hemoragije, kao ozbiljan neželjeni efekat može se javiti i heparinom indukovana trombocitopenija.⁴⁰

Niskomolekularni heparini (eng. *low molecular weight heparine*, LMWH) kao što su dalteparin, nadroparin, enoksaparin i tinzaparin imaju istu efikasnost kao i nefrakcionisani heparin ali manji rizik od heparinom indukovane trombocitopenije. Oni se, kao i heparin, vezuju za AT, i dominantno inhibiraju aktivnost faktora Xa, i u manjoj meri aktivnost trombina. U poređenju sa heparinom, LMWH imaju duže poluvreme eliminacije (3 - 4 sata) pa su zato pogodniji za prevenciju i tretman VTE. Ovi lekovi se metabolišu preko bubrega, tako da se njihovo antikoagulantno dejstvo značajno povećava kod bubrežne insuficijencije. Osim toga, protamin sulfat značajno slabije inhibira dejstvo niskomolekularnih heparina od nefrakcionisanog heparina. Kao i kod nefrakcionisanog heparina, akutna hemoragija je najozbiljniji neželjeni efekat kod pacijenata koji primaju LMWH.^{41,42}

Pored heparina i niskomolekularnih heparina, u upotrebi su i drugi parenteralni antikoagulansi, hirudini (desirudin, lepirudin i bivalirudin), koji su direktni parenteralni inhibitori trombina, kao i fondaparinuks koji je inhibitor faktora Xa.

Oralni antikoagulansi

Dugi niz godina su antagonisti vitamina K, kao što je varfarin, bili jedini dostupni oralni antikoagulansi za humanu upotrebu. Međutim, zbog velikog rizika od krvarenja kao i zbog potrebe za čestim monitoringom, javila se potreba za razvojem novih antikoagulantnih lekova. Tako su nastali lekovi koji su direktni inhibitori trombina (dabigatran) ili inhibitori faktora Xa (apiksaban i rivaroksaban) koji imaju specifično mesto delovanja u koagulacionoj kaskadi (Slika 3).



Slika 3. Mesta delovanja varfarina i direktnih oralnih antikoagulanasa u koagulacionoj kaskadi (slika preuzeta iz Sabir I et al. Oral anticoagulants for Asian patients with atrial fibrillation. Nat Rev Cardiol 2014. doi:10.1038/nrcardio.2014.22)

Antagonisti vitamina K

Antagonisti vitamina K kao što su kumarinski derivati (varfarin i acenokumarol) i fenindioni, deluju tako što blokiraju vitamin K-epoksid reduktazu sprečavajući formiranje aktivnih oblika vitamin K zavisnih faktora koagulacije u jetri (II, VII, IX i X).^{43,44}

Varfarin se brzo resorbuje iz gastrontestinalnog trakta i maksimalne koncentracije u plazmi dostiže za oko 90 minuta. Poluvreme eliminacije varfarina iznosi 36 - 42 sata, a metabolizam se dominantno odvija u jetri pod dejstvom citohrom P450 enzima.^{43,44} Varfarin pokazuje interakcije sa velikim brojem lekova, hranom (posebno hrana bogata vitaminom K) i dijetetskim suplementima. Brojni lekovi kao što su amjodaron, anabolički steroidi, cefalosporini, eritromicin, ketokonazol, metronidazol, tiroksin, trimetoprim, oralni fluorohinoloni, vitamin E, nesterodini antiinflamatorni lekovi, potenciraju njegov antikoagulantni efekat, dok barbiturati, karbamazepin, penicilin, rifampicin i alkohol smanjuju antikoagulantni efekat varfarina.^{45,46} Terapija varfarinom zahteva stalno laboratorijsko praćenje PT-a. Kod hospitalizovanih pacijenata, PT se prati svakodnevno dok se ne postigne terapijski opseg (eng. *international normalised ratio*, INR 2-3), dok se kod nehospitalizovanih pacijenata PT određuje na nekoliko dana dok se ne postignu stabilne terapijske vrednosti kada se monitoring PT-a može raditi na 2 - 4 nedelje.

Direktni oralni antikoagulansi

Dabigatran eteksilat, rivaroksaban i apiksaban, jedini registrovani direktni oralni antikoagulansi u Srbiji, ranije su bili poznati pod zajedničkim nazivom novi oralni antikoagulansi (eng. *novel oral anticoagulants*, NOAC) i target-specifični antikoagulansi (eng. *target specific oral anticoagulants*, TSOAC). Danas se najčešće nazivaju direktnim oralnim antikoagulansima (DOAK) zato što za ispoljavanje dejstva na molekule u koagulacionoj kaskadi ne zahtevaju kofaktore. Iako je dabigatran prvi odobren za upotrebu, rivaroksaban je prvi direktni oralni antikoagulans odobren za tretman venske tromboembolije 2012. godine, a zatim apiksaban i dabigatran 2014. godine. Glavna prednost direktnih oralnih antikoagulanasa u odnosu na konvencionalnu terapiju varfarinom je predvidljivija farmakokinetika i manje interakcija sa drugim lekovima. Za razliku od varfarin čija primena zahteva često laboratorijsko praćenje i prilagođavanje doze, kod primene ovih lekova nema potrebe za stalnim laboratorijskim praćenjem i doze su stabilne čime je tretman značajno pojednostavljen.⁴⁷ Sintezom DOAK-a omogućena je primena fiksnih doza leka bez stalnog terapijskog monitoringa.

Direktni oralni antikoagulansi se mogu podeliti u dve grupe: direktni inhibitori trombina (eng. *direct thrombin infibitors*, DTIs) i inhibitori faktora Xa. Dabigatran je jedini direktan inhibitor trombina. Trombin je kofaktor koji omogućava konverziju fibrinogena u fibrin, što predstavlja prvi korak u formiranju tromba u procesu koagulacije. Inhibicijom trombina, prevenira se nastanak tromboze. Oralni inhibitori faktora Xa, rivaroksaban i apiksaban, deluju ranije u koagulacionoj kaskadi. Faktor Xa je neophodan za sintezu trombina, tako da njegovom inhibicijom direktno će se smanjiti produkcija trombina, a indirektno trombinom indukovana agregacija trombocita.⁴⁷

Dabigatran eteksilat

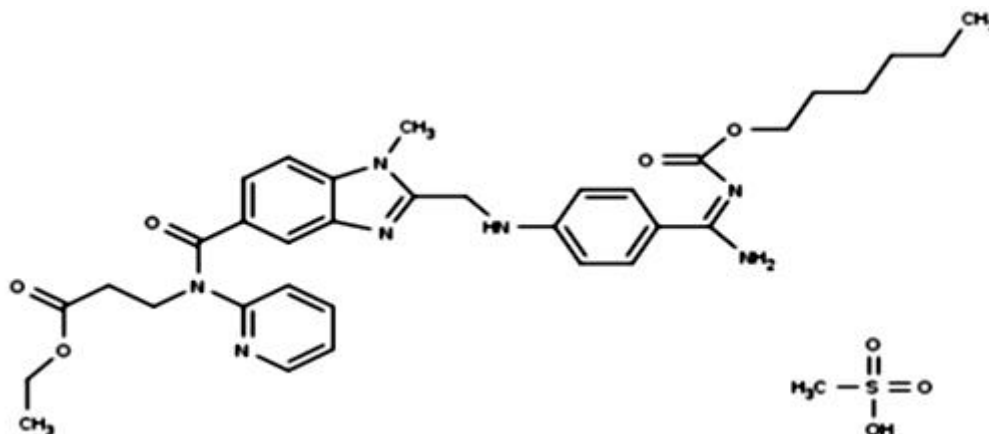
Dabigatran eteksilat je prvi oralni antikoagulans odobren za upotrebu u Sjedinjenim američkim državama nakon što je varfarin, kao jedini antikoagulans bio u upotrebi više od 60 godina. Dabigatran je 2010. godine odobren za primenu u cilju smanjenja rizika od moždanog udara i sistemske embolije kod pacijenata sa nevalvularnom atrijalnom fibrilacijom. Kasnije je odobren za tretman duboke venske tromboze i plućne tromboembolije kod pacijenata koji su već 5 do 10 dana na terapiji parenteralnim antikoagulansima, kao i za smanjenje rizika od ponovne pojave duboke venske tromboze i plućne embolije.^{32,48,49}

Uobičajena doza za lečenje VTE je 150 mg dva puta dnevno, nakon što je prethodno 5-7 dana terapija započeta parenteralnim antikoagulansom (heparinom ili LMWH). Niže doze dabigatrana nisu adekvatno testirane u ovoj indikaciji.

Hemijska struktura

Sam dabigatran je visoko polarizovan, hidrofilni molekul koji se ne resorbuje unet oralnim putem pa je zbog toga formulisan lipofilni prolek dabigatran-eteksilat čija je apsorpcija povećana u kiseloj sredini (Slika 4). Zbog toga kapsula sadrži pelete dabigatran eteksilata sa jezgrom od tartarne kiseline. Dabigatran eteksilat je jedinjenje molekulske formule C₃₄H₄₁N₇O₅ (heksil 2-(4-(((5-((3-etoksi-3-oksopropil)(piridin-2-il)karbamoil)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)amino)benziliden)hidrazinkarboksilat) i odgovarajuće molekulske mase 627.7 g/mol.

Bioraspoloživost takve formulacije je svega 6,5% ali ukoliko se kapsula otvori, smrvi ili žvaće bioraspoloživost raste na 75%, što može dovesti do brze apsorpcije i porasta serumskih nivoa leka.^{48,50,51}



Slika 4. Hemijska struktura dabigatran-eteksilata

Farmakokinetika

Apsorpcija dabigatrana odvija se preko P - glikoproteina (P - gp) kao transportera koji se nalazi u mnogim tkivima, uključujući i tanko crevo. Supstrati za P - gp se ispumpavaju iz zida intestinuma nazad u lumen gastrointestinalnog trakta, smanjujući apsorpciju leka. Lekovi koji su induktori P-gp će dodatno smanjiti apsorpciju, a inhibitori će povećati nivo supstrata u serumu.⁵² Zato, izbegavanje istovremene upotrebe inhibitora ili induktora P - gp sa dabigatranom je važno za smanjenje rizika od ozbiljnih neželjenih pojava ili neuspeha terapije. Pacijenti čiji je klirens kreatinina (CrCl) < 50 ml/min bi trebalo da izbegavaju istovremenu upotrebu dabigatrana i inhibitora P - gp, bez obzira da li su to slabi ili jaki inhibitori.^{47,48}

Dabigatran eteksilat podleže brzom hidrolizi do aktivnog metabolita dabigatrana koji postiže maksimalne koncentracije u plazmi u roku od 1,5 do 3 sata nakon primene, a stanje ravnoteže posle otprilike tri dana kontinuiranog doziranja. Bubrežna ekskrecija dabigatrana čini oko 80% ukupne eliminacije leka. Kod zdravih volontera, poluživot eliminacije dabigatrana je 12 - 17 sati dok je kod pacijenata sa renalnom disfunkcijom ono produženo i značajno produžava izloženost aktivnom leku što se iskazuje preko površine ispod krive (PIK). Pacijenti sa umerenom renalnom disfunkcijom (CrCl 30-50 ml/min) imaju poluvreme eliminacije 18 sati i 3,2 puta

povećanje PIK-a, dok pacijenti sa teškom renalnom disfunkcijom (CrCl 15-30 ml/min) imaju poluvreme eliminacije 28 sati i 6,3 puta povećanje PIK.^{47,48}

Ne postoje značajne razlike u farmakokinetici dabigatrana u odnosu na pol, godine, rasu ili ekstremnu telesnu masu. Preporučena doza za lečenje venske tromboembolije je 150 mg dva puta dnevno, a pacijenti sa klirensom kreatinina CrCl < 30 ml/min ne smeju da uzimaju ovaj lek.^{47,48}

Mehanizam dejstva

Dabigatran je potentan, specifičan, direktan inhibitor slobodnog trombina i trombina vezanog za fibrin kao i agregacije trombocita indukovane trombinom.^{48,53} Sposobnost dabigatrana da inhibira trombin vezan za fibrin je jedna od prednosti dabigatrana u odnosu na heparin jer vezani trombin može da nastavi širenje tromba.⁵⁴ Inhibicijom trombina, dabigatran sprečava pretvaranje fibrinogena u fibrin, umrežavanje monomera fibrina, aktivaciju trombocita i inhibicija fibrinolize.

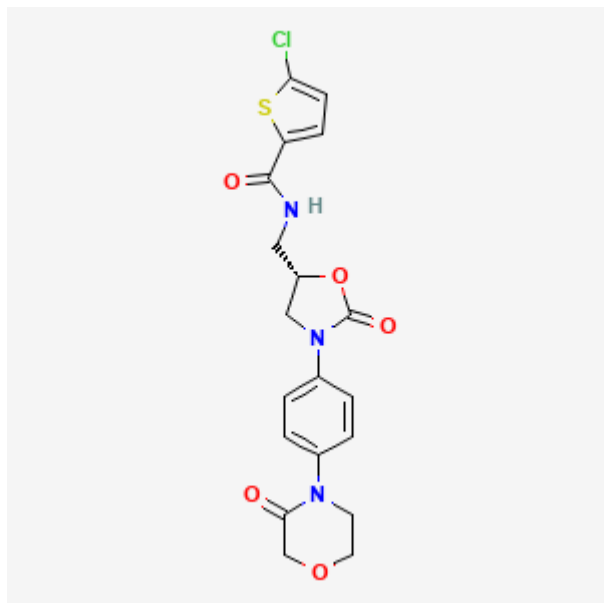
Rivaroksaban

Rivaroksaban se koristi za prevenciju moždanog udara i sistemske embolije kod odraslih pacijenata sa nevalvularnom atrijskom fibrilacijom. Indikaciju za oralnu antikoagulantnu terapiju u prevenciji moždanog udara kod bolesnika sa atrijskom fibrilacijom imaju muškarci sa CHADS2VA2Sc skorom 1 i više i žene sa skorom 2 i više.⁵⁵ Koristi se i za prevenciju i tretman duboke venske tromboze i plućne tromboembolije, a prema novim preporukama, DOAK imaju prednost u odnosu na vitamin K antagoniste u obe indikacije.^{24,55,56}

Preporučena doza za lečenje venskog tromboembolizma je 15 mg dva puta dnevno u prvih 21 dan, a potom 20 mg jedanput dnevno do kraja lečenja.⁵⁶ Nakon lečenja i po isteku najmanje šest meseci sekundarne profilakse na punoj dozi, dugotrajna profilaksa VTE se može nastaviti sa redukovanom dozom 10 mg jedanput dnevno.²⁴

Hemijska struktura

Rivaroksaban je jedinjenje molekulske formule C₁₉H₁₈ClN₃O₅S ((S)-5-hloro-N-{[2-okso-3-[4-(3-oksomorfolino-4-il)fenil] oksazolidin-5-il] metil}tiofen-2-karboksamid) i odgovarajuće molekulske mase 435.9 g/mol (Slika 5).



Slika 5. Hemijska struktura rivaroksabana

Farmakokinetika

Rivaroksaban se brzo resorbuje sa maksimalnom koncentracijom u plazmi (C_{max}) koja se postiže 2 – 4 sata posle unosa tablete. Lek se može slomiti pri primeni ukoliko je neophodno.⁵⁶

Rivaroksaban pokazuje dozno zavisnu bioraspoloživost na koju utiče prisustvo hrane. Pri nižim dozama (2,5 mg i 10 mg), bioraspoloživost je 80% do 100%, i lek se može uzeti bez obzira na vreme obroka. Pri višim dozama (15 mg i 20 mg), bioraspoloživost je 66% na prazan želudac, a veća od 80% u prisustvu hrane. Zbog toga, veće doze treba uzeti sa glavnim obrokom kako bi se obezbedio adekvatan nivo leka u serumu.⁵⁶

Farmakokinetika rivaroksabana je približno linearna do oko 15 mg jednom dnevno u uslovima gladovanja. Sa unosom hrane tablete od 10 mg, 15 mg i 20 mg su pokazale proporcionalnost dozi. U većim dozama, resorpcija rivaroksabana je ograničena brzinom rastvaranja tablete, smanjenom bioraspoloživošću i smanjenjem brzine resorpcije kako doza raste.⁵⁶

Približno 2/3 unete doze rivaroksabana podleže metaboličkoj razgradnji, polovina nastalih metabolita se eliminiše putem bubrega, a druga polovina putem fecesa. Preostala 1/3 unete doze

leka izlučuje se putem bubrega, u neizmenjenom obliku koji se može naći u urinu, pretežno kao posledica tubularne ekskrecije.⁵⁶

Rivaroksaban se metaboliše preko CYP3A4, CYP2J2 i CYP-nezavisnih mehanizama. Glavni putevi biotransformacije su oksidacija morfolinskog dela molekula i hidroliza amidnih veza. Rivaroksaban je i supstrat za transportni protein P - gp i karcinom dojke-rezistentni protein (eng. *breast cancer resistance protein*, BCRP).⁵⁶

Lekovi koji su inhibitori P - gp i CYP3A4 mogu povećati serumski nivo rivaroksabana do toksičnih nivoa. Isto tako, istovremena upotreba induktora ovih enzima može dovesti do nedovoljne koncentracije rivaroksabana u serumu i do neuspeha terapije. Upotrebu ketokonazola, itrakonazola, lopinavira, ritonavira, karbamazepina, fenitoina i rifampina bi trebalo izbegavati kod pacijenata koji dobijaju rivaroksaban. Kod mladih volontera, uočeno je da je poluvreme eliminacije 5 – 9 sati dok se kod starijih pacijenata povećava na 11 - 13 sati. Rivaroksaban bi trebalo izbegavati u prevenciji venskog tromboembolizma kod pacijenata sa CrCl < 30 ml/min.^{47,56}

Nije zabeležena značajna akumulacija rivaroksabana pri višestrukom doziranju kod zdravih odraslih osoba i ne postoje značajne razlike u farmakokinetici rivaroksabana u odnosu na pol, godine, rasu ili prekomernu telesnu masu.⁵⁶⁻⁵⁸

Mehanizam dejstva

Rivaroksaban je visokoselektivan direktni inhibitor faktora Xa, slobodnog u plazmi, vezanog za ugrušak ili u okviru protrombinaza kompleksa čime se inhibira i unutrašnji i spoljašnji put koagulacije krvi, inhibirajući i stvaranje trombina i formiranje tromba.⁵⁶

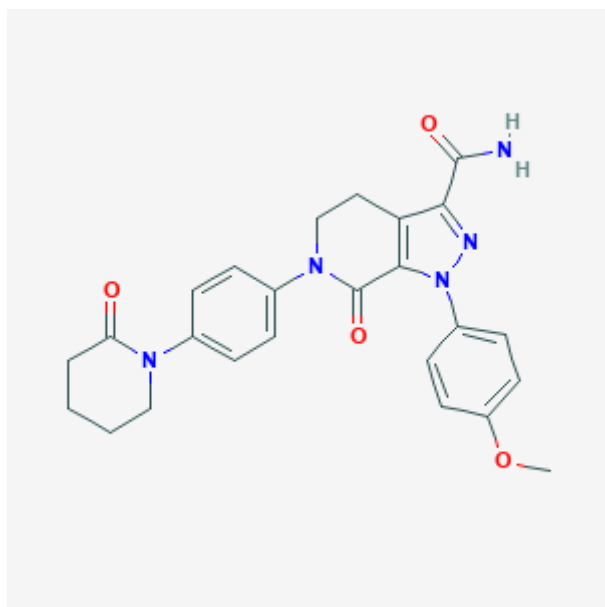
Apiksaban

Američka agencija za hranu i lekove (eng. *Food and drug administration*, FDA) je 2012. godine odobrila primenu apiksabana u prevenciji moždanog udara i sistemske embolije kod pacijenata sa atrijskom fibrilacijom, a 2014. godine za tretman i profilaksu venske tromboembolije.⁵⁹

Uobičajena doza za lečenje VTE je 10 mg dva puta dnevno, tokom prvih 7 dana, a zatim 5 mg dva puta dnevno do kraja lečenja. Nakon lečenja i po isteku najmanje šest meseci sekundarne profilakse na punoj dozi, dugotrajna profilaksa VTE se može nastaviti sa dozom 2,5 mg dva puta dnevno.^{24,47,59}

Hemijska struktura

Apiksaban je jedinjenje molekulske formule C₂₅H₂₅N₅O₄ (1-(4-metoksifenil)-7-okso-6-[4-(2-okso-1-piperidin-1-fenil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-karboksamid) i odgovarajuće molekulske mase 459,5 g/mol. Postoji kao beli do bledo žuti kristalni prah, sa rastvorljivošću u vodi 0,028 mg/ml i podeonim koeficijentom 44,7 (log Po/w = 1,65) pri pH 7,4 (n-oktanol/vodeni pufer) na 24 °C. Molekul nema hiralne centre pa time ni stereoizomere (Slika 6).⁶⁰



Slika 6. Hemijska struktura apiksabana (preuzeto sa sajta www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Farmakokinetika

Apiksaban se brzo resorbuje nakon oralnog unosa, a maksimalne koncentracije u plazmi dostiže nakon 3 - 4 sata. Bioraspoloživost apiksabana ne zavisi od unosa hrane i iznosi 50% zbog nekompletne resorpcije i efekta prvog prolaska kroz jetru. Najvećim delom se apsorbuje u tankom crevu i ascedentnom kolonu koji učestvuju sa oko 55% ukupne apsorpcije. Apiksaban pokazuje linearnu dozno-zavisnu farmakokinetiku prilikom primene doze od 10 mg. Za doze do 25 mg, pokazuje slabiju apsorpciju zbog smanjene rastvorljivosti, a time i bioraspoloživost leka. Poluvreme eliminacije apiksabana kod zdravih dobrovoljaca iznosi 8 - 14 sati.^{61,62}

U plazmi se dominantno vezuje za albumin (oko 85%), a vezivanje za proteine plazme je nepromenjeno kod pacijenata sa bubrežnom insuficijencijom ($CrCl < 15$ ml/min) ili blagom do umerenom insuficijencijom jetre.^{60,63,64} Volumen distribucije apiksabana iznosi oko 21 L i apiksaban se ravnomerno distribuira između plazme i eritrocita.^{59,65} Ukupni plazma klirens iznosi oko 3,3 L/h dok je renalni klirens oko 0,9 L/h (blizu 27% ukupnog klirensa).

Metabolizam apiksabana odvija se u jetri, a deo leka se kao nepromenjen ekskretuje žučnim i renalnim putem.^{66,67} Apiksaban se metaboliše O-demetilacijom, hidroksilacijom i sulfatacijom hidroksilovanog O-demetil metabolita posredstvom citohrom P450 enzima (CYP3A4/5), a u manjoj meri preko CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19 i CYP2J2. Pored CYP3A4/5, apiksaban je i supstrat za transporter P - gp pa ukoliko se zajedno sa apiksabanom u dozi od 5 mg i 10 mg uzima neki od snažnih inhibitora P-gp i CYP3A4 (ketokonazol, itraconazol, lopinavir, ritonavir, indinavir), preporučuje se smanjenje doze za 50%. Pacijentima koji apiksaban uzimaju u dozi od 2,5 mg se ne savetuje istovremena primena sa ovim lekovima. Istovremenu primenu snažnih induktora P - gp i CYP3A4 (karbamazepin, fenitoin, rifampin) sa apiksabanom, treba izbegavati kod svih pacijenata, bez obzira na primenjenu dozu apiksabana.^{47,59,68}

Mehanizam dejstva

Apiksaban je direktni oralni, reverzibilni i visokoselektivni inhibitor faktora Xa, bilo da je slobodan u plazmi, vezan za ugrušak ili je deo protrombinaza kompleksa.^{69,70} Inhibicijom faktora Xa, apiksaban smanjuje produkciju trombina i razvoj tromba, kao i agregaciju trombocita indukovanu trombinom, što ukazuje da se može koristiti u lečenju venske ali može imati efekata i

kod arterijske tromboze.⁶⁵ Glavni cirkulišući metabolit apiksabana, O-dezmetil apiksaban ne pokazuje inhibitornu aktivnost prema faktoru Xa.

Laboratorijsko praćenje DOAK-a

Terapijsko praćenje leka (eng. *therapeutic drug monitoring*, TDM) predstavlja merenje koncentracije leka u biološkim uzorcima pacijenata koji su na terapiji tim lekom. Razlozi za terapijsko praćenje leka su brojni, a među najznačajnijim su poboljšanje efekata terapije i smanjivanje pojave toksičnih efekata koji se mogu javiti kao posledica varijacije u koncentraciji leka u krvi, promena u farmakokinetici leka usled postojanja komorbiditeta ili ukoliko je neophodno da pacijent uzima i druge lekove koji utiču na farmakokinetiku DOAK-a. Uzimajući u obzir da su lekovi iz grupe DOAK-a u upotrebi svega nešto više od 10 godina, nema dovoljno kliničkih podataka o toksičnosti ovih lekova, a intenzivno se radi i na proširenju indikacija za primenu. S obzirom da ovi lekovi prolaze placentarnu barijeru i da se izlučuju u mleku, kontraindикована je njihova primena u trudnoći i kod dojljia. Iako su predvidiva farmakokinetika, slaba interakcija sa drugim lekovima i smanjena potreba za stalnim laboratorijskim monitoringom glavne prednosti DOAK-a u odnosu na antagoniste vitamina K, ne postoji antikoagulans koji smanjuje rizik od razvoja tromboze bez istovremenog rizika od krvarenja. Takođe, velika inter-individualna varijabilnost u farmakodinamici i farmakokinetici (transport i metabolizam) ovih lekova, jednim delom se može objasniti polimorfnošću gena čiji produkti učestvuju u ovim procesima. U kliničkoj praksi, poznavanje farmakogenetike leka može pomoći pri izboru odgovarajućeg DOAK-a u zavisnosti od karakteristika svakog pacijenta tako da se svede na minimum rizik od krvarenja i tromboembolijskog događaja ali i isključiti eventualna rezistencija na terapiju ili toksičnost.^{71,72} Takođe, studije pokazuju da 30% pacijenata koji su na terapiji nekim od DOAK-a istovremeno dobijaju bar jedan od lekova koji su inhibitori ili induktori CYP3A i P-gp.⁷³⁻⁷⁸ U uputstvima za upotrebu leka savetuje se izbegavanje istovremene primene ovih lekova sa snažnim inhibitorima CYP3A i P-gp, ali trenutno nema vodiča za istovremenu primenu ovih lekova sa blagim ili umerenim modulatorima CYP3A i P-gp.

U situacijama kao što su predoziranje, iznenadna krvarenja, priprema za hitnu operaciju, procena komplijanse, evaluacija interakcije lekova, ili procena akumulacije leka u slučaju bubrežne ili hepatične insuficijencije, dokazivanje i određivanje DOAK-a u krvi pacijenta je od

velike koristi lekaru. Nisu retke ni situacije da lekar nema informaciju koji antikoagulans pacijent koristi u terapiji, niti da li se uopšte radi o nekom od lekova iz grupe DOAK-a.⁷⁹ Zbog ograničenosti podataka iz kliničke prakse podaci o toksičnim koncentracijama nisu dostupni, a u literaturi se navodi opseg terapijskih koncentracija u plazmi za sva tri leka od 20 ng/ml do 500 ng/ml.^{36,80–83}

Analitičke metode za određivanje DOAK-a

Terapijski monitoring lekova iz grupe DOAK-a predstavlja važan segment za praćenje terapijskih i toksičnih efekata. Za procenu antikoagulantnog efekata i doziranja pacijenata dostupni su konvencionalni testovi koagulacije, a porast vrednosti ovih markera ukazuje na aktivnost antikoagulansa u organizmu. Oni se međutim, ne mogu koristiti za predviđanje nivoa leka u plazmi pacijenata.⁴⁷

Idealan laboratorijski test je jeftin, brz, dostupan i tačan. Konvencionalni testovi hemostaze su jeftini, lako dostupni i brzi ali se ne mogu koristiti za kvantifikaciju DOAK-a u plazmi koja je neophodna u određenim kliničkim situacijama.⁷⁹ Specifične analitičke metode koje se koriste u ove svrhe nisu lako dostupne i zahtevaju skupu opremu i obučen i kvalifikovan kadar što su i razlozi zbog kojih ove metode nisu još uvek u rutinskoj upotrebi.

Tečna hromatografija sa tandem masenom detekcijom (eng. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry*, LC-MS/MS) predstavlja jednu od najosetljivijih i visokospecifičnih analitičkih metoda za detekciju, identifikaciju i kvantifikaciju analiziranih jedinjenja i predstavlja zlatni standard za dokazivanje i kvantifikaciju DOAK-a u biološkim uzorcima.⁸⁴ Tečna hromatografija (eng. *liquid chromatography*, LC) je separaciona analitička tehnika koja se koristi za razdvajanje supstanci iz smeše na osnovu različitih afiniteta ispitivanih supstanci između dve faze: mobilne i stacionarne. Mobilna faza je tečnost, dok je stacionarna faza čvrsta ili tečna fiksirana na analitičkoj koloni. Nakon razdvajanja na odgovarajućoj hromatografskoj koloni, eluirani analiti u struji mobilne faze dospevaju do detektora (maseni spektrometar). Masena spektrometrija (eng. *mass spectrometry*, MS) je analitička tehnika koja se zasniva na razdvajanju jonizovanih atoma ili molekula u gasovitoj fazi prema njihovom odnosu mase i naelektrisanja (m/z). Jonizacijom analita formiraju se karakteristični joni atoma i molekula ili grupe jona koji predstavljaju fragmente jonizovanih molekula. Joni se razdvajaju pod dejstvom

magnetnog i/ili električnog polja u visokom vakuumu (obično 10⁻⁵ Pa) i grafički beleže u vidu masenog spektra kao relativni intenzitet odnosa m/z svakog jona sa vremenom. Poređenjem dobijenog masenog spektra sa spektrima analitičkih standarda ili bibliotekom spektara koji su snimljeni pod istim uslovima, vrši se analiza fragmenata koji potiču od analita. Za postizanje visoke selektivnosti i specifičnosti metode postoji i mogućnost da se joni koji izlaze iz jednog masenog spektrometra usmere na fragmentaciju u sledeći maseni spektrometar - tandem masena detekcija (MS/MS).⁸⁵ Prednosti ove analitičke tehnike su u tome što na rezultate ne utiču varijacije u nivoima faktora koagulacije, prisustvo lupus antikoagulansa, aktivnih metabolita leka ili preanalitički faktori koji utiču na mnoge testove koagulacije. Ipak, LC-MS/MS je nedostupna u većini laboratorija zbog visoke cene opreme i nedostatka kvalifikovanog kadra za rad takvim analitičkim tehnikama.

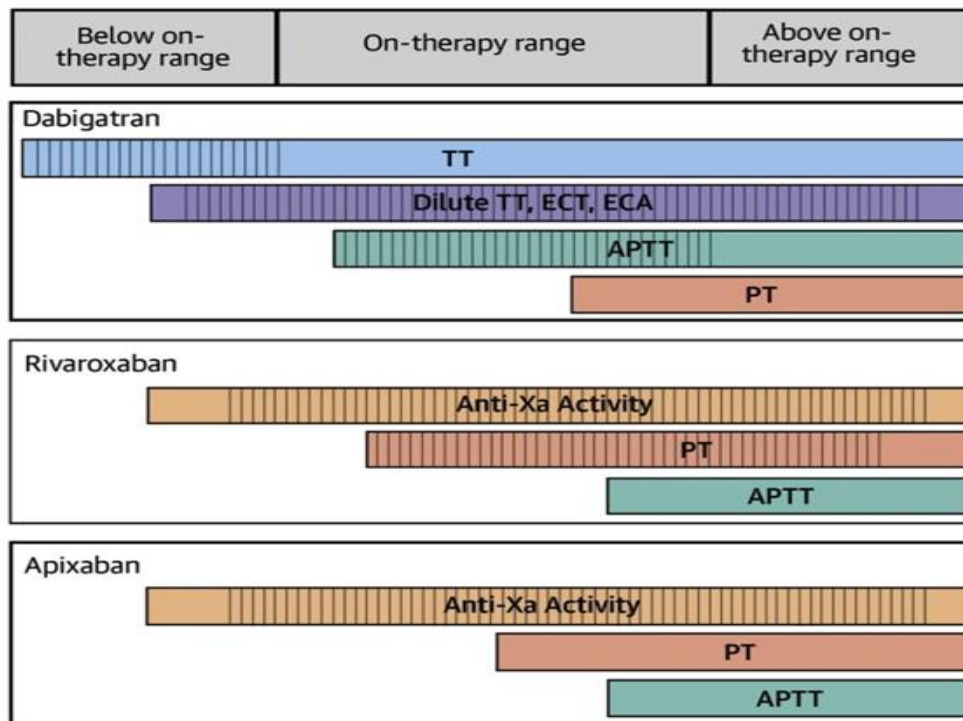
Konvencionalni testovi hemostaze

Dva najčešća pitanja koja kliničari postavljaju kod pacijenata koji su na terapiji nekim od DOAK-a, je da li je lek prisutan i u kojoj koncentraciji. S obzirom da u većini kliničkih laboratorija precizno određivanje koncentracije DOAK-a nije moguće, upotreba konvencionalnih testova hemostaze za procenu nivoa leka i/ili efekta može biti od pomoći. Konvencionalni testovi hemostaze nisu podjednako osetljivi na različite DOAK-e i njihove različite koncentracije u plazmi. Test aPTT je značajno osetljiviji na antikoagulantne efekte dabigatrana nego rivaroksabana ili apiksabana kod kojih je aPTT povišen samo u slučaju predoziranja. U zavisnosti od osetljivosti samog reagensa za aPTT test, rezultat u okviru referentnih vrednosti ukazuje na niske koncentracije ili odsustvo dabigatrana u krvi dok povišene vrednosti aPTT-a ukazuju na nivo dabigatrana unutar ili iznad terapijskih koncentracija leka u krvi. Međutim, vrednosti aPTT testa nisu specifične za dabigatran i mogu biti povišene u stanjima deficijencije nekog od faktora koagulacije ili kod prisustva lupus antikoagulansa.

Slično je i sa vrednostima PT-a čija se vrednost značajno razlikuje od vrste DOAK-a.^{86,87} Takođe, vrednosti INR-a ne treba koristiti za procenu efekta leka pacijenata koji su na nekom od DOAK-a zato što vrednosti internacionalnog indeksa osetljivosti (eng. *international sensitivity index*, ISI) koji se koristi za preračunavanje INR-a, zavise od osetljivosti reagensa prema vitamin K zavisnim faktorima koagulacije, a ne prema DOAK-ima.

Trombinsko vreme (eng. *thrombin time*, TT) ili diluciono trombinsko vreme (eng. *diluted thrombin time*, dTT) su testovi koji su vrlo osetljivi na efekte dabigatrana, te stoga mogu biti povišeni i pri vrlo niskim koncentracijama. Normalne vrednosti TT kod pacijenata koji primaju dabigatran sa visokom osetljivošću isključuju prisustvo leka pa se taj test može koristiti za pouzdanu procenu prisustva dabigatrana u krvi pacijenata.⁸⁸

Kao usvojeni konvencionalni test za merenje antikoagulantog efekta rivaroksabana i apiksabana je anti-Xa test. Vrednosti anti-Xa testa ispod limita kvantifikacije (eng. *limit of quantification*, LOQ) ukazuju na odsustvo inhibitora FXa. Heparinom kalibrisan anti-Xa test pokazuje bolju osetljivost u odnosu na LMWH-om kalibrisan anti-Xa test prema rivaroksabanu i apiksabanu pa se ovaj test može koristiti za procenu da li je pacijent na terapiji antikoagulantnim lekovima koji su inhibitori faktora Xa (Slika 7).^{89,90} Najbolju osetljivost prema rivaroksabanu i apiksabanu pokazuje anti-Xa test kalibrisan upravo rivaroksabanom ili apiksabanom.



Slika 7. Senzitivnost i linearnost koagulacionih testova za subterapijske, terapijske i supraterapijske koncentracije dabigatrana, rivaroksabana i apiksabana (slika je preuzeta iz Cuker A et al. Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the Non-Vitamin K Oral Anticoagulants. doi: [10.1016/j.jacc.2014.05.065](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.05.065))

Iako je poznat mehanizam dejstva DOAK-a, nije poznato kako oni utiču na druge komponente u koagulacionoj kaskadi kroz direktni ili indirektni odnos sa ciljnim faktorom koji inhibiraju (anti-Xa ili trombin). Bolje upoznavanje uticaja DOAK-a na sve elemente koagulacionog sistema može nas vremenom dovesti do odgovora da li je neki među DOAK-ima bezbedniji ili efikasniji.

HIPOTEZE

1. Nulta hipoteza: Ne postoji razlika u efektivnosti između ispitivana tri DOAK-a u odnosu na aktivnosti pojedinih faktora koagulacione kaskade (faktor II, faktor VII, faktor VIII i fibrinogen), i antikoagulacionih proteina (antitrombina i proteina C) nakon mesec dana stabilne terapije direktnim oralnim antikoagulansima (dabigatranom, rivaroksabanom i apiksabanom) kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

2. Nulta hipoteza: Ne postoji razlika u efektivnosti između ispitivana tri DOAK-a u odnosu na koncentraciju D-dimera ili anti-Xa aktivnost (samo za pacijente na terapiji rivaroksabanom i apiksabanom) nakon mesec dana stabilne terapije direktnim oralnim antikoagulansima kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

CILJEVI

- Koristeći se osnovnim demografskim karakteristikama, faktorima rizika za kardiovaskularna oboljenja i laboratorijskim parametrima na prijemu u bolnicu, statistički proceniti postojanje razlika između grupa pacijenata u koje su svrstani u zavisnosti koji DOAK dobijaju.
- Nakon mesec dana stabilne terapije sa jednim od DOAK-a, u fazi očekivane najniže koncentracije leka, odrediti aktivnost faktora koagulacije: II, VII, VIII, kao i proteina C, antitrombina, potom koncentracije fibrinogena i D-dimera. Takođe odrediti i anti-Xa aktivnost kod pacijenata koji su lečeni apiksabanom i rivaroksabanom.
- Statistički uporediti vrednosti dobijenih zavisnih varijabli između tri grupe pacijenata i na taj način utvrditi da li postoje razlike koje bi objasnile, ili ukazale na različit antikoagulantni ili hemostatski potencijal DOAK-a, a posebno onih sa istim mehanizmom dejstva.
- Pretragom dostupne literature uporediti dobijene rezultate sa rezultatima drugih studija i objasniti različiti uticaj DOAK-a na faktore koagulacione kaskade sa posebnim osvrtom na klinički značaj dobijenih rezultata.

METODOLOGIJA

U ovoj kliničkoj retrospektivnoj i delom prospektivnoj studiji, praćeni su konsekutivni pacijenti sa PE koji su lečeni u Klinici za urgentnu internu medicinu Vojnomedicinske akademije, u periodu od novembra 2014. do kraja 2021. godine. Dijagnoza i lečenje PE sprovedeni su prema vodiču za plućnu emboliju Evropskog udruženja kardiologa iz 2014. i 2019. godine, i prema smernicama dobre kliničke prakse, poštujući i same bolničke protokole.^{24,91} Nakon prijema na Kliniku za urgentnu internu medicinu pacijentima su uzeti anamnestički i heteroanamnestički podaci od članova porodice ili dostupne medicinske dokumentacije na osnovu kojih su dobijeni neophodni demografski i medicinski podaci o pridruženim komorbiditetima. Na samom prijemu pacijentima je iz kubitalne vene uzimana krv za hitne laboratorijske analize, a uzorci krvi za određivanje kreatinina, natriuretičnog peptida i C - reaktivnog proteina, sakupljani su narednog jutra. U okviru hitnih laboratorijskih analiza rađeni su kompletna krvna slika sa leukocitarnom formulom i osnovni biohemijski parametri (glikemija, urea, kreatinin, elektroliti), kao i D-dimer i određivanje aktivnosti kardiospecifičnih markera (obavezno troponin). Navedeni laboratorijski parametri su deo redovnih laboratorijskih analiza prema bolničkom protokolu za dijagnostiku i lečenje PE, pa nije bilo potrebno pribavljanje posebnog informisanog pristanka pacijenta. Sistolni pritisak desne komore određivan je transtorakalnom ehokardiografijom. Nakon inicijalnog lečenja akutne plućne embolije, pacijenti su raspoređivani u jednu od tri grupe, u zavisnosti od vrste DOAK-a koji dobijaju u daljoj terapiji: apiksaban, rivaroksaban ili dabigatran. Svi pacijenti koji su uključeni u ovu studiju nisu prethodno bili na antikoagulantnoj terapiji. Isključujući faktori za ulazak u studiju bili su prisustvo maligne bolesti, ili bilo koje inflamatorne ili autoimmune bolesti, kao i pacijenti čija je glomerularna filtracija ispod 50 ml/min. Bubrežna funkcija je procenjivana na osnovu brzine glomerularne filtracije koja je izračunavana preko Cockcroft-Gault jednačine: $CrCl$ (muškarci) = $([140 - \text{godine života}] \times \text{telesna masa u kg}) / (\text{serumski kreatinin} \times 72)$; $CrCl$ (žene) = $CrCl$ (muškarci) $\times 0,85$. Ostali isključujući kriterijumi bili su simptomatska rekurentna plućna embolija, klinički značajno krvarenje ili ukoliko je bilo potrebno promeniti dozu ili vrstu antikoagulanasa tokom kontrolnog perioda.

Sva tri DOAK-a, korišćena u studiji, propisivana su u preporučenoj dozi za plućnu tromboemboliju: apiksaban 10 mg dva puta dnevno prvih 7 dana, a zatim 5 mg dva puta dnevno; rivaroksaban 15 mg dva puta dnevno prvih 21 dan, a zatim 20 mg jednom dnevno; dabigatran 150 mg dva puta dnevno. Terapija je započeta najmanje trećeg do petog dana od prijema u bolnicu nakon prethodne primene heparina (bilo niskomolekularnog ili nefrakcionisanog). Pacijenti su pozivani na zakazanu kontrolu nakon okvirno mesec dana od otpusta, u periodu između 30-og i 40-og dana terapije nekim od DOAK-a. Tom prilikom uzimani su uzorci krvi 15 minuta pre nego što će pacijent uzeti narednu dozu DOAK-a, venepunkcijom medijalne kubitalne vene kada se očekuju najniže koncentracije leka u plazmi. Svaki uzorak krvi je odmah poslat u laboratoriju na analizu bez prethodnog zamrzavanja.

U ovoj studiji određivane su aktivnosti nekoliko ključnih faktora koagulacione kaskade: faktora koagulacije II, VII i VIII, proteina C, antitrombina, kao i koncentracije fibrinogena i D-dimera. Za određivanje postignutog terapijskog efekta rivaroksabana i apiksabana određivana je anti-Xa aktivnost. Takođe, rađeni su i standardni testovi koagulacije (aPTT i PT). Sve navedene laboratorijske analize urađene su u Institutu za medicinsku biohemiju Vojnomedicinske akademije na automatskom analizatoru – koagulometru BCS-XP Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH (Marburg, Germany), a reagensi i testovi obezbeđeni su od istog proizvođača:

1. *Berichrom ATIII* za kvantitativno određivanje aktivnog antitrombina. Dobijene vrednosti su izražene u IU/ml jedinicama.

Princip metode za određivanje antitrombina u plazmi se zasniva na konverziji antitrombina iz uzorka heparinom do neposrednog inhibitora koji inaktivira prisutan trombin. Preostala količina trombina se određuje kinetičkim testom kojim se meri povećanje apsorbancije na talasnoj dužini 405 nm, a promena apsorbancije je obrnuto srazmerna aktivnosti antitrombina prisutnog u uzorku plazme pacijenta.

2. *Protein C* za kvantitativno određivanje proteina C. Dobijene vrednosti su izražene u IU/ml jedinicama.

Princip metode za određivanje proteina C u plazmi se zasniva na aktivaciji proteina C dodatkom specifičnog zmijskog otrova koji se nalazi u Protein C aktivator reagensu. Aktivirani protein C inhibira faktor V i faktor VIII koji se nalaze u dodatoj protein C deficitnoj plazmi. Ova

inhibiciona reakcija ima za posledicu produženje aPTT čime se meri sadržaj proteina C u plazmi pacijenta. Na osnovu kalibracione krive očitava se količina proteina C u uzorcima plazme pacijenta.

3. *Deficient plasma* za određivanje aktivnosti faktora koagulacije II, VII i VIII automatskom koagulometrijskom metodom. Dobijene vrednosti su izražene u IU/ml jedinicama.

U plazmi koja je deficitarna u bilo kom od faktora koji čine spoljašnji put, dobija se produženo PT. Faktor deficitarna plazma može da se upotrebi za potvrdu deficijencije faktora i za identifikaciju i kvantifikaciju deficitarnog faktora u plazmi pacijenta. Princip metode kojom je određivana aktivnost faktora II i VII zasniva se na upotrebi smeše faktor deficitarne plazme i plazme pacijenta koja se testira PT analizom. Rezultati se interpretiraju korišćenjem referentne krive koja je dobijena određivanjem razblaženja standardne humane plazme ili “pool”-a normalne plazme koja je pomešana sa faktor deficitarnom plazmom. Plazma pacijenta koja je deficitarna u specifičnom faktoru ne može da se prilagodi odsustvu faktora u faktor deficitarnoj plazmi i stoga će davati produženo PT.

U plazmi koja je deficitarna u bilo kom od faktora koji čine unutrašnji put se dobija produženo aPTT. Princip metode kojom je određivana aktivnost faktora VIII zasniva se na upotrebi smeše faktor deficitarne plazme i plazme pacijenta koja se testira u aPTT analizi. Rezultati se interpretiraju korišćenjem referentne krive koja je dobijena određivanjem razblaženja standardne humane plazme ili “pool”-a normalne plazme koja je pomešana sa deficitarnom plazmom. Plazma pacijenta koja je deficitarna u specifičnom faktoru ne može da se prilagodi odsustvu faktora u faktor deficitarnoj plazmi i stoga će davati produženo vreme u aPTT analizi.

4. *Siemens Multifibren U reagents* za kvantitativno određivanje fibrinogena modifikovanom Clauss-ovom metodom. Dobijene vrednosti su izražene u g/L jedinicama.

Koncentracija fibrinogena u plazmi pacijenata određivana je dodatku trombina u višku pri čemu dolazi do koagulacije. U ovom slučaju vreme koagulacije je direktno proporcionalno količini fibrinogena u uzorku.

5. *Immunoturbidimetric quantitative assay* za određivanje degradacionih produkata fibrinogena (D-dimer). Dobijene vrednosti su izražene u mg/L jedinicama.

Princip metode se zasniva na reakciji aglutinacije monoklonskih antitela iz reagensa sa uzorcima koji sadrže D-dimer. Region sa unakrsno vezanim D-dimerima ima stereosimetričnu strukturu tj. epitop za monoklonsko antitelo se pojavljuje dva puta pa je jedno antitelo dovoljno da započne reakcijuaglutinacije koja se zatim detektuje turbidimetrijski preko povećanja turbiditeta.

6. *LMWH Berichrom Heparin chromogenic assay* za antiXa aktivnost. Dobijene vrednosti su izražene u IU/ml jedinicama.

Princip metode se zasniva na inaktivaciji faktor Xa sa AT u toku inkubacione faze testa. Ovu reakciju katalizuje heparin. Dekstran sulfat (DS) oslobađa heparin koji je vezan za interferirajuće faktore. Količina preostalog F Xa koji ostaje posle inkubacione faze se određuje preko povećanja apsorbancije na 405 nm, uz korišćenje hromogenog supstrata u kinetičkom testu.

Statističke analize korišćene u izradi rezultata

Normalnost raspodele testirana je Q-Q dijagramima i Shapiro-Wilk testom normalnosti. Vrednosti sa normalnom distribucijom su poređene korišćenjem one-way ANOVA test, sa Bonferroni post hoc analizom i rezultati su izraženi kao srednja vrednost sa standardnom devijacijom. Za vrednosti koje nisu imale normalnu raspodelu, korišćeni su neparametarski Mann Whitney U ili Kruskal-Wallis H test i rezultati su izraženi kao srednja vrednost sa interkvartilnim opsegom. Osnovne kategoričke karakteristike pacijenata su predstavljene kao frekvencije i upoređene Chi-square testom. Razlika sa p vrednošću $\leq 0,05$ smatrana je značajnom. Kompletna statistička i grafička obrada podataka urađena je korišćenjem softvera za statističku analizu SPSS verzija 20.0.

REZULTATI

Tokom perioda istraživanja, ukupno je lečeno 256 pacijenata sa plućnom tromboembolijom na Klinici za urgentnu internu medicinu Vojnomedicinske akademije. Nakon eliminacije zbog isključujućih kriterijuma, 100 pacijenata je ispunilo sve kriterijume i ušlo u statističku obradu podataka. Pacijenti su grupisani u tri grupe u zavisnosti kojim su oralnom antikoagulansom iz grupe DOAK-a lečeni, tako da je konačni broj pacijenata po grupama bio: 36 (36%) pacijenata lečenih rivaroksabanom, 32 (32%) pacijenta lečena apiksabanom i 32 (32%) pacijenta lečena dabigatranom.

Tri grupe pacijenata su prvo međusobno upoređene u odnosu na prisustvo osnovnih karakteristika pacijenata kao što su starosna dob, pol, postojanje osnovnih faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti i prisustvo hroničnih oboljenja. Ovo poređenje nije pokazalo statistički značajnu razliku između grupa u odnosu na bilo koji parametar (Tabela 3a i 3b).

Tabela 3a: Osnovne demografske karakteristike pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
Starosna dob, godine sv±SD	58±15	59±16	56±14	ns
>65 godina, n (%)	13 (36,1)	8 (25,0)	9 (28,1)	ns
>75 godina, n (%)	3 (8,3)	7 (21,9)	3 (9,4)	ns
Muškarci, n (%)	20 (55,6)	21 (65,6)	19 (59,4)	ns
Žene, n (%)	16 (44,4)	11 (34,4)	13 (40,6)	ns

sv-srednja vrednost; SD-standardna devijacija; ns-nije signifikantno

Tabela 3b: Prisustvo faktora rizika za plućnu tromboemboliju i hroničnih oboljenja.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
Pozitivna porodična anamneza za DVT/PTE, n (%)	5 (13,9)	3 (9,4)	4 (12,5)	ns
Gojazni*, n (%)	12 (33,3)	15 (46,8)	11 (34,3)	ns
Pušači, n (%)	13 (36,1)	8 (25,0)	13 (40,1)	ns
Dijabetes, n (%)	4 (11,1)	8 (25,0)	2 (6,2)	ns
Hipertenzija, n (%)	15 (41,7)	17 (53,1)	15 (46,9)	ns
HOBP, n (%)	1 (2,8)	5 (15,6)	3 (9,4)	ns
HSSS, n (%)	5 (13,9)	3 (9,4)	1 (3,1)	ns

* Indeks telesne mase > 30 kg/m²; DVT-duboka venska tromboza; PTE-plućna tromboembolija; HOBP-hronična opstruktivna bolest pluća; HSSS-hronična sistolna srčana slabost, ns-nije signifikantno (p>0,05)

Nije zabeležena značajna razlika između grupa u odnosu na vreme proteklo od pojave simptoma i prijema u bolnicu, dužini hospitalizacije, vrsti PTE prema potencijalnom uzroku, kao i osnovnim kliničkim karakteristikama na prijemu (Tabela 4a, 4b i 4c).

Tabela 4a: Proteklo vreme do prijema u bolnicu od pojave simptoma, dužina hospitalizacije i vrsta PTE prema uzroku.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
VDP, sati, med (25-75 percentil)	72 (24-168)	60 (12-162)	72 (14-144)	ns
Dužina hospitalizacije dani, med (25-75 percentil)	8 (7-12)	7 (6-8)	7 (6-9)	ns
Provocirana PTE, n (%)	15 (41,7)	14 (43,8)	12 (37,5)	ns

VDP-vreme do prijema, PTE-plućna tromboembolija, ns-nije signifikantno (p>0,05)

Tabela 4b: Osnovne kliničke karakteristike na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
Dispnea, n (%)	32 (88,9)	25 (78,1)	26 (81,2)	ns
Hemoptizije, n (%)	3 (8,3)	4 (12,5)	3 (9,4)	ns
Sinkopa, n (%)	9 (25,0)	6 (18,5)	2 (6,2)	ns
Pneumonia tokom 48h, n (%)	5 (13,9)	7 (21,9)	6 (18,8)	ns
Reanimacija na prijemu, n (%)	0 (0,0)	1 (3,1)	0 (0,0)	ns

Tabela 4c: Plućna tromboembolija klasifikovana prema riziku od ranog mortaliteta i prisustvo velikog krvarenja.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
PTE visokog rizika, n (%)	6 (16,7)	3 (9,4)	2 (6,2)	ns
PTE intermedijarnog rizika, n (%)	22 (61,1)	18 (56,2)	16 (50,0)	ns
PTE niskog rizika, n (%)	8 (22,2)	10 (31,2)	10 (31,2)	ns
Veliko krvarenje, n (%)	7 (19,4)	6 (18,8)	2 (6,2)	ns

PTE – plućna tromboembolija, ns – nije signifikantno ($p>0,05$).

Grupe su potom upoređene i na osnovu laboratorijskih podataka koji su dobijeni na prijemu. Nije postojala značajna razlika u bubrežnoj funkciji, gasnim analizama arterijske krvi, indikatorima inflamacije, D-dimeru, glikemiji i osnovnim hematološkim parametrima. Značajna razlika je dobijena u nivou troponina na prijemu koji je bio značajno niži kod pacijenata koji su kasnije lečeni dabigatranom ($p=0,032$). Pa ipak, drugi parametar, koji pored troponina govori u prilog većem opterećenju desne srčane komore, BNP, nije se značajno razlikovao između grupa (Tabela 5a, 5b, 5c).

Tabela 5a: Veličina glomerularne filtracije i parcijalni pritiscaci O₂ i CO₂.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
VGF ml/min, sv±SD	88±26	84±37	93±28	ns
pCO ₂ mmHg, med (25.-75. percentil)	30,0 (23,3-35,0)	28,1 (24,3-33,8)	32,0 (26,3-35,0)	ns
pO ₂ mmHg, med (25.-75. percentil)	69,0 (54,3-85,0)	68,0 (58,3-83,0)	78,0 (61,5-85,0)	ns

VGF-veličina glomerularne filtracije (po Cockcroft-Gault jednačini), sv-srednja vrednost, SD-standardna devijacija, pCO₂-parcijalni pritisak ugljen dioksida u arterijskoj krvi, pO₂-parcijalni pritisak kiseonika u arterijskoj krvi, ns-nije signifikantno (p>0,05).

Tabela 5b: Parametri zapaljenja, koncentracija produkata razgradnje fibrina, glikemija i parametri opterećenja desne komore na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
CRP mg/L, med (25.-75. percentil)	59,7 (23,0-131,5)	35,4 (19,4-104,0)	37,0 (12,0-71,0)	ns
BNP pg/mL, med (25.-75. percentil)	113,5 (49,4-415,3)	161,0 (29,0-343,4)	101,2 (37,3-174,0)	ns
Troponin T ng/L, med (25.-75. percentil)	0,14 (0,00-0,60)	0,18 (0,04-0,60)	0,04 (0,00-0,19)	0,032
D dimer ng/mL, med (25.-75. percentil)	7900 (3960-12775)	9565 (4200-19700)	7425 (1960-12432)	ns
Glikemija mmol/L, med (25.-75. percentil)	6,7 (5,5-8,1)	7,2 (5,6-9,8)	5,8 (5,0-7,3)	ns

CRP-C-reaktivni protein, BNP-„brain“ natriuretski peptid, ns-nije signifikantno (p>0,05).

Tabela 5c: Osnovni hematološki parametri na prijemu kod pacijenata sa plućnom tromboembolijom.

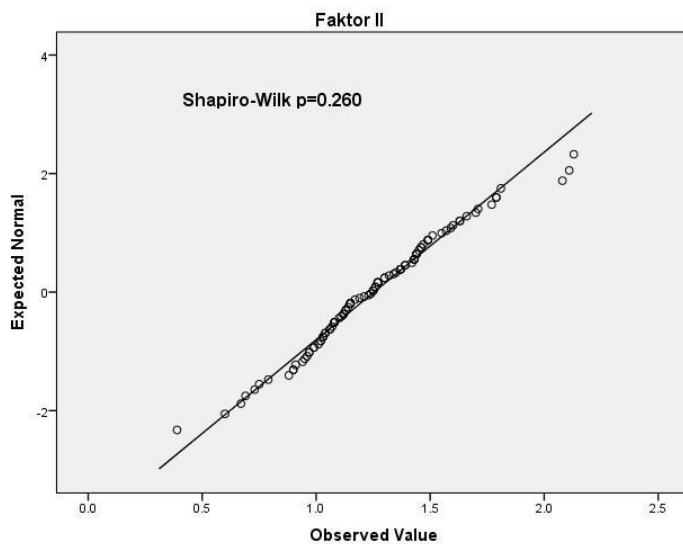
	Rivaroksaban 36 (36%)	Apiksaban 32 (32%)	Dabigatran 32 (32%)	p
Tr n10 ⁹ , med (25.-75. percentil)	217 (177-296)	248 (158-307)	205 (163-225)	ns
Le n10 ⁹ , med (25.-75. percentil)	9,2 (7,2-10,9)	9,2 (7,0-13,0)	9,0 (7,1-11,3)	ns
Ly n10 ⁹ , med (25.-75. percentil)	1,4 (1,0-2,1)	1,6 (0,8-2,2)	1,8 (1,2-2,1)	ns
Hgb g/L, med (25.-75. percentil)	131,5 (109,3-151,0)	127,0 (119,5-136,3)	137,0 (125,3-144,8)	ns
Htk, L/L, med (25.-75. percentil)	0,43 (0,37-0,49)	0,40 (0,37-0,43)	0,42 (0,39-0,45)	ns

Tr-trombociti, Le-leukociti, Ly-limfociti, Hgb-hemoglobin, Htk-hematokrit, ns-nije signifikantno ($p>0,05$).

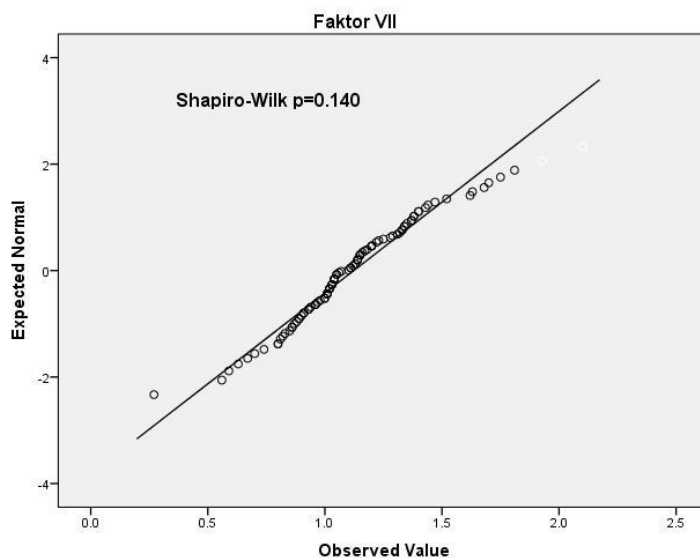
Testiranje normalnosti raspodele i poređenje merenih parametara koagulacionog sistema

Pomoću Q-Q grafikona i Shapiro-Wilk testa učinjeno je testiranje distribucije izmerenih vrednosti posmatranih faktora i proteina koagulacione kaskade kao i D-dimera. Vrednosti za aktivnost faktora koagulacije II, VII, antitrombin, protein C i anti-Xa imaju normalnu raspodelu, a aktivnost faktora koagulacije VIII, i koncentracije fibrinogena i D-dimera nemaju normalnu raspodelu. Poklapanje sa dijagonalnom linijom na Q-Q grafikonu kao i p vrednost $>0,05$ ukazuje na normalnu raspodelu (Grafikon 1a-h).

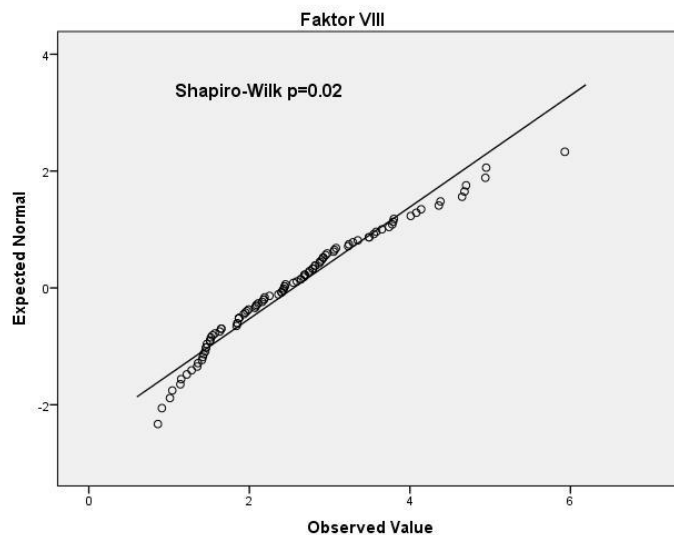
Grafikon 1a. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije II.



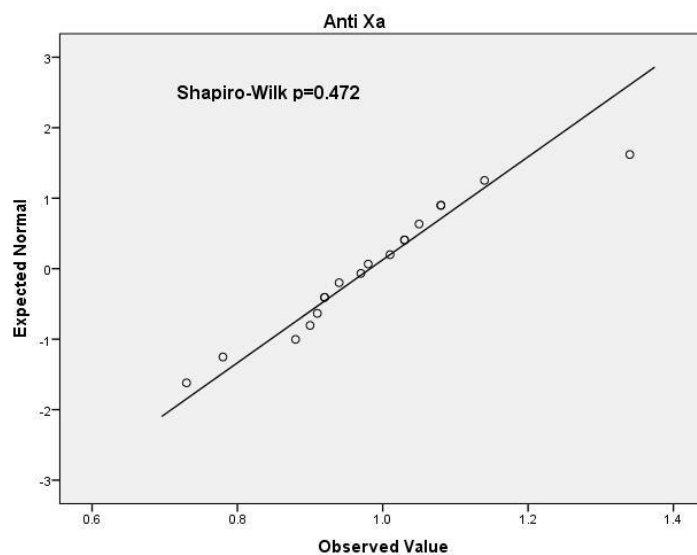
Grafikon 1b. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije VII.



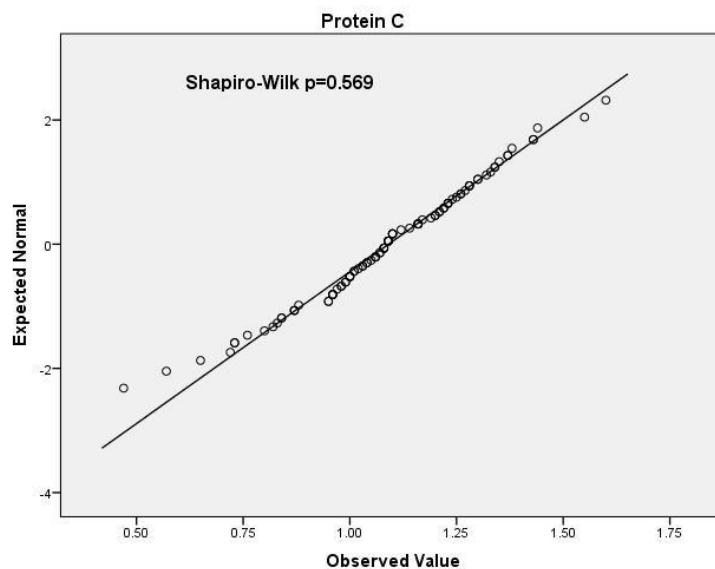
Grafikon 1c. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti faktora koagulacije VIII.



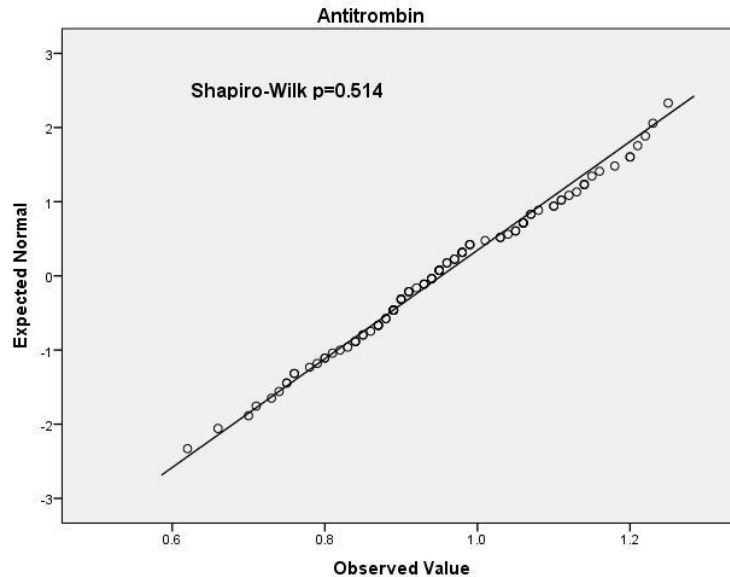
Grafikon 1d. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti anti-Xa aktivnosti.



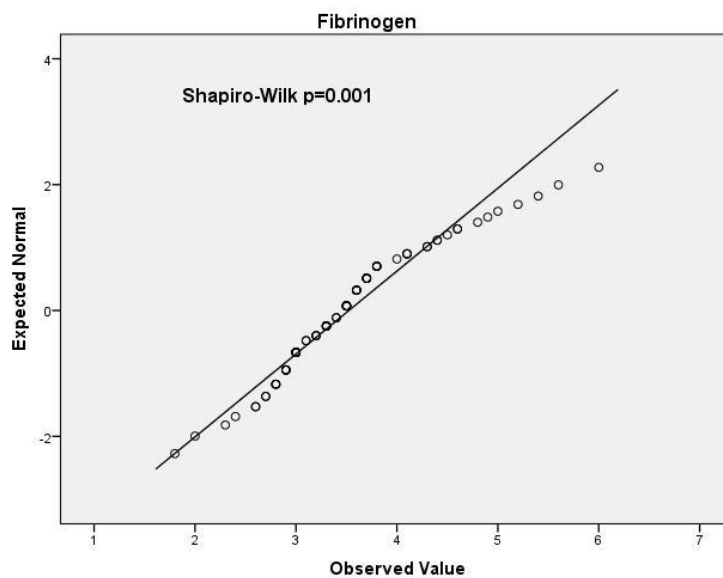
Grafikon 1e. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti proteina C.



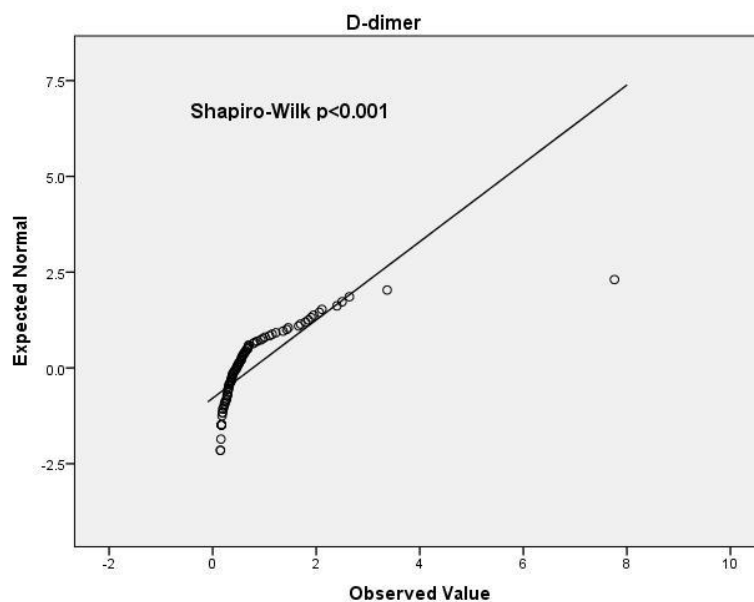
Grafikon 1f. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti aktivnosti antitrombina.



Grafikon 1g. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti koncentracije fibrinogena.



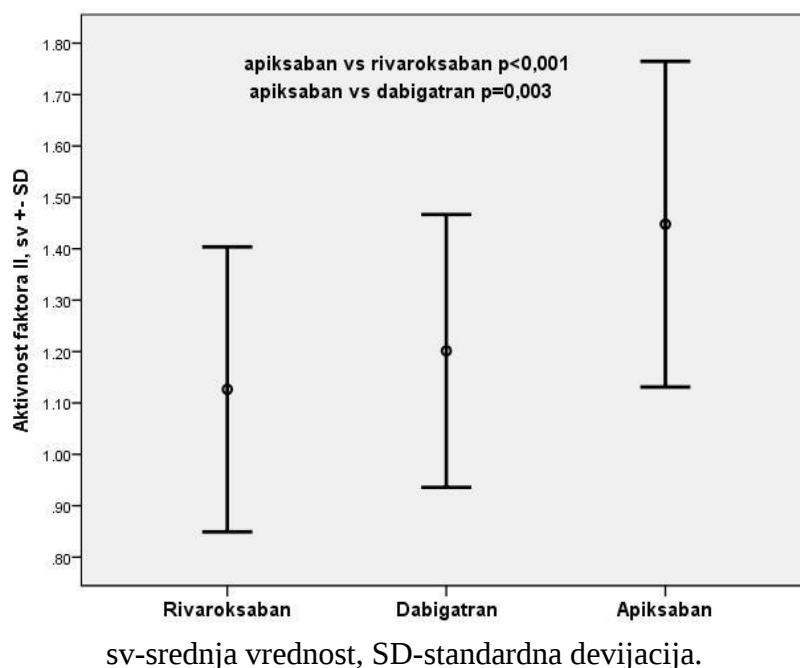
Grafikon 1h. Q-Q grafikon i p vrednost Shapiro-Wilk metodom kao prikaz raspodele vrednosti koncentracije D-dimera.



Krv za analizu aktivnosti ispitivanih faktora koagulacije, antikoagulantnih faktora i koncentracija fibrinogena i D-dimera uzimana je u periodu između 30-og i 40-og dana od započinjanja terapije, a između grupa nije postojala statistički značajna razlika u srednjoj vrednosti vremena kad je obavljeno uzorkovanje (nije prikazano).

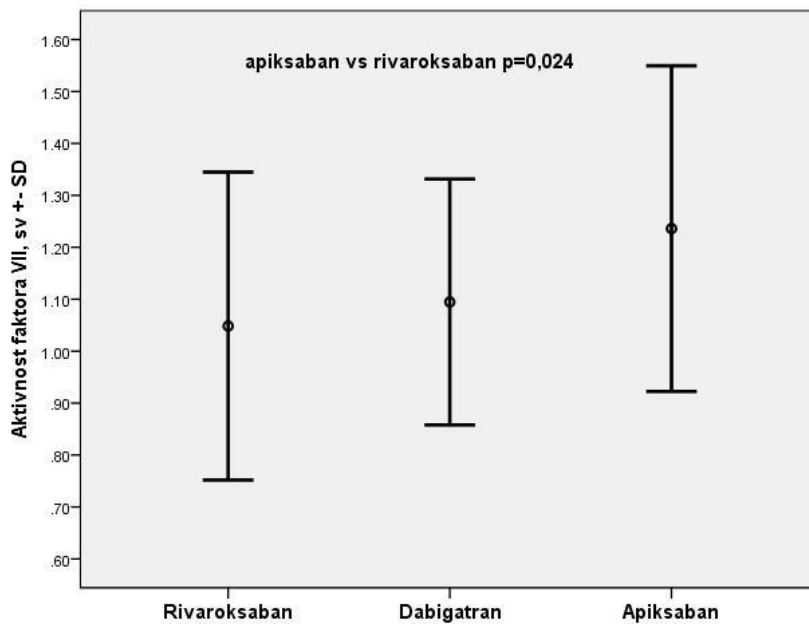
Aktivnost faktora II bila je značajno povišena kod pacijenata lečenih apiksabanom u odnosu na pacijente lečene rivaroksabanom i dabigatranom. Aktivnost faktora II se nije razlikovala između pacijenata na rivaroksabanu i dabigatranu (Grafikon 2).

Grafikon 2. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti faktora II između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.



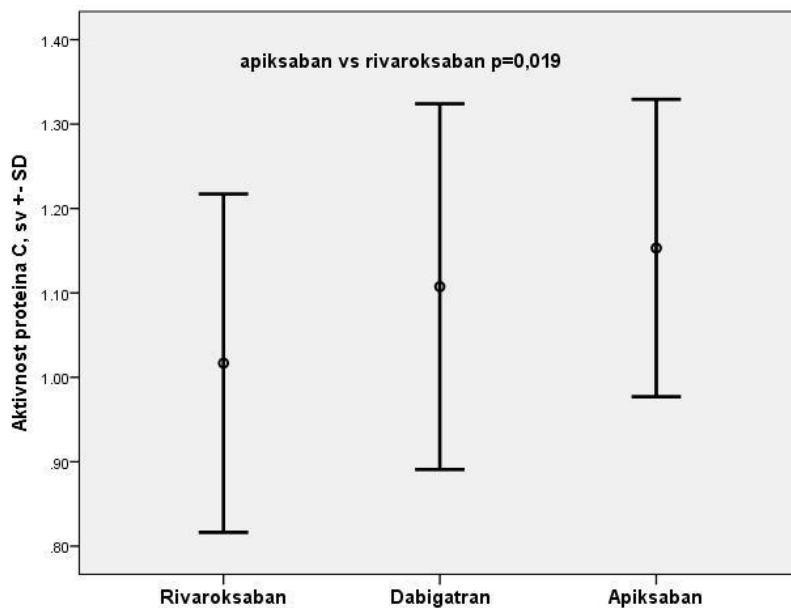
Aktivnost faktora VII se značajno razlikovala kod pacijenata na apiksabanu u odnosu na pacijente na rivaroksabanu (Grafikon 3), a značajna razlika je zapažena i u aktivnosti proteina C u odnosu na pacijente na dabigatranu (Grafikon 4). Medijana aktivnosti faktora VIII je takođe značajno veća kod pacijenata na apiksabanu u poređenju sa pacijentima na dabigatranu (Grafikon 5).

Grafikon 3. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti faktora VII između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.



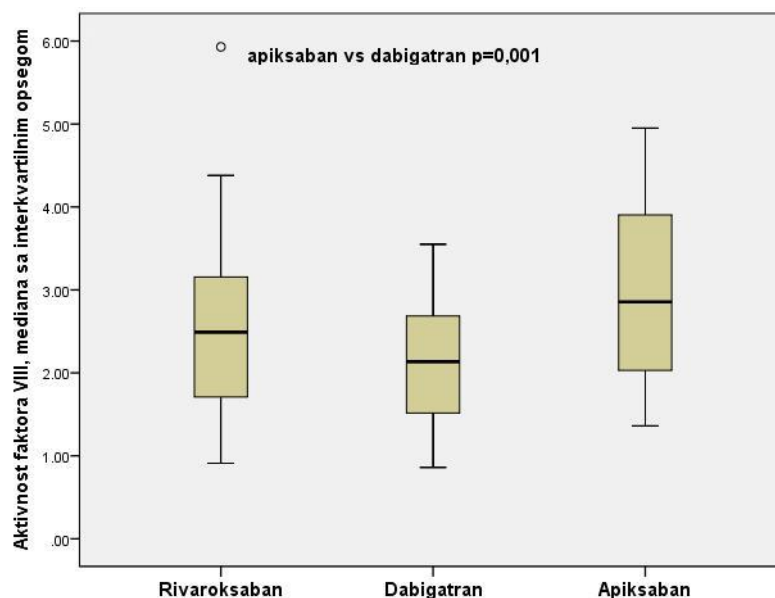
sv-srednja vrednost, SD-standardna devijacija.

Grafikon 4. Poređenje srednjih vrednosti aktivnosti proteina C između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.



sv-srednja vrednost, SD-standardna devijacija.

Grafikon 5. Poređenje srednjih vrednosti (medijane) aktivnosti faktora VIII između grupa pacijenata sa PTE nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a.



Kod ostalih merenih parametara nije zabeležena značajna razlika. Tako srednje vrednosti aktivnosti antitrombina u plazmi (izražene u IU/ml) nakon mesec dana kod pacijenata na rivaroksabanu vs apiksabanu vs dabigatranu iznose: $0,92 \pm 0,14$ vs $0,96 \pm 0,13$ vs $0,98 \pm 0,13$; $p=0,140$.

Medijane koncentracija fibrinogena u plazmi (izražena u g/L) nakon mesec dana kod pacijenata na rivaroksabanu vs apiksabanu vs dabigatranu su: 3,5 (3,0-4,1) vs 3,5 (3,1-4,4) vs 3,3 (2,9-3,7); $p=0,127$.

Nema značajne razlike između srednjih vrednosti aktivnosti anti-Xa (izražene u IU/ml) nakon mesec dana kod pacijenata na rivaroksabanu u poređenju sa onim na apiksabanu: $0,70 \pm 0,37$ vs $0,56 \pm 0,30$; $p=0,274$.

Tabela 6: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni rivaroksabanom.

	Pol	Godine	BMI	DM
AT	-0.053 p=0.760	-0.447 p=0.006	-0.197 p=0.287	-0.046 p=0.791
PC	0.011 p=0.952	-0.107 p=0.456	0.272 p=0.153	0.205 p=0.245
fibrinogen	-0.100 p=0.563	-0.299 p=0.076	0.033 p=0.861	-0.013 p=0.941
FII	-0.041 p=0.811	-0.267 p=0.116	-0.016 p=0.932	0.024 p=0.889
FVII	0.235 p=0.168	-0.154 p=0.370	-0.075 p=0.687	-0.001 p=0.995
FVIII	-0.078 p=0.651	-0.085 p=0.622	0.095 p=0.610	0.077 p=0.657

Vrednosti u tabeli su prikazane kao koeficijent korelacije (Pearsonova korelacija za variable sa normalnom raspodelom i Spearmanova korelacija za variable bez normalne raspodele) i p vrednost.

Koristeći se procenom preko krive u regresionoj analizi potvrđena je značajnost korelacije između AT i godina života kod pacijenata koji su lečeni rivaroksabanom (Grafikon 6)

Grafikon 6. Regresiona analiza – linearni model korelacije između AT i godina života kod pacijenata lečenih rivaroksabanom.

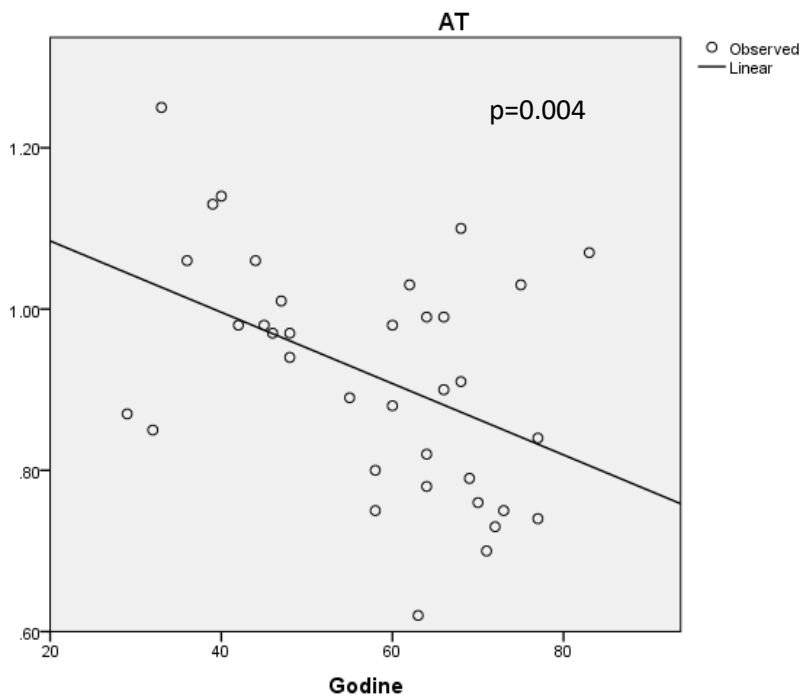


Tabela 7: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni apiksabanom.

	Pol	Godine	BMI	DM
AT	0.63 p=0.731	-0.266 p=0.141	-0.062 p=0.833	-0.114 p=0.533
PC	0.146 p=0.424	0.103 p=0.576	-0.001 p=0.996	0.035 p=0.848
fibrinogen	0.368 p=0.050	0.241 p=0.208	-0.157 p=0.609	-0.250 p=0.192
FII	-0.020 p=0.912	-0.241 p=0.184	-0.030 p=0.919	-0.230 p=0.206
FVII	0.165 p=0.366	-0.047 p=0.800	0.127 p=0.664	-0.046 p=0.802
FVIII	-0.110 p=0.547	0.361 p=0.043	-0.103 p=0.725	0.262 p=0.148

Vrednosti u tabeli su prikazane kao koeficijent korelacije (Pirsonova korelacija za variable sa normalnom raspodelom i Spirmanova korelacija za variable bez normalne raspodele) i p vrednost.

Koristeći se procenom preko krive u regresionoj analizi, dobija se granična statistička značajnost u korelaciji FVIII i godina života kod pacijenata lečenih apiksabanom (Grafikon 7)

Grafikon 7. Regresiona analiza – linearni model korelacije između FVIII i godina života kod pacijenata lečenih apiksabanom.

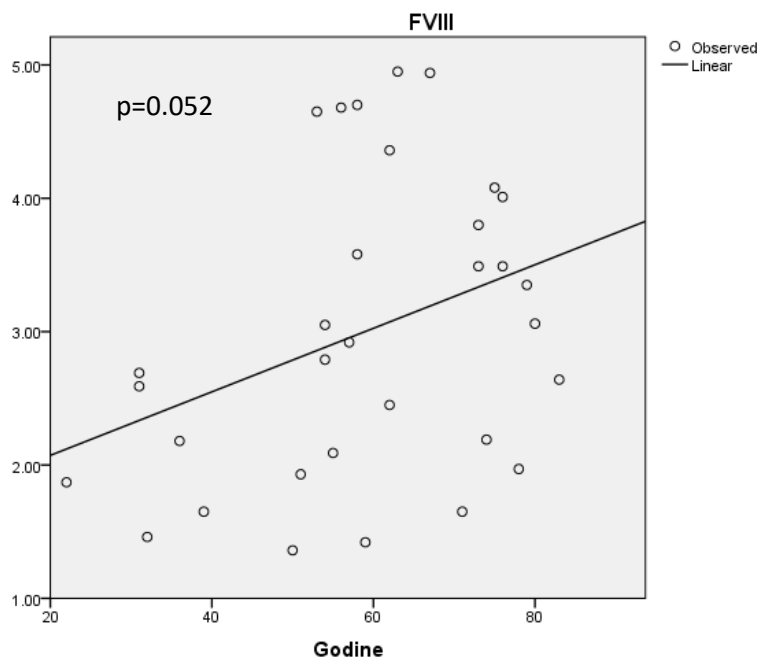


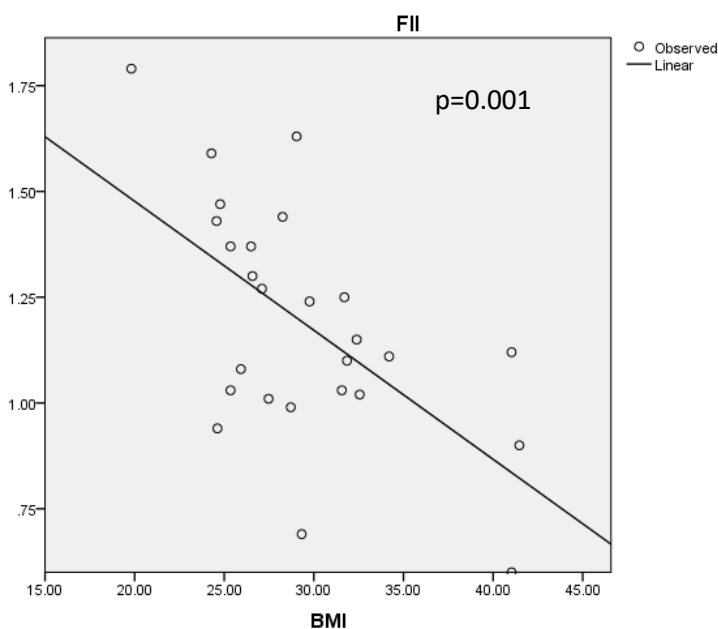
Tabela 8: Korelacija između merenih faktora koagulacione kaskade i osnovnih karakteristika pacijenata koji su lečeni dabigatranom.

	Pol	Godine	BMI	DM
AT	0.117 p=0.522	-0.218 p=0.232	-0.229 p=0.251	0.201 p=0.269
PC	0.196 p=0.291	-0.131 p=0.483	-0.137 p=0.504	0.237 p=0.199
fibrinogen	0.103 p=0.590	0.170 p=0.369	0.070 p=0.741	0.380 p=0.050
FII	0.349 p=0.055	-0.183 p=0.323	-0.594 p=0.001	-0.067 p=0.722
FVII	0.158 p=0.387	-0.069 p=0.708	-0.302 p=0.125	0.178 p=0.331
FVIII	-0.324 p=0.071	-0.274 p=0.130	0.055 p=0.785	-0.084 p=0.648

Vrednosti u tabeli su prikazane kao koeficijent korelacije (Pirsonova korelacija za variable sa normalnom raspodelom i Spirmanova korelacija za variable bez normalne raspodele) i p vrednost.

Koristeći se procenom preko krive u regresionoj analizi, dobija se granična statistička značajnost u korelaciji fibrinogena i dijabetes melitusa, a potvrđena je značajnost korelacije između FII i BMI kod pacijenata koji su lečeni dabigatranom (Grafikon 8)

Grafikon 8. Regresiona analiza – linearni model korelacije između FII i BMI kod pacijenata lečenih dabigatranom.



DISKUSIJA

Ovo je prva klinička studija preseka jednog centra u kojoj su direktno upoređena tri antikoagulansa iz grupe DOAK-a: rivaroksaban, apiksaban (direktni inhibitori faktora Xa) i dabigatran (direktni inhibitor trombina). Rezultati doktorske disertacije su pokazali da pacijenti koji su lečeni apiksabanom, nakon mesec dana imaju značajno veću aktivnost faktora koagulacije II (trombina) u odnosu na pacijente koji su lečeni rivaroksabanom i dabigatranom. Pacijenti na apiksabanu takođe imaju značajno veću aktivnost i faktora VII, ali i proteina C u poređenju sa pacijentima na rivaroksabanu, a značajna razlika postoji i u aktivnosti faktora VIII u odnosu na one na dabigatranu. Dakle, iako sam naziv „direktni oralni antikoagulansi“ sugerise jednostavan mehanizam inhibicije ciljnog faktora koagulacije, bez prisustva posrednika, dobijeni rezultati govore u prilog tome da postoji različit uticaj na druge faktore u koagulacionoj kaskadi čak i kada se radi o direktnim blokatorima istog faktora koagulacije, poput faktora Xa (rivaroksaban i apiksaban).

Iako su u studiju uključeni konsekutivni pacijenti sa plućnom tromboembolijom, zbog čega je ujednačenost njihovih karakteristika teže kontrolisati nego u randomizovanim studijama, postignute su statistički ujednačene grupe pacijenata i po osnovnim karakteristikama, ali i po kliničkim i laboratorijskim karakteristikama za koje se uvek sumnja da mogu imati uticaj na rezultate merenja. Izolovani slučaj pojave statističke razlike u nivou troponina koji je bio značajno viši na prijemu kod pacijenata lečenih kasnije dabigatranom nije shvaćen kao parametar koji bitno remeti uporedivost grupa jer su drugi laboratorijski parametri koji pokazuju opterećenje desne komore u akutnoj plućnoj emboliji (poput eng. *B-type natriuretic protein*, BNP) bili bez statistički signifikantne razlike između grupa. Svakako, odloženo uzorkovanje krvi za merenje aktivnosti faktora koagulacije, nakon 30 - 40 dana lečenja (bez značajne razlike između grupa), sa ciljem da se postigne stabilna terapija, znatno doprinosi stvaranju uporedivih grupa pacijenata u odnosu na definisane varijable ispitivanja. Ovim merenjem aktivnosti pojedinih faktora i proteina koagulacije tek nakon postizanja stabilne terapije DOAK-om, izbegava se opasnost od mogućih fluktuacija u koncentraciji i distribuciji leka u toku akutne faze lečenja jer je i početno doziranje drugačije.^{36,92,93} Takođe, akutno i subakutno stanje bolesti, a možda i prisustvo individualnog inflamatornog odgovora, mogu imati uticaj na trombogeni potencijal.^{94,95} Koristeći se statističkim testovima korelacije, može se zaključiti da većina

merenih faktora koagulacione kaskade nije u značajnoj korelaciji sa najvažnijim karakteristikama pacijenata kao što su godine starosti, pol, telesna masa ili postojanje dijabetes melitusa. Pa ipak, u izolovanim slučajevima primećena je značajna korelacija, poput pada aktivnosti AT sa porastom starostne dobi pacijenata koji su lečeni rivaroksabanom, porast aktivnosti FVIII kod starijih pacijenata lečenih apiksabanom ili pad aktivnosti FII sa porastom BMI pacijenata lečenih dabigatranom. Ovo su veoma zanimljivi podaci koje nije lako objasniti obzirom da nam nije u potpunosti jasna interakcija samih DOAK-a i faktora koagulacione kaskade, a potom ni eventualni uticaj pomenutih karakteristika. Vrlo je moguće da je primećeni međusobni uticaj između navedenih karakteristika pacijenata i određenih faktora koagulacije potpomognut različitim načinom doziranja DOAK-a (jedanput ili dvaput dnevno) ili čak mogućim postojanjem određenog povratnog odbrambenog mehanizma samog organizma (eng. „*rebound*“). Kada je u pitanju značajna korelacija između BMI i aktivnosti FII, treba pomenuti rezultate nedavno objavljene studije u kojoj je ispitivan efekat dabigatrana kod izrazito gojaznih pacijenata ($BMI > 40 \text{ kg/m}^2$ ili $> 120 \text{ kg}$ telesne mase) sa atrijalnom fibrilacijom. U ovoj studiji je efekat dabigatrana na kompozitni tromboembolijski ishod bio snažniji u poređenju sa varfarinom, sa značajno manje tromboembolijskih događaja, ali i značajnijim krvarenjem kao komplikacijom.⁹⁶ Ovo ukazuje da dabigatran kod gojaznih možda ima jači efekat na inhibiciju FII u poređenju sa pacijentima normalne telesne mase.

Krv za laboratorijsku analizu uzimana je u vreme očekivane najniže koncentracije leka u plazmi kako bi se izbegao mogući uticaj eventualno visokih koncentracija leka na testove za merenje aktivnosti faktora koagulacije.^{61,88,95,97} S obzirom da se radi o manjim grupama pacijenata, prilikom obrade podataka, vodilo se računa o primeni adekvatne statističke analize.⁹⁸

Za određivanje anti-Xa aktivnosti koristili smo test kalibrisan pomoću niskomolekularnog heparina, koji je manje senzitiv u odnosu na testove kalibrisane apiksabanom ili rivaroksabanom, ali su obe grupe pacijenata (na rivaroksabanu i apiksabanu) bile u terapijskim koncentracijama, sa anti-Xa aktivnošću koja je daleko iznad limita kvantifikacije metode, a to je $0,10 \text{ IU/mL}$.⁹⁹

Ako sagledamo širu sliku međusobne povezanosti svih činioca u koagulacionoj kaskadi, uključujući čak i trombocite, onda ne možemo očekivati jednostavan mehanizam dejstva DOAK-a, bez obzira što njihov opšti naziv sugerise direktno i neposredno antikoagulantno dejstvo.

Naime, direktni inhibitori faktora Xa se razlikuju u odnosu na direktne inhibitore trombina posmatrajući njihov uticaj na pojedine faze u procesu aktivirane koagulacije. Inhibitori faktora Xa pre svega deluju na fazu propagacije, jer su inhibitori protrombinaza kompleksa, dok inhibitori trombina deluju na fazu inicijacije i amplifikacije jer blokirajući trombin vrše opstrukciju X-aze (tenaze). To znači da anti-Xa lekovi blokiraju sintezu, ali ne i aktivnost već sintetisanog trombina što i jeste potvrđeno u studiji objavljenoj od strane Ieko i saradnika 2004. godine, u vreme razvoja sintetskih direktnih inhibitora faktora Xa.¹⁰⁰ U pomenutoj studiji korišćeni su direktni sintetski inhibitori faktora Xa nazvani DX-9065a i JTV-803, i argatroban kao inhibitor trombina. U in vitro uslovima, istraživači su pokazali da je inhibicija sinteze trombina značajno veća u prisustvu ova dva sintetska inhibitora faktora Xa nego u prisustvu argotrobana. S druge strane, aktivacija trombocita pomoću inicijalno formiranog trombina (bez obzira na prisustvo inhibitora Xa) je bila očuvana (neznačajno inhibirana u poređenju sa kontrolnom grupom). Suprotno tome, postojala je značajna inhibicija trombinom-indukovane aktivacije trombocita nakon dodavanja argotrobana. Nakon ovog nalaza istraživači su zaključili da se i pored prisustva direktnog inhibitora faktora Xa može, do sada nepoznatim mehanizmom, formirati mala inicijalna količina trombina. Pošto trombin ima značajno veći afinitet za trombocite nego za fibrinogen, ta mala količina inicijalno stvorenog trombina je dovoljna za aktivaciju trombocita bez uticaja na fibrinogen. To je dokaz značajno očuvane hemostaze usled očuvane funkcije trombocita i pored prisustva ova dva ispitivana sintetska inhibitora faktora Xa, koja je dokazivana i na humanim i animalnim modelima in vivo.¹⁰⁰ Ova činjenica bi mogla da u rezultatima ove studije objasni postojanje razlike u aktivnosti faktora II (trombina) između pacijenata na apiksabanu i dabigatranu, time što je kod pacijenata na apiksabanu značajno veća aktivnost faktora II. Međutim ta razlika kod ispitivanih pacijenata postoji i između onih na apiksabanu i rivaroksabanu, a opet, nema značajne razlike između onih na rivaroksabanu i dabigatranu, što ostaje nejasno. Čak i sa kliničkog aspekta, veća aktivnost trombina znači mogućnost veće aktivacije trombocita koji značajno mogu doprineti procesu hemostaze, a poznato je da upravo apiksaban ima jedan od najboljih, ako ne i najbolji bezbednosni profil među antikoagulansima iz grupe DOAK.^{101–104} Zašto i kod pacijenata na rivaroksabanu, koji deluje istim mehanizmom kao apiksaban, nije registrovana značajno veća aktivnost faktora II u odnosu na dabigatran, već i niža (mada bez statistički značajne razlike), za sada nije jasno.

I pored naizgled istog mehanizma dejstva i očekivano istog uticaja na međusobne odnose u kaskadi koagulacije, dobijena je različita aktivnost merenih faktora kod pacijenata koji su lečeni različitim anti-Xa lekom. To navodi na pretpostavku da i sam režim doziranja leka, jedanput ili dva puta dnevno može biti jedan od faktora različitog dejstva leka sa istim mehanizmom dejstva. U prilog ovakvoj tvrdnji ide i podatak da se davanjem leka, sa vremenom polu-života oko 12h, dva puta dnevno, smanjuje razlika između maksimalne i minimalne koncentracije u plazmi te se postiže efekat za koji se može reći da je perzistentan.¹⁰⁵⁻¹⁰⁷ Nasuprot tome, davanje leka jedanput dnevno dobija se veća razlika između minimalne i maksimalne koncentracije, čime se postiže intermitentni antikoagulantni efekat, dovodeći u pitanje čak i samu efikasnost u trenutku pred samo uzimanje sledeće doze. Međutim, apiksaban se od rivaroksabana ne razlikuje samo po načinu doziranja, već ima i različite farmakodinamske i farmakokinetičke osobine.¹⁰⁷ Apiksaban u odnosu na rivaroksaban ima manju bioraspoloživost, ali isto tako i gotovo potpunu neovisnost od uzimanja hrane, dok prisustvo masti u obroku uz koji se uzima rivaroksaban značajno utiče na bioraspoloživost rivaroksabana. Ekskrecija apiksabana se značajno razlikuje od ekskrecije rivaroksabana u procentu učestalosti jetre i bubrega.^{64,108} Sve ovo može uticati na manju ili veću inter-individualnu varijabilnost leka koja kod rivaroksabana iznosi i do 30 - 40%. Sa stanovišta stvarnih kliničkih dešavanja, u kojima su pacijenti različite životne dobi, time i različite renalne funkcije, te imaju različite komorbiditete, navike u ishrani i odnos prema savetima lekara, nije čudna pojava postojanja različitih efekata ova dva leka usled različitih farmakodinamskih i farmakokinetičkih osobina. Iako su nam poznate ove činjenice brojnih razlika između apiksabana i rivaroksabana, mada deluju direktnom blokadom istog faktora koagulacije, teško je u ovom trenutku objasniti tačan mehanizam kojim ova dva leka na različit način utiču na celokupni odnos svih faktora u koagulacionoj kaskadi i na razlike u aktivnosti određenih faktora koje su dobijene u ovom istraživanju.

Poznato je da lekovi iz grupe DOAK-a pri različitim koncentracijama u plazmi imaju drugačiji uticaj na konvencionalne testove hemostaze (aPTT, PT) pokazujući pri maksimalnim koncentracijama (nakon 3-4 sata od uzimanja) najveći efekat na ove testove, dok je taj efekat minimalan ili potpuno izostaje pri najnižim koncentracijama, iako i tad antikoagulantno dejstvo još uvek postoji.^{109,110} Ova dozna zavisnost pojedinih testova hemostaze, uz asinhroniju sa ispoljenim antikoagulantnim efektom leka, čini ih neupotrebljivim za monitoring pravilne doziranosti DOAK-a, mada pokazuje kompleksnost u uticaju samog DOAK-a na složene odnose

faktora koagulacione kaskade. Dabigatran zbog potpune blokade trombina sprečava trombinom-posredovanu aktivaciju trombocita i unutrašnjeg (kontaktnog) puta koagulacije (faza amplifikacije). Otuda su vrednosti aPTT značajno produžene kod davanja dabigatrana. S druge strane, dabigatran nema značajan uticaj na vrednosti INR jer ne utiče bitno na faktore uključene u spoljašnji put koagulacije.^{111,112} Apiksaban i rivaroksaban pak, ne utiču toliko na fazu amplifikacije tj. na unutrašnji put koagulacije, te stoga ni na vrednosti aPTT.^{113,114} Pa ipak, korišćenjem testova različite osetljivosti, rivaroksaban se uvek pokazao osetljivijim na aPTT test nego apiksaban, što je i pored dokazivanja u brojnim studijama uvek ostajalo bez odgovora na pitanje zašto je to tako. Ovo možda indirektno pokazuje da zbog toga što postoji povećana aktivnost faktora II, VIII pa i VII koje smo u ovoj studiji izmerili kod pacijenata na apiksabanu u poređenju sa druga dva DOAK-a, ukazuje na veću količinu trombina kod ovih pacijenata. Ovaj višak trombina je dovoljan da snažnije aktivira trombocite i faktor XI tj. unutrašnji put koagulacije i tako dovede do normalnih vrednosti aPTT testa. Za razliku od apiksabana, rivaroksaban, a posebno dabigatran snažnije blokiraju produkciju tj. samu funkciju (dabigatran) trombina te je aktivnost unutrašnjeg puta koagulacije manje ili više narušena. Slični rezultati su dobijeni u in vitro uslovima sa korišćenjem testova za merenje geneze trombina, poput endogeni trombinski potencijal i drugi, koji su pokazali da apiksaban u poređenju sa rivaroksabanom, i pored istog mehanizma delovanja, ima veću produkciju trombina.¹¹⁵

Uzmimo drugi primer merenje vrednosti PT-a (izražen najčešće kroz INR). Iako nije precizan i samim tim preporučen za kontrolu pacijenata koji uzimaju neki od DOAK-a, PT/INR bolje korelira sa koncentracijama rivaroksabana u plazmi nego apiksabana, iako su oba direktni inhibitori faktora Xa.^{113,114} Odgovor na ovo pitanje je možda delimično dat u ranije izrečenoj pretpostavci o mogućem uticaju različitog doziranja, kroz doza/efekat odnos, na rezultate pojedinih konvencionalnih testova hemostaze, ili kroz veći trombinski potencijal kod pacijenata na apiksabanu, ali definitivno navodi na zaključak o postojanju različitog uticaja ova dva DOAK-a na aktivnost faktora koagulacije koji se detektuju testovima za određivanje PT/INR, a to su faktor II, V, VII i X.¹¹⁶ U ovoj studiji, zabeležena je značajnija veća aktivnost faktora koagulacije II i VII kod pacijenata na apiksabanu u poređenju sa pacijentima na rivaroksabanu. Oba faktora koagulacije snažno utiču na promene u vrednosti PT/INR, te je otuda jasno da su ove vrednosti češće povišene kod pacijenata na rivaroksabanu nego na apiksabanu. Buduće kliničke

studije će pokazati da li se inicijalno senzitivni modifikovani test za PT (mPT) može primeniti na monitoringu pacijenata koji se leče nekim od DOAK, posebno apiksabanom.^{61,117}

U studiji u Japanu u kojoj su poređeni pacijenti lečeni sa tri različita DOAK-a (rivaroksaban, apiksaban i dabigatran) nije dobijena značajna razlika u smislu trenda promena određenih koagulacionih markera, tj. nije bilo razlike u promenama aktivnosti antitrombina, proteina C, proteina S i D-dimera.¹¹⁸ Ovi rezultati, iako nisu rađeni istom metodologijom i na istoj populaciji bolesnika (kao ni stanovništva), osim u slučaju proteina C, podudaraju se sa rezultatima ove doktorske disertacije.

Do sada nisu učinjene prospektivne kliničke randomizovane studije sa direktnim poređenjem efikasnosti i bezbednosti između samih DOAK-a u PTE, već je svaki DOAK poređen sa vitamin K antagonistom.^{32,36,92} Čak i između samih ovih studija postoji dosta razlika u pogledu odabira pacijenata i njihovih osnovnih i kliničkih karakteristika što onemogućuje da se na ovakav način međusobno porede DOAK-i. Ipak, u poređenju sa vitamin K antagonistom, apiksaban je među DOAK-ima imao najbolju bezbednost u smislu klinički signifikantnog kao i velikog krvarenja, bez inferiornosti u smislu antikoagulantnog efekta. Ovakav efekat apiksabana, iako uziman sa rezervom zbog drugačije strukture pacijenata nego u sličnim studijama sa na primer rivaroksabanom, nije još jasan, ali je vrlo verovatno da je proces hemostaze najbolje očuvan u složenom odnosu njegovog antikoagulantnog dejstva tj. ostvarene blokade faktora Xa i posledičnih odnosa sa drugim činiocima u koagulacionoj kaskadi uključujući možda i ulogu samih trombocita. U ovoj doktorskoj disertaciji, više vrednosti za aktivnosti faktora II, VII i VIII pa i proteina C kod pacijenata na apiksabanu, a uz normalne vrednosti D-dimera, ukazuju i na moguće postojanje ushodne regulacije koagulacionog sistema, kao odgovor na ujednačen (perzistentan) efekat apiksabana, bez velikih fluktuacija u dozi/efektu leka i uz snažno antikoagulantno dejstvo. Sa druge strane, kod rivaroksabana i dabigatrana možda ne dolazi do ove ushodne regulacije koagulacionog sistema zbog mnogo većih fluktuacija u farmakodinamskim i farmakokinetičkim osobinama, a postojanje ovih fluktuacija je pokazano u dosadašnjim objavljenim studijama.^{108,119,120}

Jourdi i saradnici su 2015. godine, a kasnije sa još više detalja i Kim i saradnici 2018. godine, objavili interesantne rezultate u kojima su opisali poređenje farmakodinamike apiksabana i rivaroksabana u identičnim in vitro uslovima.^{115,121} Za razliku od ranije dobijenih vrednosti

konstante inhibicije (K_i) za humani faktor Xa od 0,08 nM za apiksaban i 0,4 nM za rivaroksaban, oni su u laboratorijskim identičnim uslovima dobili da je za apiksaban $K_i=0,74\pm0,03$ nM, a za rivaroksaban $K_i=0,47\pm0,02$, tj. da je afinitet rivaroksabana za faktor Xa oko 1,5 puta veći od apiksabana. Sa stanovišta objašnjenja rezultata ove studije, oni su odredili još jednu bitnu konstantu, a to je konstanta asocijacije (K_{on}) koja je pokazala da rivaroksaban čak četiri puta brže inhibira faktor Xa od apiksabana. Ako se, po rečima ovih autora, produži polужivot faktora Xa za svega nekoliko milisekundi, to može prouzrokovati barem dvadeset narednih lančanih reakcija. Dakle, u slučaju sporijeg apiksabana, duži polужivot faktora Xa bi značilo i veću produkciju trombina, a upravo je to ključni nalaz u ovoj studiji. Ipak, ove studije imaju i nekoliko nedostataka, a jedan od njih je što su to kontrolisani laboratorijski uslovi te nisu mogli da se uzmu u obzir brojni drugi faktori koji vladaju u in vivo uslovima, kao i drugačiji režim doziranja ova dva leka prilikom lečenja pacijenata, varijabilnost u koncentracijama itd. U studiji sprovedenoj od strane Ieko i saradnika, objavljenoj 2016. godine, pokušalo se kroz izračunavanje potencije leka, ali uzimajući u obzir mnogo više varijabli, da se međusobno uporede različiti DOAK-i.¹²² Naime, istraživači su koristeći se poznatim činjenicama o molekulskoj masi leka, bioraspoloživosti, kapacitetu vezivanja za proteine plazme, konstanti inhibicije i propisanoj dozi, izračunavali potenciju, tj. stepen inhibicije ciljnog faktora koagulacije, za svaki DOAK pojedinačno. Poređeni su rivaroksaban, apiksaban, edoksaban i dabigatran mada je poređenje dabigatrana ostalo sporno zbog drugačijeg mehanizma dejstva leka. Ovi istraživači su zaključili da apiksaban zapravo ima najveću potenciju delovanja i da se njegovo antikoagulantno dejstvo čak može smatrati perzistentnim (poredivši ga po tome sa vitamin K antagonistima) pre nego intermitentnim s obzirom da se daje dva puta dnevno. Sa druge strane, rivaroksaban ima više intermitentno dejstvo. Primera radi, režim davanja apiksabana u dozi od 5 mg dva puta dnevno premašuje 90% potencije rivaroksabana kada bi se ovaj davao u dozi od 18,68 mg dva puta dnevno. Iako ovo pitanje potencije DOAK-a i dalje ostaje otvoreno, svi ovi rezultati snažno sugerišu da među njima postoje značajne razlike u nivou antikoagulantnog efekta.

Iako do sada ne postoje kliničke randomizovane studije u kojim su direktno međusobno poređeni DOAK-i, prva studija na animalnom modelu, gde su međusobno upoređeni apiksaban, rivaroksaban i dabigatran objavljena je od strane Wong i saradnika 2009. godine.¹²³ U ovoj studiji korišćeni su zečevi jer ovi inhibitori, in vitro, kod zečeva imaju sličnu anti-Xa potenciju (apiksaban i rivaroksaban) i antikoagulantnu potenciju (dabigatran) kao kod ljudi. Ovi autori su

pokazali da pri preventivnim i terapijskim dozama, apiksaban i rivaroksaban imaju bolji odnos efekat/rizik nego dabigatran. Iako su sva tri antikoagulansa imala slično antitrombotično dejstvo, apiksaban je vreme krvarenja pri terapijskoj dozi produžio za 1,1s, rivaroksaban za 1,9s, a dabigatran za 4,4s što je bila značajna razlika u odnosu na apiksaban. Autor dalje iznosi pretpostavke da je to najverovatnije zbog toga što jedino dabigatran utiče na aktivnost trombina, a da se kod apiksabana i rivaroksabana ipak stvara rezidualna količina trombina koji uspeva da aktivira visokosenzitivne receptore na trombocitima. Do identične pretpostavke o većoj aktivnosti trombina kod pacijenata na apiksabanu smo došli i mi u ovoj studiji nakon dobijenih rezultata. Naravno da je translacija sa animalnog na humani model veoma teška i da je potrebno uraditi kliničku studiju na ljudskim ispitanicima. Ipak, ova studija je prva klinička studija na pacijentima sa plućnom tromboembolijom koja je uporedila direktno ova tri DOAK-a.

Govoreći u kontekstu do sada učinjenih studija koje su direktno ili indirektno poredile međusobno DOAK-e, ne možemo da ne pomenemo dve velike retrospektivne kohortne studije koje su DOAK-e poredile kod pacijenata sa nevalvularnom atrijskom fibrilacijom. Prva je objavljena 2019. godine od strane Grahama i saradnika, a drugu su 2017. godine objavili Noseworthy i saradnici.^{124,125} Graham i saradnici su koristili veliku bazu podataka američkih zdravstvenih osiguranika (Medicare) i studijom su obuhvaćeni svi stariji pacijenti preko 65 godina koji su u prevenciji tromboembolijske bolesti zbog nevalvularne atrijske fibrilacije dobijali ili rivaroksaban ili dabigatran i međusobno upoređeni u smislu efikasnosti i bezbednosti. Studijom je obuhvaćeno 118891 pacijent u periodu od 2011. do 2014. godine. Rezultati studije su pokazali da su pacijenti na rivaroksabanu češće imali intrakranijalno krvarenje i veliko ekstrakranijalno krvarenje, uključujući i gastrointestinalno krvarenje, u poređenju sa pacijentima na dabigatranu. Čak su stariji preko 75 godina na rivaroksabanu imali češću ukupnu smrtnost. Sa druge strane, pacijenti na rivaroksabanu su imali manje ishemijskih moždanih udara, ali je suma rizika i benefita (neto klinički benefit) bila na strani ipak većeg rizika u odnosu na benefit, u poređenju sa pacijentima na dabigatranu. Ova studija je izvedena na velikom broju pacijenata, ali spada u opservacione, retrospektivne studije koja je pri tom imala i kratak prosečan period praćenja od manje od 4 meseca i odnosi se na stariju populaciju. Ipak, istraživači su zaključili da je veća korist od dabigatrana nego rivaroksabana. U drugoj studiji, Noseworthy i saradnici su takođe koristeći američku bazu podataka o zdravstvenim osiguranicima uporedili efikasnost/bezbednost kod pacijenata koji su za prevenciju tromboembolijske bolesti usled

nevalvularne atrijske fibrilacije lečeni rivaroksabanom ili apiksabanom ili dabigatranom. Oni su poredili rivaroksaban i apiksaban, rivaroksaban i dabigatran i apiksaban i dabigatran. Period iz kog su dobijeni podaci je od 2010. do 2015. godine i uključio je više desetina hiljada pacijenata. Istraživači su zaključili da je efikasnost sva tri antikoagulansa u prevenciji tromboembolijske bolesti podjednaka, ali da apiksaban nosi značajno manji rizik od krvarenja, a da rivaroksaban nosi značajno veći rizik od intrakranijalnog i ekstrakranijalnog velikog krvarenja. Ovi podaci, moraju se uzeti sa rezervom, jer veliko je pitanje uporedivosti grupa, zbog prisutnih nedostataka ovakvih retrospektivnih studija. Pa ipak, rezultati koreliraju sa rezultatima ove doktorske disertacije. Naime, kod pacijenata u ovoj doktorskoj disertaciji, rivaroksaban je zaista imao najveću inhibiciju sistema koagulacije, iako je ta razlika statistički značajna samo u poređenju sa apiksabanom. Uz postojanje ograničenja ovog istraživanja u kojoj je obuhvaćen relativno mali broj pacijenata, možda se može očekivati da bi se, na većem broju pacijenata, ta značajnost razlike pojavila i u poređenju sa dabigatranom. Takođe, apiksaban u rezultatima pokazuje najbolje efekte koji bi išli u korist očuvanja hemostaze, te je i očekivan ovakav rezultat najbolje bezbednosti ovog leka u navedenim studijama. Ono što nije u korelaciji sa pretpostavkama iz ranije pomenutih in vitro i ex vivo studija, kao i in vivo studija na zečevima, je to da bi se na osnovu tih rezultata ipak očekivalo da dabigatran ima najveće krvarenje uz snažan antikoagulantni efekat, usled kompletne inhibicije aktivnosti trombina, posledične blokade trombinom posredovane aktivacije trombocita i unutrašnjeg puta koagulacije. Ova doktorska disertacija, pa i druge dve pomenute retrospektivne studije, koristeći podatke merene in vivo, na ljudima, odnosno koristeći kliničke podatke, pokazuju da je, barem kad je u pitanju rivaroksaban, taj raspored snaga drugačiji. Svakako, ova disertacija je rađena na drugoj populaciji pacijenata, koji su imali plućnu tromboemboliju, ali smatramo da je pod dejstvom stabilne antikoagulantne terapije dobijeni rezultat očekivan i kod drugih pacijenata, poput onih sa nevalvularnom atrijskom fibrilacijom.

Iz svega ovoga bi onda mogao proisteći i zaključak da je apiksaban lek sa bolje izbalansiranim dejstvom, u smislu efikasnost/bezbednost, u odnosu na druga dva DOAK-a, obezbeđujući bolju hemostazu uz dovoljan antikoagulantni efekat. Ipak, ovakav zaključak bi bez prethodnih randomizovanih kliničkih studija sa direktnim međusobnim poređenjem DOAK-a sa akcentom na efikasnost i bezbednost, bio preuranjen, a stavio bi apiksaban u neravnotežan i povlašćen položaj u odnosu na druge DOAK-e.

U dosadašnjoj diskusiji dotakli smo se nekih bitnih pretpostavki oko mehanizma nastanka ovih statistički značajnih razlika u aktivnosti faktora II, koja je nesumnjivo najveća kod pacijenata na apiksabanu. Ali u rezultatima su prisutne i neke druge značajne razlike kao što je veća aktivnost faktora VII, VIII i antikoagulantnog proteina C. Iz do sada objavljenih radova lako možemo videti povezanost trombina sa aktivacijom ovih faktora pa i proteina C (preko trombomodulina).²⁰ Zato mislimo da je glavni nalaz u ovoj doktorskoj disertaciji pre svega razlika u aktivnosti faktora II, a da su sve ostale razlike rezultat složenog međusobnog dejstva trombina i ostalih faktora u koagulacionoj kaskadi. Teško je objasniti zašto nije prisutna značajna razlika između apiksabana i rivaroksabana u aktivnosti faktora VIII, odnosno apiksabana i dabigatrana u aktivnosti faktora VII i proteina C, jer se ovi faktori takođe aktiviraju preko trombina koji je značajno povišen kod apiksabana. Možda bismo na većem broju pacijenata ipak dobili jasnije razlike. Svakako, tokom praćenja pacijenata i sa povećanjem njihovog broja, značajnost razlike u faktoru II se rano javila i održavala kao konstanta do kraja studije. Ovakav nalaz, uz kliničke nalaze skorašnjih retrospektivnih studija koji snažno koreliraju sa nalazom ovog istraživanja, ohrabruje da je rezultat dobijen u ovoj doktorskoj disertaciji tačan, iako dobijen na relativno malom uzorku, kao i da nije rezultat mogućih laboratorijskih grešaka koje su opisivane u literaturi.¹²⁶

Značaj ove doktorske disertacije je pre svega u doprinosu za bolje razumevanja različitih delovanja DOAK-a na složen sistem koagulacione kaskade. Ovakvim saznanjima koja mogu biti uvod, ali i dopuna kliničkim randomizovanim studijama, olakšavaju nam da bolje razumemo kliničke efekte, a samim tim i korist DOAK-a u specifičnim situacijama njihove primene kao i kod različitih indikacija. Cilj ovakvih istraživanja nije da se nađe koji je od DOAK-a najbolji, jer će svaki imati svoje mesto u lečenju tromboembolijske bolesti, već šta možemo da očekujemo od svakog od njih u određenoj indikaciji. Snažan antikoagulantni efekat uz istovremeno postignutu idealnu bezbednost još nije postignut ni kod jednog, ali je neophodno da znamo koliki su posebni dometi u efikasnosti i bezbednosti kod svakog od njih. Verujem da apiksaban uz antikoagulantni efekat ima najbolju aktivaciju sistema hemostaze, ali nije jasno da li je u stanjima pojačane trombogenosti to osobina zbog koje treba primeniti neki od druga dva DOAK-a. Rivaroksaban i dabigatran imaju različite mehanizme dejstva, ali u rezultatima ovog istraživanja se nisu značajno razlikovali u dobijenim nalazima. Ipak, dosadašnji klinički podaci govore da te razlike možda ipak postoje. Dalja istraživanja su neophodna. 7

ZAKLJUČCI

1. Merenje aktivnosti faktora koagulacione kaskade i njihovo poređenje između pacijenata nakon mesec dana stabilne terapije jednim od DOAK-a (apiksaban, rivaroksaban ili dabigatran) pokazalo je da postoje razlike čak i kada su u pitanju lekovi sa istim mehanizmom dejstva.
2. Pacijenti sa plućnom embolijom, nakon mesec dana antikoagulantne terapije apiksabanom imaju značajno veću aktivnost trombina u poređenju sa pacijentima koji su zbog iste indikacije uzimali rivaroksaban ili dabigatran.
3. Kod pacijenata na apiksabanu takođe su povišene aktivnosti i faktora VII i proteina C u odnosu na one na rivaroksabanu, kao i faktora VIII u poređenju sa pacijentima na dabigatranu.
4. Koncentracije D-dimera, fibrinogena kao i anti-Xa aktivnost (za apiksaban i rivaroksaban) nisu se značajno razlikovale između grupa što pokazuje stabilan antikoagulantni efekat ispitivanih DOAK-a.
5. Sprovođenje nove studije u kojoj bi se ispitao hemostatski potencijal viška aktivnosti trombina kod pacijenata na apiksabanu u odnosu na one na rivaroksabanu pružilo bi nova saznanja o eventualnim razlikama u bezbednosti između ova dva antikoagulansa sa istim mehanizmom dejstva.

LITERATURA

1. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics—2010 Update. *Circulation*. 2010;121(7):948-954. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192666
2. Ruppert A, Lees M, Steinle T. Clinical burden of venous thromboembolism. *Curr Med Res Opin*. 2010;26(10):2465-2473. doi:10.1185/03007995.2010.516090
3. Dahlbäck B. Blood coagulation. *Lancet*. 2000;355(9215):1627-1632. doi:10.1016/S0140-6736(00)02225-X
4. Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol*. 2004;11(4):272-277. doi:10.1097/01.moh.0000130308.37353.d4
5. Goldhaber SZ. Risk Factors for Venous Thromboembolism. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(1):1-7. doi:10.1016/j.jacc.2010.01.057
6. Baumgartner HR. The role of blood flow in platelet adhesion, fibrin deposition, and formation of mural thrombi. *Microvasc Res*. 1973;5(2):167-179. doi:10.1016/0026-2862(73)90069-1
7. Lassila R, Badimon JJ, Vallabhajosula S, Badimon L. Dynamic monitoring of platelet deposition on severely damaged vessel wall in flowing blood. Effects of different stenoses on thrombus growth. *Arterioscler An Off J Am Hear Assoc Inc*. 1990;10(2):306-315. doi:10.1161/01.ATV.10.2.306
8. Epstein FH, Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 1992;326(5):310-318. doi:10.1056/NEJM199201303260506
9. RICHARDSON P. INFLUENCE OF PLAQUE CONFIGURATION AND STRESS DISTRIBUTION ON FISSURING OF CORONARY ATHEROSCLEROTIC PLAQUES. *Lancet*. 1989;334(8669):941-944. doi:10.1016/S0140-6736(89)90953-7

10. Di Minno MND, Ambrosino P, Ambrosini F, Tremoli E, Di Minno G, Dentali F. Prevalence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in patients with superficial vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2016;14(5):964-972. doi:10.1111/jth.13279
11. Owens AP, Mackman N. Tissue factor and thrombosis: The clot starts here. *Thromb Haemost.* 2010;104(09):432-439. doi:10.1160/TH09-11-0771
12. John E. Hall ACG. Hemostasis and blood coagulation. In: *TEXTBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2010:457-459.
13. Wheeler AP, Rice TW. Coagulopathy in Critically Ill Patients. *Chest.* 2010;137(1):185-194. doi:10.1378/chest.08-2535
14. Triplett DA. Coagulation and Bleeding Disorders: Review and Update. *Clin Chem.* 2000;46(8):1260-1269. doi:10.1093/clinchem/46.8.1260
15. Bos MHA, van 't Veer C, Reitsma PH. Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, et al., eds. *Williams Hematology, 9e*. McGraw-Hill Education; 2015:614-616. <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1121102570>
16. Opal SM, Kessler CM, Roemisch J, Knaub S. Antithrombin, heparin, and heparan sulfate. *Crit Care Med.* 2002;30(Supplement):S325-S331. doi:10.1097/00003246-200205001-00024
17. Quinsey NS, Greedy AL, Bottomley SP, Whisstock JC, Pike RN. Antithrombin: in control of coagulation. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004;36(3):386-389. doi:10.1016/S1357-2725(03)00244-9
18. Price GC, Thompson SA, Kam PCA. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesthesia.* 2004;59(5):483-492. doi:10.1111/j.1365-2044.2004.03679.x
19. Ejiofor JA. Anticlotting mechanisms I: Physiology and pathology. *Contin Educ Anesth Crit Care Pain.* 2013;13:87-92.

20. Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth.* 2014;58(5):515-523. doi:10.4103/0019-5049.144643
21. Bělohávek J, Dytrych V, Linhart A. Pulmonary embolism, part I: Epidemiology, risk factors and risk stratification, pathophysiology, clinical presentation, diagnosis and nonthrombotic pulmonary embolism. *Exp Clin Cardiol.* 2013;18(2):129-138. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23940438>
22. Ae IAN, H A M M E R S T R Ø M J. *Incidence and Mortality of Venous Thrombosis: A Population-Based Study.*
23. Alikhan R, Peters F, Wilmott R, Cohen AT. Fatal pulmonary embolism in hospitalised patients: a necropsy review. *J Clin Pathol.* 2004;57(12):1254-1257. doi:10.1136/jcp.2003.013581
24. Konstantinides S V., Meyer G, Bueno H, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European respiratory society (ERS). *Eur Heart J.* 2020;41(4):543-603. doi:10.1093/eurheartj/ehz405
25. Wendelboe AM, Raskob GE. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. *Circ Res.* 2016;118(9):1340-1347. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306841
26. Anderson FA, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. *Circulation.* 2003;107(SUPPL. 23). doi:10.1161/01.CIR.0000078469.07362.E6
27. Konstantinides S V, Meyer G, Becattini C, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J.* 2020;41(4):543-603. doi:10.1093/eurheartj/ehz405
28. Pollack C V, Schreiber D, Goldhaber SZ, et al. Clinical characteristics, management, and outcomes of patients diagnosed with acute pulmonary embolism in the emergency department: initial report of EMPEROR (Multicenter Emergency Medicine Pulmonary Embolism in the Real World Registry). *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(6):700-706. doi:10.1016/j.jacc.2010.05.071

29. Streiff MB, Agnelli G, Connors JM, et al. Guidance for the treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41(1):32-67. doi:10.1007/s11239-015-1317-0
30. Thaler J, Pabinger I, Ay C. Anticoagulant Treatment of Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: The Present State of the Art. *Front Cardiovasc Med*. 2015;2:30. doi:10.3389/fcvm.2015.00030
31. Schulman S, Kakkar AK, Goldhaber SZ, et al. Treatment of acute venous thromboembolism with dabigatran or warfarin and pooled analysis. *Circulation*. 2014;129(7):764-772. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004450/-/DC1
32. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK, et al. Dabigatran versus Warfarin in the Treatment of Acute Venous Thromboembolism. *N Engl J Med*. 2009;361(24):2342-2352. doi:10.1056/NEJMoa0906598
33. Bauersachs R, Berkowitz SD, Brenner B, et al. Oral Rivaroxaban for Symptomatic Venous Thromboembolism The EINSTEIN Investigators* The members of the writing committee (A B S T R A C T. *N Engl J Med*. 2010;363:2499-2510. doi:10.1056/NEJMoa1007903
34. Bailey AL. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *Cardiol Rev*. 2012;28(3):1287-1297. doi:10.1056/nejmoa1113572
35. Weitz JI, Lensing AWA, Prins MH, et al. Rivaroxaban or Aspirin for Extended Treatment of Venous Thromboembolism. *N Engl J Med*. 2017;376(13):1211-1222. doi:10.1056/nejmoa1700518
36. Agnelli G, Buller HR, Cohen A, et al. Oral Apixaban for the Treatment of Acute Venous Thromboembolism. *N Engl J Med*. 2013;369(9):799-808. doi:10.1056/NEJMoa1302507
37. Agnelli G, Buller HR, Cohen A, et al. Apixaban for Extended Treatment of Venous Thromboembolism. *NEJM.org N Engl J Med*. 2013;8:699-708. doi:10.1056/NEJMoa1207541
38. Bane CE, Gailani D. Factor XI as a target for antithrombotic therapy. *Drug Discov Today*. 2014;19(9):1454-1458. doi:10.1016/J.DRUDIS.2014.05.018

39. Hogg K, Weitz JI. Blood Coagulation and Anticoagulant, Fibrinolytic, and Antiplatelet Drugs. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, eds. *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 13e. McGraw-Hill Education; 2017.
<http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1162539182>
40. Harter K, Levine M, Henderson SO. Anticoagulation drug therapy: a review. *West J Emerg Med*. 2015;16(1):11-17. doi:10.5811/westjem.2014.12.22933
41. D. Douketis J. Pharmacologic Properties of the New Oral Anticoagulants: A Clinician-oriented Review with a Focus on Perioperative Management. *Curr Pharm Des*. 2010;16(31):3436-3441. doi:10.2174/138161210793563338
42. Gresham C, Levine M, Ruha A-M. Case files of the medical toxicology fellowship at banner good samaritan medical center in Phoenix, AZ: A non-warfarin anticoagulant overdose. *J Med Toxicol*. 2009;5(4):242-249. doi:10.1007/BF03178275
43. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012;141(2 Suppl):e44S-e88S. doi:10.1378/chest.11-2292
44. Kelly JG, O'Malley K. Clinical Pharmacokinetics of Oral Anticoagulants. *Clin Pharmacokinet*. 1979;4(1):1-15. doi:10.2165/00003088-197904010-00001
45. Nutescu EA, Shapiro NL, Ibrahim S, West P. Warfarin and its interactions with foods, herbs and other dietary supplements. *Expert Opin Drug Saf*. 2006;5(3):433-451. doi:10.1517/14740338.5.3.433
46. Wittkowsky AK. Drug Interactions Update: Drugs, Herbs, and Oral Anticoagulation. *J Thromb Thrombolysis*. 2001;12(1):67-71. doi:10.1023/A:1012742628628
47. Nutescu EA, Burnett A, Fanikos J, Spinler S, Wittkowsky A. Pharmacology of anticoagulants used in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis*. 2016;41(1):15-31. doi:10.1007/s11239-015-1314-3
48. Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals. *Pradaxa (Dabigatran) Prescribing Information.*;

2015.

49. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al. Dabigatran versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*. 2009;361(12):1139-1151. doi:10.1056/NEJMoa0905561
50. Eisert WG, Huel N, Stangier J, Wienen W, Clemens A, van Ryn J. Dabigatran: An Oral Novel Potent Reversible Nonpeptide Inhibitor of Thrombin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(10):1885-1889. doi:10.1161/ATVBAHA.110.203604
51. Stangier J, Stähle H, Rathgen K, Fuhr R. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Direct Oral Thrombin Inhibitor Dabigatran in Healthy Elderly Subjects. *Clin Pharmacokinet*. 2008;47(1):47-59. doi:10.2165/00003088-200847010-00005
52. Finch A, Pillans P. P-glycoprotein and its role in drug-drug interactions. *Aust Prescr*. 2014;37(4):137-139. doi:10.18773/austprescr.2014.050
53. van Ryn J, Huel N, Waldmann L, Wienen W. Dabigatran inhibits both clot-bound and fluid-phase thrombin in vitro: comparison to heparin and hirudin. In: *ARTERIOSCLEROSIS THROMBOSIS AND VASCULAR BIOLOGY*. Vol 28. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA; 2008:E136-E137.
54. Weitz JJ, Leslie B, Hudoba M. Thrombin Binds to Soluble Fibrin Degradation Products Where it Is Protected From Inhibition by Heparin-Antithrombin but Susceptible to Inactivation by Antithrombin-Independent Inhibitors. *Circulation*. 1998;97(6):544-552. doi:10.1161/01.CIR.97.6.544
55. Arbelo E, Bax JJ, Blomström-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) and National Cardiac Societies document re. doi:10.1093/eurheartj/ehaa612
56. Xarelto (rivaroxaban) prescribing information. *Interactions*. Published online 2015:1-34. chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.janssenlabels.com/package-insert/product-monograph/prescribing-information/XARELTO-pi.pdf

57. Kubitza D, Becka M, Zuehlsdorf M, Mueck W. Body weight has limited influence on the safety, tolerability, pharmacokinetics, or pharmacodynamics of rivaroxaban (BAY 59-7939) in healthy subjects. *J Clin Pharmacol*. 2007;47(2):218-226. doi:10.1177/0091270006296058
58. Kubitza D, Becka M, Roth A, Mueck W. The influence of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban--an oral, direct Factor Xa inhibitor. *J Clin Pharmacol*. 2013;53(3):249-255. doi:10.1002/jcph.5
59. Bristol-Myers Squibb and Pfizer. *Eliquis (Apixaban) Prescribing Information.*; 2015.
60. He K, Luettggen JM, Zhang D, et al. Preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban, a potent and selective factor Xa inhibitor. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2011;36(3):129-139. doi:10.1007/s13318-011-0037-x
61. Frost C, Wang J, Nepal S, et al. Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(2):476-487. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04369.x
62. Wang L, Zhang D, Raghavan N, et al. In vitro assessment of metabolic drug-drug interaction potential of apixaban through cytochrome P450 phenotyping, inhibition, and induction studies. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(3):448-458. doi:10.1124/dmd.109.029694
63. Wang X, Tirucherai G, Marbury TC, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of apixaban in subjects with end-stage renal disease on hemodialysis. *J Clin Pharmacol*. 2016;56(5):628-636. doi:10.1002/jcph.628
64. Byon W, Garonzik S, Boyd RA, Frost CE. Apixaban: A Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(10):1265-1279. doi:10.1007/s40262-019-00775-z
65. Wong PC, Pinto DJP, Zhang D. Preclinical discovery of apixaban, a direct and orally bioavailable factor Xa inhibitor. *J Thromb Thrombolysis*. 2011;31(4):478-492.

doi:10.1007/s11239-011-0551-3

66. Raghavan N, Frost CE, Yu Z, et al. Apixaban Metabolism and Pharmacokinetics after Oral Administration to Humans. *Drug Metab Dispos.* 2009;37(1):74-81.
doi:10.1124/dmd.108.023143
67. Wang X, Mondal S, Wang J, et al. Effect of Activated Charcoal on Apixaban Pharmacokinetics in Healthy Subjects. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2014;14(2):147-154.
doi:10.1007/s40256-013-0055-y
68. Frost CE, Byon W, Song Y, et al. Effect of ketoconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor. *Br J Clin Pharmacol.* 2015;79(5):838-846. doi:10.1111/bcp.12541
69. Luettggen JM, Knabb RM, He K, Pinto DJP, Rendina AR. Apixaban inhibition of factor Xa: Microscopic rate constants and inhibition mechanism in purified protein systems and in human plasma. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2011;26(4):514-526.
doi:10.3109/14756366.2010.535793
70. Jiang X, Crain EJ, Luettggen JM, Schumacher WA, Wong PC. Apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor, inhibits human clot-bound factor Xa activity in vitro. *Thromb Haemost.* 2009;101(4):780-782.
https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/19350128/Apixaban_an_oral_direct_factor_Xa_inhibitor_inhibits_human_clot_bound_factor_Xa_activity_in_vitro_
71. Raymond J, Imbert L, Cousin T, et al. Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. *J Pers Med.* 2021;11(1). doi:10.3390/jpm11010037
72. Lenoir C, Terrier J, Gloor Y, et al. Impact of the Genotype and Phenotype of CYP3A and P-gp on the Apixaban and Rivaroxaban Exposure in a Real-World Setting. *J Pers Med.* 2022;12(4):526. doi:10.3390/jpm12040526
73. Terrier J, Gaspar F, Fontana P, et al. Drug-Drug Interactions with Direct Oral Anticoagulants: Practical Recommendations for Clinicians. *Am J Med.* 2021;134(8):939-942. doi:10.1016/j.amjmed.2021.04.003

74. Sanborn D, Sugrue A, Amin M, et al. Outcomes of Direct Oral Anticoagulants Co-Prescribed with Common Interacting Medications. *Am J Cardiol.* 2022;162:80-85. doi:10.1016/j.amjcard.2021.09.025
75. Lee JY, Oh I-Y, Lee J-H, et al. The increased risk of bleeding due to drug-drug interactions in patients administered direct oral anticoagulants. *Thromb Res.* 2020;195:243-249. doi:10.1016/j.thromres.2020.07.054
76. Hanigan S, Das J, Pogue K, Barnes GD, Dorsch MP. The real world use of combined P-glycoprotein and moderate CYP3A4 inhibitors with rivaroxaban or apixaban increases bleeding. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;49(4):636-643. doi:10.1007/s11239-020-02037-3
77. Fernandez S, Lenoir C, Samer CF, Rollason V. Drug-Drug Interactions Leading to Adverse Drug Reactions with Rivaroxaban: A Systematic Review of the Literature and Analysis of Vigibase. *J Pers Med.* 2021;11(4). doi:10.3390/jpm11040250
78. Gronich N, Stein N, Muszkat M. Association Between Use of Pharmacokinetic-Interacting Drugs and Effectiveness and Safety of Direct Acting Oral Anticoagulants: Nested Case-Control Study. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;110(6):1526-1536. doi:10.1002/cpt.2369
79. Dale BJ, Chan NC, Eikelboom JW. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants. *Br J Haematol.* 2016;172(3):315-336. doi:https://doi.org/10.1111/bjh.13810
80. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ V, et al. Apixaban versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med.* 2011;365(11):981-992. doi:10.1056/NEJMoa1107039
81. Mueck W, Borris LC, Dahl OE, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of once and twice-daily rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism in patients undergoing total hip replacement. *Thromb Haemost.* 2008;100(09):453-461. doi:10.1160/TH07-12-0714
82. Hawes EM, Deal AM, Funk-Adcock D, et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: a cross-sectional pharmacodynamic study based on

peak and trough plasma levels. *J Thromb Haemost.* 2013;11(8):1493-1502.
doi:10.1111/jth.12308

83. Buller HR, Lensing AWA, Prins MH, et al. A dose-ranging study evaluating once-daily oral administration of the factor Xa inhibitor rivaroxaban in the treatment of patients with acute symptomatic deep vein thrombosis: the Einstein–DVT Dose-Ranging Study. *Blood.* 2008;112(6):2242-2247. doi:10.1182/blood-2008-05-160143
84. Schmitz EMH, Boonen K, van den Heuvel DJA, et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-performance liquid 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
85. Jelena Živančev. Napredne spregnute tehnike u analizi ksenobiotika. Published online 214AD.
86. Cuker A, Siegal DM, Crowther MA, Garcia DA. Laboratory Measurement of the Anticoagulant Activity of the Non–Vitamin K Oral Anticoagulants. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(11):1128-1139. doi:10.1016/j.jacc.2014.05.065
87. Gouin-Thibault I, Flaujac C, Delavenne X, et al. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicentre French GEHT study. *Thromb Haemost.* 2014;111(2):240-248. doi:10.1160/TH13-06-0470
88. Dager WE, Gosselin RC, Kitchen S, Dwyre D. Dabigatran Effects on the International Normalized Ratio, Activated Partial Thromboplastin Time, Thrombin Time, and Fibrinogen: A Multicenter, In Vitro Study. *Ann Pharmacother.* 2012;46(12):1627-1636.
doi:10.1345/aph.1R179
89. Gosselin RC, Francart SJ, Hawes EM, Moll S, Dager WE, Adcock DM. 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

90. Becker RC, Yang H, Barrett Y, et al. Chromogenic laboratory assays to measure the factor Xa-inhibiting properties of apixaban--an oral, direct and selective factor Xa inhibitor. *J Thromb Thrombolysis*. 2011;32(2):183-187. doi:10.1007/s11239-011-0591-8
91. Konstantinides S V, Torbicki A, Agnelli G, et al. 2014 ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: The Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC)Endorsed by the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J*. 2014;35(43):3033-3080. doi:10.1093/eurheartj/ehu283
92. Bailey AL. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *Cardiol Rev*. 2012;28(3):1287-1297. doi:10.1056/nejmoa1113572
93. Schulman S, Kakkar AK, Goldhaber SZ, et al. Treatment of Acute Venous Thromboembolism With Dabigatran or Warfarin and Pooled Analysis. *Circulation*. 2014;129(7):764-772. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004450
94. Grimnes G, Isaksen T, Tichelaar YIGV, Braekkan SK, Hansen J-B. Acute infection as a trigger for incident venous thromboembolism: Results from a population-based case-crossover study. *Res Pract Thromb Haemost*. 2018;2(1):85-92. doi:10.1002/rth2.12065
95. Cook D, Attia J, Weaver B, McDonald E, Meade M, Crowther M. Venous thromboembolic disease: An observational study in medical-surgical intensive care unit patients. *J Crit Care*. 2000;15(4):127-132. doi:https://doi.org/10.1053/jcrc.2000.19224
96. Huang C-W, Duan L, An J, Sim JJ, Lee M-S. Effectiveness and Safety of Dabigatran in Atrial Fibrillation Patients with Severe Obesity: a Real-World Retrospective Cohort Study. *J Gen Intern Med*. Published online September 20, 2021. doi:10.1007/s11606-021-07114-8
97. Carreiro J, Ansell J. Apixaban, an oral direct Factor Xa inhibitor: awaiting the verdict. *Expert Opin Investig Drugs*. 2008;17(12):1937-1945. doi:10.1517/13543780802528625
98. Peat Barton, Belinda., J. Medical Statistics : a Guide to Data Analysis and Critical Appraisal. Published online 2008. http://www.123library.org/book_details/?id=3778
99. Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant

- testing. *J Thromb Haemost.* 2016;14(5):886-893. doi:<https://doi.org/10.1111/jth.13266>
100. Ieko M, Tarumi T, Takeda M, Naito S, Nakabayashi T, Koike T. Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet in hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2004;2(4):612-618. doi:[10.1111/j.1538-7933.2004.00649.x](https://doi.org/10.1111/j.1538-7933.2004.00649.x)
 101. Guo W-Q, Chen X-H, Tian X-Y, Li L. Differences In Gastrointestinal Safety Profiles Among Novel Oral Anticoagulants: Evidence From A Network Meta-Analysis. *Clin Epidemiol.* 2019;11:911-921. doi:[10.2147/CLEP.S219335](https://doi.org/10.2147/CLEP.S219335)
 102. Chan Y-H, See L-C, Tu H-T, et al. Efficacy and Safety of Apixaban, Dabigatran, Rivaroxaban, and Warfarin in Asians With Nonvalvular Atrial Fibrillation. *J Am Heart Assoc.* 2018;7(8). doi:[10.1161/JAHA.117.008150](https://doi.org/10.1161/JAHA.117.008150)
 103. Larsen TB, Skjøth F, Nielsen PB, Kjældgaard JN, Lip GYH. Comparative effectiveness and safety of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and warfarin in patients with atrial fibrillation: propensity weighted nationwide cohort study. *BMJ.* 2016;353:i3189. doi:[10.1136/bmj.i3189](https://doi.org/10.1136/bmj.i3189)
 104. Mamas MA, Batson S, Pollock KG, et al. Meta-Analysis Comparing Apixaban Versus Rivaroxaban for Management of Patients With Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Am J Cardiol.* 2022;166:58-64. doi:[10.1016/j.amjcard.2021.11.021](https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2021.11.021)
 105. Vrijens B, Heidbuchel H. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: considerations on once- vs. twice-daily regimens and their potential impact on medication adherence. *EP Eur.* 2015;17(4):514-523. doi:[10.1093/europace/euu311](https://doi.org/10.1093/europace/euu311)
 106. Comté L, Vrijens B, Tousset E, Gérard P, Urquhart J. Estimation of the comparative therapeutic superiority of QD and BID dosing regimens, based on integrated analysis of dosing history data and pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2007;34(4):549-558.
 107. Frost C, Song Y, Barrett YC, et al. A randomized direct comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban and rivaroxaban. *Clin Pharmacol.*

- 2014;6:179-187. doi:10.2147/CPAA.S61131
108. Mueck W, Stampfuss J, Kubitza D, Becka M. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban. *Clin Pharmacokinet*. 2014;53(1):1-16. doi:10.1007/s40262-013-0100-7
 109. Samama MM, Guinet C. Laboratory assessment of new anticoagulants. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(5):761-772. doi:doi:10.1515/CCLM.2011.134
 110. Turkoglu EI. NOACs and routine coagulation assays. How to interpret? *Int J Cardiovasc Acad*. 2015;1(2-3):41-42. doi:10.1016/j.ijcac.2015.10.004
 111. Ryn J van, Stangier J, Haertter S, et al. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost*. 2010;103(06):1116-1127. doi:10.1160/TH09-11-0758
 112. 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. *Thromb Haemost*. 2012;107(05):985-997.
 113. Samama MM, Martinoli J-L, LeFlem L, et al. Assessment of laboratory assays to measure rivaroxaban—an oral, direct factor Xa inhibitor. *Thromb Haemost*. 2010;103(04):815-825.
 114. Barrett YC, Wang Z, Frost C, Shenker A. Clinical laboratory measurement of direct factor Xa inhibitors: anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay. *Thromb Haemost*. 2010;104(12):1263-1271.
 115. Kim PY, Yeh CH, Dale BJ, et al. Mechanistic Basis for the Differential Effects of Rivaroxaban and Apixaban on Global Tests of Coagulation. *TH open companion J to Thromb Haemost*. 2018;2(2):e190-e201. doi:10.1055/s-0038-1649507
 116. Burchiel KJ. International normalized ratio. *J Neurosurg*. 2011;114(1):8. doi:10.3171/2010.3.JNS10155
 117. Barrett YC, Wang Z, Knabb RM. A novel prothrombin time assay for assessing the anticoagulant activity of oral factor Xa inhibitors. *Clin Appl Thromb*. 2013;19(5):522-528.

doi:10.1177/1076029612441859

118. Nagao T, Hunakubo H, Suzuki M, et al. Trends in physiological coagulation factors in Japanese patients receiving novel oral anticoagulants. *J arrhythmia*. 2017;33(2):117-121. doi:10.1016/j.joa.2016.07.011
119. Vanassche T, Verhamme P. The NOACs: pharmacodynamics and pharmacokinetics. In: DeCaterina R, ed. *ESC CardioMed*. Oxford University Press; 2018:264-268. doi:10.1093/med/9780198784906.003.0055
120. Gong IY, Kim RB. Importance of Pharmacokinetic Profile and Variability as Determinants of Dose and Response to Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban. *Can J Cardiol*. 2013;29(7):S24-S33. doi:10.1016/j.cjca.2013.04.002
121. Jourdi G, Siguret V, Martin AC, et al. Association rate constants rationalise the pharmacodynamics of apixaban and rivaroxaban. *Thromb Haemost*. 2015;114(07):78-86. doi:10.1160/TH14-10-0877
122. Ieko M, Naitoh S, Yoshida M, Takahashi N. Profiles of direct oral anticoagulants and clinical usage-dosage and dose regimen differences. *J Intensive Care*. 2016;4(1). doi:10.1186/s40560-016-0144-5
123. WONG PC, CRAIN EJ, WATSON CA, XIN B. Favorable therapeutic index of the direct factor Xa inhibitors, apixaban and rivaroxaban, compared with the thrombin inhibitor dabigatran in rabbits. *J Thromb Haemost*. 2009;7(8):1313-1320. doi:10.1111/j.1538-7836.2009.03503.x
124. Noseworthy PA, Yao X, Abraham NS, Sangaralingham LR, McBane RD, Shah ND. Direct Comparison of Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban for Effectiveness and Safety in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Chest*. 2016;150(6):1302-1312. doi:10.1016/j.chest.2016.07.013
125. Graham DJ, Baro E, Zhang R, et al. Comparative Stroke, Bleeding, and Mortality Risks in Older Medicare Patients Treated with Oral Anticoagulants for Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Am J Med*. 2019;132(5):596-604.e11. doi:10.1016/j.amjmed.2018.12.023

126. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J*. 2016;14(1):49. doi:10.1186/s12959-016-0123-z