



ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΘΡΟΜΒΩΣΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ



Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

"ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗΣ ΑΓΩ- ΓΗΣ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΑΥΤΗΣ"

υπό

ΕΛΕΝΗΣ Γ. ΠΑΠΑΙΩΑΝΝΟΥ

Τεχνολόγου Ιατρικών Εργαστηρίων

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των
απαιτήσεων για την απόκτηση του
Διπλώματος Μεταπτυχιακών Σπουδών
«Θρόμβωση και Αντιθρομβωτική Αγωγή»

Λάρισα, 2023

Επιβλέπων: Α. Τσελέπης

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

1. Α. Τσελέπης
1. Κ. Καλαντζή
2. Γ. Καϊάφα

Αναπληρωματικό μέλος:

Μ. Ματσάγκας

Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:

Laboratory investigation of antithrombotic therapy and its clinical implementation

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Με το πέρας της μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας μου, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή, κύριο Α. Τσελέπη για την επιστημονική του καθοδήγηση και υποστήριξη καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου για τη συμπαράσταση και κατανόηση τους σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Η αντιθρομβωτική αγωγή διακρίνεται στην αντιπηκτική και στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή. Η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή στοχεύει στην πρωτογενή και δευτερογενή αντιμετώπιση των αρτηριακών θρόμβων. Αρχικά, η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή περιοριζόταν στη χρήση ασπιρίνης. Μετά από αρκετές κλινικές δοκιμές προστέθηκαν οι αναστολείς των υποδοχέων P2Y₁₂, όπως είναι η κλοπιδογρέλη, η τικαγκρελόρη, η πρασουγρέλη και η καγκρελόρη. Από την άλλη πλευρά, η αντιπηκτική αγωγή στοχεύει στην αντιμετώπιση των φλεβικών θρόμβων. Οι ανταγωνιστές της βιταμίνης K ή αλλιώς κουμαρινικά αντιπηκτικά και οι ηπαρίνες αποτελούσαν την κατ' εξοχήν αντιπηκτική αγωγή. Με το πέρασμα των χρόνων, ανακαλύφθηκαν τα νέα από του στόματος αντιπηκτικά, τα λεγόμενα DOACS ή NOACS. Στα DOACS συμπεριλαμβάνονται η rivaroxaban, το apixaban, το edoxaban και το dabigatran. Αυτά έχουν αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα κουμαρινικά. Ωστόσο, και σε αυτή τη νέα σειρά φαρμάκων υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί ως προς την χορήγησή τους σε ευπαθείς ομάδες, όπως είναι οι ηλικιωμένοι και οι ασθενείς με νεφρική και ηπατική ανεπάρκεια. Τέλος, έχουν μελετηθεί διάφορες εργαστηριακές τεχνικές ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των αντιθρομβωτικών φαρμάκων παρέχοντας σημαντικές πληροφορίες στους κλινικούς ιατρούς. Βέβαια η πλειοψηφία αυτών των εργαστηριακών μεθόδων δεν μπορεί να εφαρμοστεί στην εργαστηριακή ρουτίνα λόγω ορισμένων περιορισμών τους, όπως για παράδειγμα ο εξειδικευμένος εξοπλισμός που απαιτείται για την διεξαγωγή της εξέτασης. Παρ' όλα αυτά, η έρευνα συνεχίζεται με σκοπό την βελτίωση των μεθόδων.

Λέξεις- Κλειδιά: Αντιπηκτική αγωγή, Αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, Κουμαρινικά, DOACS, Αιμοπετάλια, Platelet function testing, Ανταγωνιστές των P2Y₁₂

Abstract

The antithrombotic treatment is segmented in the anticoagulant treatment and the antiplatelet treatment. The antiplatelet treatment aims to primary and secondary treatment of the artery thromboses (clots). At the beginning, the antiplatelet treatment was confined to the use of the aspirin. After many clinical trials, were added the inhibitors of the P2Y₁₂ (clopidogrel, ticagrelor, prasugrel and cagrelor). On the other hand, the anticoagulant treatment aims to the prevention of venous clots. The inhibitors of the Vitamin K alias coumarins, was mainly the treatment of the anticoagulation medical care. Over the course of time, the new oral route anticoagulants (DOACS or η NOACS) were discovered. In the DOACS are included the rivaroxaban, the apixaban, the edoxaban and the dabigatran. The advantages of the DOACS outweigh those of the coumarins. Nevertheless, even in this new group of drugs, there are some limitations in regards to the administration to vulnerable groups of people, such as the elderly and the patients who suffer from kidney and liver failure. Lastly, several laboratory methods have been studied that can be used to check the antithrombotic drugs providing important information to clinical doctors. However, the majority of these laboratory methods cannot be implemented in the laboratory routine due to some of their limitations, such as the specialized equipment that is required for conducting the examination. However, research is in progress in order the methods to be improved.

Key words: Anticoagulant treatment, Antiplatelet treatment, Coumarins, DOACS, Platelet, Platelet function testing, P2Y₁₂ inhibitors

Περιεχόμενα

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	10
<u>Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή.....</u>	<u>10</u>
1.1 Θρόμβωση.....	10
1.2 Αντιθρομβωτική αγωγή.....	10
<u>Κεφάλαιο 2. Αντιαμοπεταλιακά φάρμακα.....</u>	<u>11</u>
2.1 Αναστολείς της COX –1.....	11
2.2 Αναστολείς φωσφωδιεστερασών.....	13
2.3 Ανταγωνιστές των υποδοχέων P2Y12.....	14
2.4 Ανταγωνιστές του υποδοχέα GIIb -IIIa.....	16
2.5 Ανταγωνιστές PAR-1.....	16
<u>Κεφάλαιο 3. Αντιπηκτικά φάρμακα.....</u>	<u>18</u>
3.1 Κουμαρινικά.....	18
3.2 Ένεσιμα.....	20
3.3 Από του στόματος αντιπηκτικά (DOACS).....	22
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	28
<u>Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία.....</u>	<u>28</u>
4.1. Στόχος μελέτης.....	28
4.2. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού.....	28
4.3. Στρατηγική αναζήτησης.....	28
<u>Κεφάλαιο 5: Εργαστηριακή Διερεύνηση Αντιαμοπεταλιακής Αγωγής.....</u>	<u>29</u>
5.1. Light Transmission Aggregometry (LTA).....	29
5.2. VerifyNow (Accumetrics, San Diego, CA).....	32
5.3. Rotational thromboelastometry (ROTEM delta, Rotem platel), Thromboelastography.....	33
5.4 Platelet Function Analyzer-PFA100/ PFA200.....	38
5.5 Flow cytometric (VASP assay).....	39
5.6 Plateletworks analyzer.....	41
5.7 Impedance aggregometry [Multiple Electrode Aggregometry (MEA)].....	42
5.8. IMPACT:Cone and Plate(let) Analyzer - αναλυτής CPA.....	44
<u>Κεφάλαιο 6: Εργαστηριακή Διερεύνηση Αντιπηκτικής Αγωγής.....</u>	<u>46</u>
6.1 Χρόνος προθρομβίνης (PT).....	46
6.2 Ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT).....	47
6.3 Χρόνος θρομβίνης (TT).....	49
6.4 Αραιωμένος χρόνος θρομβίνης (dTT).....	50

6.5. Η χρωμογονική δοκιμασία εκαρίνης (ECA).....	50
6.6 Anti-Xa assay.....	51
Κεφάλαιο 7: Κλινική Εφαρμογή Αντιαιμοπεταλιακής Αγωγής.....	53
7.1 Μελέτη GRAVITAS(Gauging Responsiveness with a VerifyNow Assay-Impact on Thrombosis and Safety).....	54
7.2 Μελέτη TRIGGER-PCI (Testing platelet Reactivity In patients underGoing elective stentplacement ob clopidogrel to Guide alternative thErapy with pRasugrel).....	54
7.3 Μελέτη ARCTIC(Assessment by a Double Randomization of a Conventional Antiplatelet Strategy versus a Monitoring-guided Strategy gor Drug-Eluting Stent Implantation and of Treatment Interruption versus Continuation One year after Stentin.)	55
7.4 Μελέτη ANTARCTIC (Assessment of a Normal versus Tailored dose of prasugrel after stenting in patients Aged >75 years to Reduce the Composite of bleeding, stent Thrombosis, and Ischemic Complications).....	55
7.5 ISAR-ASPI (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen- Aspirin and Platelet Ihibition).....	56
7.6 Μελέτη EFFECIENT (The effect of hIgh dose ClopIdogrel treatmnet).....	57
7.7 ADAPT-DES (Assessment of Dual Antiplatelet Therapy With Drug Eluting Stents	57
7.8 Μελέτη TROPICAL-ACS (Testing Responsiveness To Platelet Inhibition On Chronic Antiplatelet Treatment For Acute Coronary Syndromes).....	57
7.9 Μελέτη SWITCH POBA (Predictor of Bleeding with Antiplatelet drugs).....	59
7.10 Μελέτη TARGET CABG (Ticagrel or Antiplatelet Therapy to Reduce Graft Events and Thrombosis).....	59
Κεφάλαιο 8: Κλινική Εφαρμογή Αντιπηκτικής αγωγή.....	61
8.1 Ασθενείς με ηπατική ανεπάρκεια.....	61
8.2 Ηλικιωμένοι ασθενείς.....	61
8.3 Ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις προγραμματισμένες ή έκτακτες.....	62
8.4 Ασθενείς με ακραίο βάρος.....	63
8.5 Ασθενείς με υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας.....	63
8.6 Ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια.....	63
8.7 Θρομβοεμβολικά και αιμορραγικά επεισόδια.....	64
8.8 Λάθη στη δοσολογία.....	64
8.9 Δόση Off-Label.....	64
8.10 Αλληλεπιδράσεις φαρμάκων.....	65
8.11 Έλεγχος συμμόρφωσης των ασθενών.....	65
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ.....	65
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	67

Πίνακας εικόνων

Εικόνα 1: Μοριακοί στόχοι των αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων	10
Εικόνα 2: Το ενδογενές και το εξωγενές μονοπάτι του καταρράκτη της πήξης	16
Εικόνα 3: VerifyNow	31
Εικόνα 4: Περιστρεφόμενη Θρομβοελαστογραφία	33
Εικόνα 5: Πίνακας Θρομβοελαστογραφίας	35
Εικόνα 6: Αυτόματος αναλυτής PFA-100/PFA 200	36
Εικόνα 7: Plateletworks Analyzer	39
Εικόνα 8: Multiple Elextrode Aggregometry	40
Εικόνα 9: Impact :Cone and Platelet Analyzer	41

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 Θρόμβωση

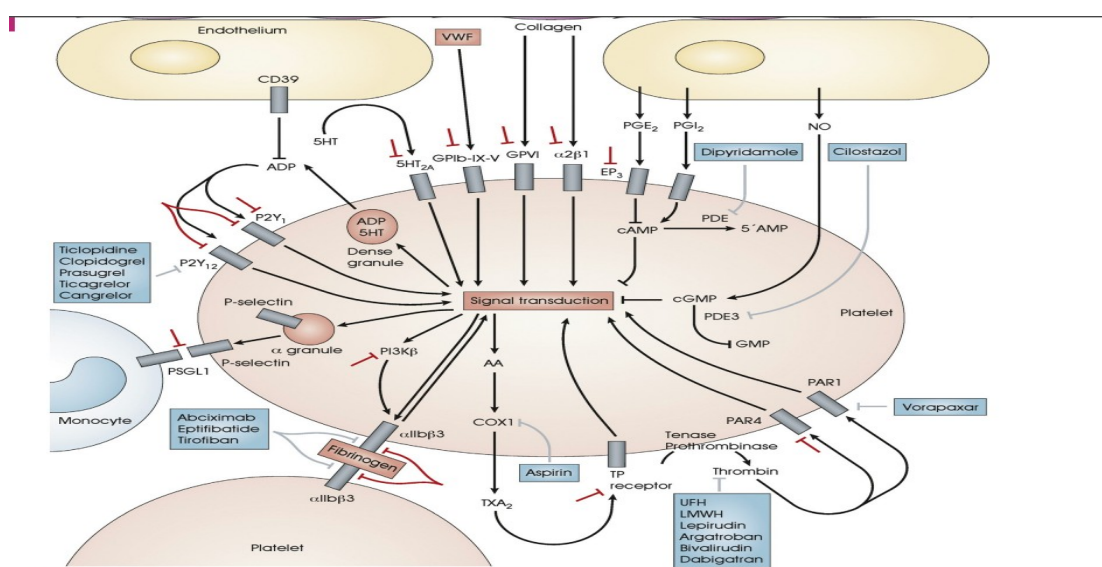
Η θρόμβωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος η οποία οφείλεται στη διαταραχή της τριάδας του Virchow. Η τριάδα του Virchow περιλαμβάνει τους εξής τρεις παράγοντες: α) βλάβη στα τοιχώματα του ενδοθηλίου, β) υπερπηκτική κατάσταση και γ) στάση αίματος φλεβική ή αρτηριακή. Η θρόμβωση θεωρείται ως η πιο συχνή αιτία θανάτου, με το μεγαλύτερο ποσοστό να συνδέεται με εγκεφαλικά επεισόδια και έμφραγμα του μυοκαρδίου¹.

1.2 Αντιθρομβωτική αγωγή

Η αντιθρομβωτική αγωγή αποτελείται από τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα, τα αντιπηκτικά και μια τρίτη κατηγορία φαρμάκων τα θρομβολυτικά. Η κάθε κατηγορία φαρμάκων έχει και διαφορετικό στόχο. Τα αντιπηκτικά στοχεύουν στην θρομβίνη στον καταρράκτη της πήξης και την αναστέλλουν. Χρησιμοποιούνται για τη πρόληψη και θεραπεία κυρίως φλεβικών θρομβώσεων. Από την άλλη τα αντιαιμοπεταλιακά στοχεύουν στην αναστολή των αιμοπεταλίων και χρησιμοποιούνται κυρίως για τη θεραπεία αρτηριακών θρομβώσεων. Ενώ τα θρομβολυτικά είναι αυτά που λύνουν το θρόμβο μετά το σχηματισμό του².

Κεφάλαιο 2. Αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα

Τα αιμοπετάλια συμβάλουν τόσο στη φυσιολογική αιμόσταση όσο και στο σχηματισμό των θρόμβων. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία αρτηριακών ισχαιμικών και εγκεφαλικών επεισοδίων. Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα έχουν ως στόχο τη πρόληψη τέτοιων επεισοδίων³. Οι μοριακοί στόχοι αυτών των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων παρουσιάζονται στην εικόνα 1. Το κατ' εξοχήν αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο είναι η ασπιρίνη, ωστόσο οι μελέτες οδήγησαν στη δημιουργία νέων και ισχυρότερων φαρμάκων τα οποία αναλύονται παρακάτω. Τα αιμοπετάλια είναι τα πιο μικρά κύτταρα του αίματος. Κυκλοφορούν στον οργανισμό με δισκοειδή μορφή. Σε περίπτωση βλάβης του ενδοθηλίου τα αιμοπετάλια προσκολλώνται σε αυτό. Η προσκόλληση επιτυγχάνεται με τη δέσμευση του κολλαγόνου στην γλυκοπρωτεΐνη των αιμοπεταλίων (GP)VI και την ιντεγκρίνη $\alpha_2\beta_1$ καθώς και στη δέσμευση του παράγοντα von Willebrand (VWF) στο σύμπλεγμα GPIb-IX-V. Στη συνέχεια ενεργοποιείται ο καταρράκτης πήξης και η θρομβίνη ενεργοποιεί περισσότερα αιμοπετάλια μέσω των υποδοχέων της πρωτεάσης (PAR-1 και PAR-4). Επιπλέον τα αιμοπετάλια ενεργοποιούνται από τους υποδοχείς ADP των P2Y1 και P2Y12, τους υποδοχείς σεροτονίνης 5-HT_{2A}, από τον προστανοειδή υποδοχέα και τον υποδοχέα θρομβοξανθίνης. Η θρομβοξανθίνη A₂ προέρχεται από την οδό της κυκλοοξυγενάσης, και το ADP και η σεροτονίνη από τα αιμοπετάλια. Η συσσώρευση επιτυγχάνεται από τη σύνδεση του VWF και του ινωδογόνου στην ενεργοποιημένη μοριακή διαμόρφωση της ιντεγκρίνης $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa)⁴.



Εικόνα 1: Μοριακοί στόχοι των αντιαιμοπεταλιακών παραγόντων⁴

2.1 Αναστολείς της COX –1

2.1.1 Ακετυλοσαλικυλικό οξύ (Ασπιρίνη)

Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ το οποίο είναι διαθέσιμο με την εμπορική ονομασία ασπιρίνη, είναι από τα πρώτα αντιαιμοπεταλικά φάρμακα, από του στόματος, που ανακαλύφθηκαν. Η ασπιρίνη δρα αναστέλλοντας το ένζυμο της κυκλοοξυγενάσης (COX-1) μη αναστρέψιμα. Η COX-1 δρα μεταβολίζοντας το αραχιδονικό οξύ σε προσταγλανδίνες. Αν ο μεταβολισμός λάβει μέρος στα αιμοπετάλια έχουμε τη παραγωγή της θρομβοξανής A2 (TxA2) μέσω της συνθετάσης TxA2. Η A2 προκαλεί συσώρευση των αιμοπεταλίων και αγγειοσύσπαση. Αν τώρα ο μεταβολισμός γίνει στον ενδοθήλιο έχουμε την παραγωγή της προστακυκλίνης (PGI2) μέσω της συνθετάσης PGI2. Η PGI2 προκαλεί αναστολή της συσώρευσης των αιμοπεταλίων και αγγειοδιαστολή⁵. Επιπλέον η ασπιρίνη δρα αναστέλλοντας και την COX-2 ένα ένζυμο το οποίο σχετίζεται με φλεγμονώδεις καταστάσεις⁶.

Η θεραπευτική δόση της ασπιρίνης είναι 150mg με 300mg τα υψηλότερα επίπεδα μπορούν να θεωρηθούν τοξικά⁶. Η ασπιρίνη απορροφάται από το στομάχι. Φτάνει στο peak της δράσης της 30 με 40 λεπτά από τη λήψη. Ενώ σε περίπτωση εντερικής χορήγησης χρειάζεται 3 με 4 ώρες για να έχει τα μέγιστα αποτελέσματα⁷. Για τη μείωση των επιπέδων της ασπιρίνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί ενεργός άνθρακας, σε λιγότερο όμως από 4 ώρες από τη στιγμή της λήψης⁵. Μια από τις πιο συνηθισμένες παρενέργειες της ασπιρίνης είναι η γαστρεντερική αιμορραγία⁸.

Τα επίπεδα δόσης της ασπιρίνης για την αντιαιμοπεταλιακή αγωγή κυμαίνονται 75 mg έως 100 mg ημερησίως, καθώς η παραπάνω δόση από αυτή όχι μόνο δεν έχει όφελος αλλά μπορεί να προκαλέσει και σοβαρές αιμορραγίες. Η ασπιρίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως μονοθεραπεία αλλά και σε συνδυασμό με την κλοπιδογρέλη, για να πετύχουν τη βέλτιστη αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία. Όσον αφορά τη πρωτογενή πρόληψη, ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει στην πρόληψη καρδιαγγειακών παθήσεων που μειώνεται η θνησιμότητα σε άτομα που έχουν λάβει πάνω από 10 χρόνια ασπιρίνη. Για τη δευτερογενή πρόληψη οι κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν πως οι ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ACS) θα πρέπει να λαμβάνουν τη χαμηλή δόση της ασπιρίνης 75 mg ημερησίως. Επίσης για ασθενείς με ACS και ανάσπαση ST που έχουν υποβληθεί σε αγγειοπλαστική (PCI) θα πρέπει να λαμβάνουν διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή ασπιρίνης σε συνδυασμό με P2Y12, συνήθως κλοπιδογρέλη³.

2.1.2 Τριφλουζάλη

Η τριφλουζάλη (2-ακετοξοξυ-4-τριφθορομεθυλοβενζοϊκό οξύ) είναι ένας αντιαιμοπεταλιακός παράγοντας που είναι παρόμοιος χημικά με την ασπιρίνη, αν και έχει διαφορετικές φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες⁹. Η τριφλουζάλη αποκετυλιώνεται και μετατρέπεται σε ενεργό μεταβολίτη 2-υδροξυ-4-τριφθορομεθυλοβενζοϊκό οξύ (HTB)¹⁰. Αυξάνει τα επίπεδα του μονοξειδίου του αζώτου καθώς και την παραγωγή των κυκλικών νουκλεοτιδίων στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν την παρόμοια αποτελεσματικότητα της ασπιρίνης με την τριφλουζάλη σε ασθενείς με ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο ή έμφραγμα του μυοκαρδίου⁹.

2.2 Αναστολείς φωσφοδιεστερασών

2.2.1. Διπυριδαμόλη

Η διπυριδαμόλη είναι παράγωγο της πυριμιδοπυριμιδίνης. Είναι ένας αντιαιμοπεταλιακός παράγοντας με αγγειοδιασταλτικές ιδιότητες⁷. Δρα αναστέλλοντας τη φωσφοδιεστεράση και την αδενοσίνη. Η λειτουργία της φωσφοδιεστεράσης συνίσταται στο να μετατρέπει την κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP) και κυκλική μονοφωσφορική γουανίνη (cGMP) στο μη κυκλικό τους ισοδύναμο. Τα αυξημένα επίπεδα των cAMP και cGMP δρουν αναστέλλοντας τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και τη θρόμβωση¹¹.

Η δόση της διπυριδαμόλης είναι 75 mg με 100 mg. Ο χρόνος ημερήσιας ζωής της φτάνει τις 10 με 12 ώρες, ενώ η έναρξη της γίνεται στα πρώτα 24 λεπτά. Μεταβολίζεται στο ήπαρ και απεκκρίνεται από τη χολή^{11,7}. Από τις πιο συχνές παρενέργειες είναι ο πόνος στο στήθος, κεφαλαλγία και ζάλη¹¹. Τυχαιοποιημένες μελέτες έδειξαν πως η διπυριδαμόλη σε συνδυασμό με την ασπιρίνη, μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης εγκεφαλικών επεισοδίων. Μεταanalύσεις έδειξαν το σημαντικό ρόλο που μπορεί να έχει σε αντικατάσταση μηχανικής βαλβίδας σε συνδυασμό με βαρφαρίνη μειώνοντας τον κίνδυνο θρομβοεμβολικών επεισοδίων¹¹.

2.2.2. Σιλοσταζόλη

Η σιλοσταζόλη δρα αναστέλλοντας την φωσφοδιεστεράση III (PDE3). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να μην αποδομείται η cAMP. Τα υψηλά της επίπεδα οδηγούν σε αύξηση της πρωτεϊνικής κινάσης A(PKA), η οποία με τη σειρά της σχετίζεται με την αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Η υψηλή συγκέντρωση της PKA προκαλεί αγγειοδιασταλτική επίδραση στα κύτταρα των λείων μυών¹².

Η δόση της είναι 50 mg με 100 mg. Ο χρόνος ημερήσιας ζωής της είναι 11 ώρες⁷. Η χορήγησή της είναι απαραίτητο να γίνεται μετά από τη λήψη φαγητού καθώς αυξάνεται η απορρόφηση της έως και 90%. Μεταβολίζεται στο ήπαρ και συγκεκριμένα από τα ένζυμα του κυτοχρώματος P450 (CYP3A4 και λιγότερο από το CYP2C19). Απεκκρίνεται από τους νεφρούς. Οι πιο συχνά αναφερόμενες επιπλοκές είναι το αίσθημα παλμών, ο πονοκέφαλος και η διάρροια. Έχει εγκριθεί για τη θεραπεία της διαλείπουσας χολότητας επιπλέον από το βασικό τους αντιαμιοπεταλιακό¹².

2.3 Ανταγωνιστές των υποδοχέων P2Y₁₂

2.3.1 Κλοπιδογρέλη

Η κλοπιδογρέλη ανήκει στη κατηγορία των θειενοπυριδινών. Αναστέλλει τη διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) μη αναστρέψιμα. Η κλοπιδογρέλη υφίσταται διπλό μεταβολισμό στο ήπαρ από τα ένζυμα CYP2C19 και CYP3A4 και μετατρέπεται σε ενεργό φάρμακο. Τα αλληλόμορφα του ενζύμου CYP2C19 σχετίζονται με την απόκριση της κλοπιδογρέλης. Αυτό σημαίνει ότι τα άτομα τα οποία εμφανίζουν απώλεια του ενός ή και των δύο αλληλόμορφων δεν μπορούν να μεταβολίζουν την κλοπιδογρέλη, επομένως δεν επιτυγχάνεται στο μέγιστο η αντιαμιοπεταλιακή δράση της κλοπιδογρέλης.

Η δόση φόρτισης είναι 300 mg με 600 mg και ακολούθως 75 mg ημερησίως. Δεν απαιτείται αναπροσαρμογή της δόσης σε νεφρική και ηπατική δυσλειτουργία. Η συχνότερη ανεπιθύμητη παρενέργεια είναι η αιμορραγία. Η κλοπιδογρέλη συστήνεται να χορηγείται σε περιπτώσεις επαναγγείωσης, συμπτωματική στένωση των καρωτίδων, αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, έμφραγμα του μυοκαρδίου (NSTEMI) και σε ασθενείς με περιφερική αρτηριακή νόσο¹³.

2.3.2 Πρασουγρέλη

Η πρασουγρέλη ανήκει και αυτή στη κατηγορία των θειενοπυριδινών και είναι ένας μη αναστρέψιμος αναστολέας της ADP. Ο μηχανισμός δράσης της είναι παρόμοιος με της κλοπιδογρέλης, με τη διαφορά ότι υφίσταται μόνο ένα στάδιο μεταβολισμού στο ήπαρ πριν γίνει ενεργό φάρμακο από το CYP2B6 και CYP3A4 υπόστρωμα.

Η δόση φόρτισης είναι 60 mg μετά τη διάγνωση ACS και ακολούθως 5 mg για άτομα με σωματικό βάρος <60kg ενώ 10 mg για άτομα άνω των 60 kg. Η απορρόφησης της γίνεται με

πολύ γρήγορο ρυθμό και μέσα σε 30 λεπτά μπορεί να πετύχει την κατάλληλη αντιαιμοπεταλιακή δράση¹⁴.

Ο χρόνος ημερήσιας ζωής είναι περίπου 4 ώρες και η απέκκριση γίνεται από τα νεφρά⁷. Δεν απαιτούνται αναπροσαρμογές της δόσης με βάση τη νεφρική και ηπατική λειτουργία. Η πρασουγρέλη έχει μεγαλύτερο κίνδυνο αιμορραγίας από την κλοπιδογρέλη αλλά μειωμένη θνησιμότητα. Οι κατευθυντήριες οδηγίες συστήνουν διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή με πρασουγρέλη σε ασθενείς με ACS για 6 με 12 μήνες, ανάλογα με τον αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας και ισχαιμίας τους.¹⁴

2.3.3 Τικαγκρελόρη

Η τικαγκρελόρη δεν ανήκει στη κατηγορία των θειενοπυριδινών, είναι αναστρέψιμος αναστολέας της ADP. Δεν απαιτεί μεταβολική ενεργοποίηση όπως η κλοπιδογρέλη και η πρασουγρέλη.

Η δόση χορήγησης είναι 90 mg και συγχορηγείται με ασπιρίνη. Οι σημαντικότερες παρενέργειες είναι η δύσπνοια, η βραδυκαρδία και η αιμορραγία. Μελέτες έχουν δείξει καλή αποτελεσματικότητα της τικαγκρελόρης σε οξεία στεφανιαία επεισόδια.¹⁵

2.3.4 Καγκρελόρη

Η καγκρελόρη είναι ένας αναστρέψιμος αναστολέας του υποδοχέα ADP. Όπως και οι υπόλοιποι ανταγωνιστές P2Y₁₂ έτσι και η καγκρελόρη μεταβολίζεται στο ήπαρ μέσω του ενζύμου CYP3A4.

Είναι φάρμακο το οποίο χορηγείται μόνο ενδοφλεβίως. Η έναρξη δράσης του είναι γρήγορη και ο χρόνος ημερήσιας ζωής πολύ σύντομος¹⁶.

Η καγκρελόρη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως bridging σε ασθενείς οι οποίοι θα υποβληθούν σε καρδιοχειρουργική επέμβαση¹⁷.

2.4 Ανταγωνιστές του υποδοχέα GIIb -IIIa

Οι ανταγωνιστές του υποδοχέα GIIb -IIIa είναι τρεις το Abciximab, το Eptifibatide και το Tirofiban. Η δράση τους αποσκοπεί στη δέσμευση του ινωδογόνου, της θρομβίνης και του von Willebrand, που προάγουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η χορήγησή τους γίνεται μόνο ενδοφλέβια (IV). Ο χρόνος έναρξης της δράσης τους είναι γρήγορος. Ο χρόνος ημερήσιας ζωής για το Abciximab είναι 10 με 30 λεπτά. Για το Tirofiban είναι 2 ώρες και για

το Ertifibatide 2,5 ώρες. Τα δύο τελευταία φάρμακα απεκκρίνονται από τα νεφρά, οπότε σε περίπτωση νεφρικής ανεπάρκειας απαιτείται αναπροσαρμογή της δόσης. Τέλος, μελέτες έδειξαν την αποτελεσματικότητα των ανταγωνιστών του υποδοχέα GIIb-IIIa σε ACS και PCI¹⁸.

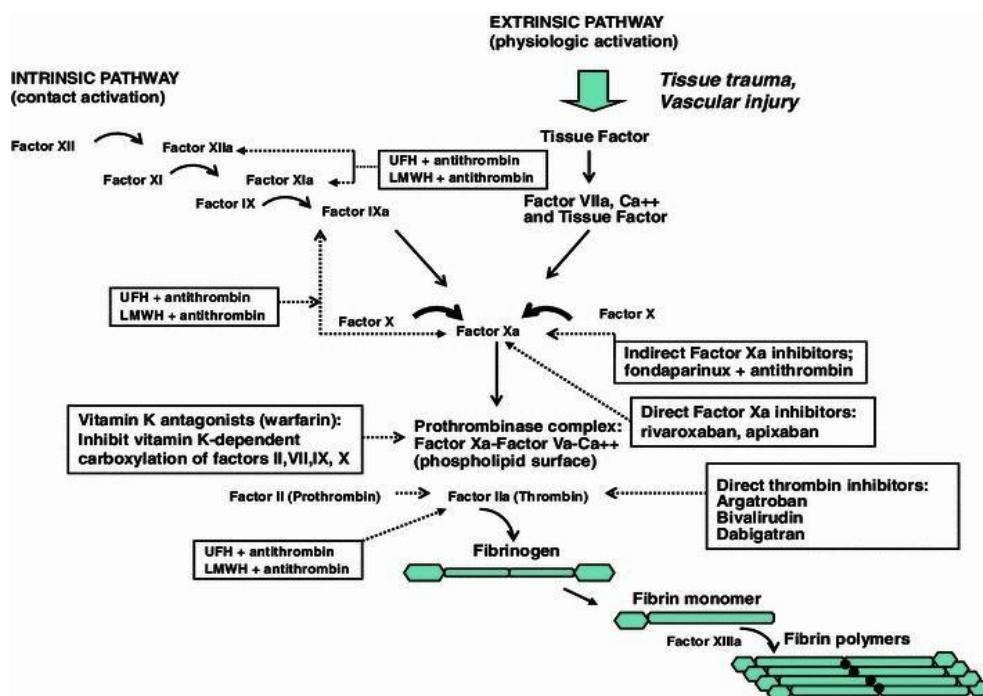
2.5 Ανταγωνιστές PAR-1

Οι ανταγωνιστές ενεργοποιημένου υποδοχέα πρωτεάσης-1 (PAR-1) είναι σχετικά μια καινούρια κατηγορία αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων που περιλαμβάνει το Vorapaxar και το Atopaxar. Οι ανταγωνιστές PAR-1 αναστέλλουν τους υποδοχείς της θρομβίνης, χωρίς όμως να επηρεάζουν άλλες λειτουργίες του καταρράκτη της πήξης. Το μονοπάτι αυτό φαίνεται ότι είναι ισχυρότερο σε σύγκριση με εκείνων της ASP και των ανταγωνιστών του υποδοχέα P2Y₁₂.

Η χορήγηση φαρμάκου γίνεται από το στόμα. Μεταβολίζεται στο ήπαρ και έχει μεγάλο χρόνο ημερήσιας ζωής. Από τις σοβαρότερες ανεπιθύμητες παρενέργειες είναι η αιμορραγία. Για το Vorapaxar υπάρχουν δεδομένα από κλινικές δοκιμές μέχρι τη φάση III, οι οποίες δηλώνουν την αποτελεσματικότητα του στην μείωση θρομβωτικών καρδιαγγειακών επεισοδίων σε ασθενείς με ιστορικό έμφραγμα του μυοκαρδίου ή περιφερική αρτηριακή νόσο¹⁸.

Κεφάλαιο 3. Αντιπηκτικά φάρμακα

Τα αντιπηκτικά φάρμακα είναι ο ακρογωνιαίος λίθος τόσο για τη θεραπεία αλλά και τη πρόληψη της θρόμβωσης. Τα κουμαρινικά, οι ηπαρίνες χαμηλού μοριακού βάρους, η μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη και το fondaparinux ήταν από τα πρώτα τα οποία έχουν μελετηθεί εκτενώς για την φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική τους δράσης. Ωστόσο, οι μελέτες οδήγησαν στην ανακάλυψη νέων αντιπηκτικών από του στόματος τα λεγόμενα DOAS που φαίνεται ότι θα αντικαταστήσουν τα παλαιότερα. Η παθοφυσιολογία όλων των αντιπηκτικών στηρίζεται στον καταρράκτη της πήξης. Καθένα από τα αντιπηκτικά αναστέλλει και ένα διαφορετικό μονοπάτι¹⁹(Εικ.2).



Εικόνα 2: Το ενδογενές και εξωγενές μονοπάτι του καταρράκτη της πήξης

3.1 Κουμαρινικά

Στην κατηγορία των κουμαρινικών φαρμάκων ή αλλιώς ανταγωνιστών της βιταμίνης K (VKA) συμπεριλαμβάνονται η βαρφαρίνη, η ασενοκουμαρόλη και η φαινπροκουμόνη. Από τα πιο χρησιμοποιούμενα είναι η βαρφαρίνη. Η βιταμίνη K οξειδώνεται και γίνεται το εποξείδιο της βιταμίνης K. Στη διάρκεια αυτής της φάσης γίνεται η καρβοξυλίωση των παραγόντων II, VII, IX και X, καθώς επίσης και των αντιπηκτικών πρωτεϊνών C, S. Αυτοί οι παράγοντες αρχικά είναι ανενεργοί και μετά την προσθήκη της καρβοξυλομάδας

ενεργοποιούνται. Από το εποξείδιο της βιταμίνης K θα ξεκινήσει ο κύκλος για τη δημιουργία βιταμίνης K. Τα κουμαρινικά δρουν στο ένζυμο της αναγωγάσης του υποξειδίου της βιταμίνης K (VKOR). Με αυτόν τον τρόπο διακόπτεται ο μεταβολισμός της βιταμίνης και δεν μπορούν να καρβοξυλιωθούν οι παράγοντες που είναι απαραίτητοι για τον πηκτικό μηχανισμό.

Η δόση της βαρφαρίνης ποικίλει ανάλογα με τον ασθενή, καθώς επηρεάζεται από γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως τις αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα και την διατροφή. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να επηρεάζεται η απορρόφηση και ο μεταβολισμός της ¹⁹. Η θεραπεία της βαρφαρίνης απαιτεί και τη χορήγηση ηπαρίνης καθώς υπάρχει καθυστέρηση στην έναρξη της αντιπηκτικής της δράσης. Ο μεταβολισμός γίνεται στο ήπαρ από το κυτόχρωμα P450. Η απορρόφησή της είναι γρήγορη και φτάνει τα ανώτερα επίπεδα μέσα σε 90 λεπτά. Ο χρόνος ημερήσιας ζωής είναι 36 με 42 ώρες²⁰.

Η ρύθμιση της δόσης της βαρφαρίνης αλλά και των υπολοίπων κουμαρινικών γίνεται από έναν δείκτη ο οποίος στηρίζεται στο χρόνο προθρομβίνης, το INR. Σε ασθενείς που λαμβάνουν βαρφαρίνη για φλεβική θρομβοεμβολική νόσο (ΦΘΕ), για κολπική μαρμαρυγή, μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου και σε βιοπροσθετική βαλβίδα στη μιτροειδή, το INR θα πρέπει να κυμαίνεται από 2,0–3,0 με στόχο 2,5. Στη μηχανική βαλβίδα της μιτροειδής θα πρέπει να κυμαίνεται από INR: 2,5–3,5 με στόχο 3,0¹⁹

Μία από τις πιο σοβαρές παρενέργειες που μπορεί να προκαλέσει η χορήγηση της βαρφαρίνης είναι η αιμορραγία. Σε περιπτώσεις όπου η αιμορραγία είναι επικίνδυνη για τη ζωή, χορηγούνται οι εξής παράγοντες αναστροφής:

- 1) Ενδοφλέβια βιταμίνη K10mg.
- 2) Συμπύκνωμα προθρομβινικών συμπλεγμάτων 4 factor PCCs με βιταμίνη K
- 3) Διερευνάται η χορήγηση τρανεξαμικού οξέος ¹⁹
- 4) Ενεργός άνθρακας εντός μια ώρας από τη λήψη του φαρμάκου και μόνο αν ο ασθενής έχει τις αισθήσεις του²¹.

Άλλες μη αιμορραγικές παρενέργειες είναι η γάγγραινα των άκρων και η οξεία νέκρωση του δέρματος, που παρατηρούνται εντός μιας εβδομάδας από την έναρξη της θεραπείας¹⁹.

3.2 Ένεσιμα

3.2.1 Ηπαρίνες

Η μη κλασματοποιημένη ηπαρίνη (UFH) και η ηπαρίνη χαμηλού μοριακού βάρους (LMWH) συμπεριλαμβάνονται στα ενέσιμα αντιπηκτικά. Οι ηπαρίνες αποτελούνται από γλυκοζαμινογλυκάνες, οι οποίες περιέχουν επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες πεντασακχαριτών και δισακχαριτών. Η UFH συνδέεται με την αντιθρομβίνη μέσω του ενεργού πεντασακχαρίτη και σχηματίζεται ένα σύμπλεγμα αντιθρομβίνης και ηπαρίνης. Η θρομβίνη προσκολλάται σε αυτό το σύμπλεγμα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα η ηπαρίνη να απομακρύνεται από το σύμπλεγμα και η θρομβίνη, η οποία είναι συνδεδεμένη με την αντιθρομβίνη, να καθίσταται ανενεργή. Με αυτή τη διαδικασία επιτυγχάνεται αναστολή των παραγόντων πήξης II, X, IX, XI και XII. Στη LMWH δεν συνδέεται η θρομβίνη στο σύμπλεγμα ηπαρίνης-αντιθρομβίνης αλλά ο παράγοντας Xa¹⁹. Το μοριακό βάρος των ηπαρινών ποικίλει. Στη LMWH είναι από 3000 έως 5000 Da ενώ στη UFH από 5000 έως 35.000. Αυτή η διαφορά μεγέθους έχει σημαντικό ρόλο στην αντιπηκτική τους δράση²⁰.

Η LMWH χορηγείται υποδόρια. Η δόση της για την αντιπηκτική αγωγή διαμορφώνεται ανάλογα με το σωματικό βάρος του ασθενούς. Έχει αυξημένη βιοδιαθεσιμότητα και ο χρόνος ημερήσιας ζωής είναι 17 με 21 ώρες. Είναι σχεδόν 3 με 4 φορές μεγαλύτερος από την UFH. Αποβάλλεται από τα νεφρά. Ο εργαστηριακός έλεγχος για τη παρακολούθηση της LMWH δεν είναι αναγκαίος να γίνεται. Συστήνεται σε ασθενείς που δεν συμμορφώνονται με την θεραπεία, σε εγκυμονούσες, σε παχύσαρκα άτομα και σε άτομα με νεφρική ανεπάρκεια. Η παρακολούθηση γίνεται με το παράγοντα anti Xa 4 ώρες μετά τη χορήγηση της χαμηλού μοριακού βάρους ηπαρίνης. Χρησιμοποιείται κυρίως για θεραπεία της ΦΘΕ, σε μετεγχειρητικούς ασθενείς για τη πρόληψη ΦΘΕ, σε εγκυμονούσες, στο ACS, σε γεφύρωση και σε ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή. Επίσης έχει συσχετιστεί και με μείωση κινδύνου για την εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (DVT). Η αιμορραγία είναι μια από τις συνηθισμένες παρενέργειες. Σε περιπτώσεις που μπορεί να αποβεί μοιραία για τον ασθενή, χορηγείται η πρωταμίνη σαν αντίδοτο αν και δεν πετυχαίνει πλήρη αναστροφή LMWH. Άλλες, όχι τόσες συχνές παρενέργειες, είναι η θρομβοπενία λόγω ηπαρίνης (HIT) και η οστεοπόρωση²⁰.

Η UFH μπορεί να χορηγηθεί ενδοφλέβια ή υποδορίως, προτιμάται όμως η ενδοφλέβια. Έχει μικρό χρόνο ημερήσιας ζωής. Ο εργαστηριακός έλεγχος είναι αναγκαίος και επιτυγχάνεται με την μέτρηση του χρόνου μερικής θρομβοπλαστικής (APTT). Η κλινική χρήση της UFH είναι παρόμοια με αυτή της LMWH²⁰. Μελέτες είναι σε εξέλιξη για την

αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της χορήγησής της σε ασθενείς με COVID-19²². Η χρήση της UFH έχει μειωθεί, καθώς αντικαθίσταται από την LMWH. Η μείζων αιμορραγία είναι μια από τις παρενέργειες του φαρμάκου, η οποία μπορεί να αντιστραφεί με τη πρωταμίνη όταν είναι απαραίτητο. Το HIT και η οστεοπόρωση εμφανίζονται συχνότερα σε σχέση με τη χορήγηση της UFH από ότι με τη LMWH¹⁹.

3.2.2 Fondaparinux

Το Fondaparinux είναι ένας πεντασακχαρίτης ο οποίος συνδέεται με θέσεις υψηλής συγγένειας με την αντιθρομβίνη και αναστέλλει τον παράγοντα Χα, με αποτέλεσμα να μην σχηματίζεται η θρομβίνη²³.

Η απορρόφησή του Fondaparinux από τον οργανισμό είναι γρήγορη και ο χρόνος της ημερήσιας ζωής του είναι 17 με 21 ώρες. Απεκκρίνεται από τα νεφρά. Δεν συνιστάται να χορηγείται σε άτομα με κάθαρση κρεατινίνης (CrCl) μικρότερη των 30 ml/min.

Χρησιμοποιείται για την θεραπεία την πνευμονικής εμβολής (PE) και της DVT καθώς μελέτες έχουν δείξει ότι έχει την ίδια ασφάλεια με της ηπαρίνες. Επίσης, έχει πολύ καλά αποτελέσματα σε χειρουργημένους ασθενείς που το λαμβάνουν ως θρομβοπροφύλαξη. Ενώ δεν πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς με VTE κάτω των 50 kg. Τέλος ενώ έχουν γίνει αρκετές μελέτες για την κλινική χρησιμότητα του ACS, ο Εθνικός Οργανισμός Φαρμάκων και Τροφών (FDA) δεν έχει δώσει έγκριση για τη χορήγησή του¹⁹.

Στις ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνονται η αιμορραγία και η θρομβοπενία, ωστόσο είναι λιγότερο συχνές σε σύγκριση με την ηπαρίνη. Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες μπορεί να η αναιμία, η υποκαλιαιμία, η αϋπνία, η σύγχυση, η ζάλη, η υπόταση, το εξάνθημα και η πορφύρα. Σπάνιες αλλά δυνητικά σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνουν σοβαρά αιμορραγικά επεισόδια, συμπεριλαμβανομένων αιματωμάτων σπονδυλικής στήλης ή επισκληριδίου²³.

3.3.3 Άμεσοι αναστολείς της θρομβίνης (DTI).

Στους άμεσους αναστολείς της θρομβίνης που χορηγούνται ενδοφλεβίως συμπεριλαμβάνονται η Hirudin, η Bivalirudin και το Argatroban. Η αντιθρομβωτική δράση των παραπάνω φαρμάκων ασκείται μέσω της αναστρέψιμης δέσμευσης της θρομβίνης, χωρίς την παρουσία της αντιθρομβίνης.

Το Bivalirudin είναι ένα πολυπεπτίδιο ανάλογο της Hirudin. Έχει το μικρότερο χρόνο ημίσειας ζωής από τα άλλα δύο ο οποίος κυμαίνεται στα 10 με 24 λεπτά. Η κύρια οδός απέκκρισής της είναι ενζυματική, ενώ ένα 20% αποβάλλεται από τα νεφρά. Απαιτεί εργαστηριακή παρακολούθηση με aPTT, ACT και ECT. Χρησιμοποιείται για θεραπεία ή προφύλαξη από το HIT, σε ασθενείς που έχουν κάνει PCI και σε ασθενείς με ACS. Η πιο κοινή επιπλοκή είναι η αιμορραγία, δεν υπάρχει κάποιο αντίδοτο, πιθανόν κατάλληλο σε περιπτώσεις απειλητικές για τη ζωή να είναι ο ανασυνδυασμένος παράγοντας VIIa (rFVIIa) .

Το Argatroban έχει προέλθει από ένα αμινοξύ την αργινίνη. Έχει χρόνο ημερήσιας ζωής 39 με 51 λεπτά. Απεκκρίνεται από το ήπαρ. Και αυτό θα πρέπει να ελέγχεται μέσω εργαστηριακών μεθόδων, aPTT, και ECT. Έχει την ίδια κλινική χρησιμότητα με το Bivalirudin με τη διαφορά ότι δεν χρησιμοποιείται σε ασθενείς με ACS¹⁹.

3.3 Από του στόματος αντιπηκτικά (DOACS)

Στην κατηγορία από του στόματος αντιπηκτικά (DOACS) ανήκουν το dabigatran, το rivaroxaban, το apixaban και το edoxaban. Τα DOACS παρέχουν σημαντικά πλεονεκτήματα σε σχέση με τα πρωτοεμφανιζόμενα αντιπηκτικά (βαρφαρίνη). Ένα από τα σημαντικότερα είναι ότι δεν είναι αναγκαία η παρακολούθηση της αντιπηκτικής αγωγής τακτικά, λόγω των φαρμακοκινητικών και φαρμακοδυναμικών ιδιοτήτων των DOACS. Ο έλεγχος παρακολούθησης κυμαίνεται στους 1 με 3 μήνες στην αρχή της έναρξης και μετά κάθε 6 μήνες, ανάλογα βέβαια με τα χαρακτηριστικά του κάθε ασθενούς όπως η ηλικία, η νεφρική και ηπατική λειτουργία του. Ωστόσο, λόγω του μικρού χρόνου ημερήσιας ζωής και στην έλλειψη αντιδότην (εκτός του dabigatran), απαιτείται αυστηρότερη συμμόρφωση των ασθενών²⁴. Τα DOACS έχουν δείξει ένα δυναμικό προφίλ για τη θεραπεία και πρόληψη της κοιλιακής μαρμαρυγής, του εγκεφαλικού επεισοδίου, της VTE και του εμφράγματος του μυοκαρδίου^{24,19}. Επίσης η χορήγηση τους μπορεί να είναι και μια εναλλακτική για θρομβοπροφύλαξη σε άτομα με Covid-19²⁵.

3.3.1 Dabigatran etexilate

Το Dabigatran ήταν το πρώτο DOAC που εγκρίθηκε από το FDA το 2010 για τη πρόληψη της κοιλιακής μαρμαρυγής και του εγκεφαλικού επεισοδίου. Ανήκει στη κατηγορία των άμεσων αναστολέων της θρομβίνης²⁶. Το dabigatran λαμβάνεται ως προφάρμακο και μετατρέπεται σε φάρμακο μέσω των εστέρων. Η βιοδιαθεσιμότητα του αγγίζει το 6,5%, ο

χρόνος ημερήσιας ζωής του είναι 12 με 17 ώρες, ενώ φτάνει στις μέγιστες συγκεντρώσεις στον οργανισμό στις πρώτες 2 με 3 ώρες. Το 80% αποβάλλεται από τα νεφρά. Το υπόστρωμα του είναι οι P- γλυκοπρωτεΐνες. Οι αναστολείς της P- γλυκοπρωτεΐνης οδηγούν στην αύξηση του dabigatran στο πλάσμα. Η ταυτόχρονη λήψη αυτών των αναστολέων δεν συνίσταται²⁷. Το dabigatran λαμβάνεται από το στόμα και οι συνήθεις δόσεις του είναι 110 mg και 150 mg. Σε ασθενείς με CrCl > 30 mg/dL συστήνεται η δόση των 150mg, σε CrCl 15-30 mg / dL 75 mg δύο φορές την ημέρα ενώ η δόση μειώνεται στα 110 mg στις εξής περιπτώσεις : 1) ασθενείς με ηλικία > 80, 2) ταυτόχρονη λήψη verapamil και 3) σε ασθενείς με υψηλό αιμορραγικό. Σε ασθενείς με CrCl < 30 mg/dL δεν προτείνεται η χορήγηση του φαρμάκου. ²⁶.

Το dabigatran έχει μελετηθεί σε ένα πολύ μεγάλο φάσμα κλινικών μελετών. Στη RE-NOVATE στη φάση III της μελέτης που συμμετείχαν ασθενείς με ολική αρθροπλαστική ισχίου συγκρίθηκε το dabigatran 150 mg ή 220 mg με την enoxaparin 40 mg. Η μελέτη έδειξε πως το dabigatran είχε την ίδια αποτελεσματικότητα με την enoxaparin. Τα ίδια αποτελέσματα είχαν και στη φάση II στην οποία εξετάζεται η VTE. Στη μελέτη RE-MODEL που συμμετείχαν ασθενείς με ολική αρθροπλαστική γόνατος συγκρίθηκε το dabigatran 150 mg ή 220mg με την enoxaparin 40 mg. Και εδώ το dabigatran ήταν μη κατώτερο από την enoxaparin. Η μελέτη RE-LY οδήγησε στην έγκριση του dabigatran από το FDA για τη πρόληψη εγκεφαλικού επεισοδίου σε ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή²⁷. Σε αυτή τη μελέτη συγκρίθηκε το dabigatran 110 mg ή 150 mg 2 φορές ημερησίως με την βαρφαρίνη σε ασθενείς με μη βαλβιδική AF και έναν ακόμα παράγοντα κινδύνου. Τα αποτελέσματα έδειξαν μη κατωτερότητα του dabigatran και στις 2 δόσεις του. Άλλες μελέτες όπως η RE-COVER, RE-MEDY και RE-SONATE αξιολόγησαν το dabigatran για τη δευτερογενή πρόληψη της φλεβικής θρομβοεμβολής (ΦΘΕ). Στη RE-COVER συμμετείχαν ασθενείς με οξεία φλεβική θρομβοεμβολή, οι οποίοι έλαβαν dabigatran 150mg δύο φορές ημερησίως έναντι βαρφαρίνης σε προσαρμοσμένη δόση. Δεν έδειξε σημαντική διαφορά σε ό,τι αφορά τις αιμορραγίες και το πρωτεύον καταληκτικό σημείο που ήταν οι υποτροπές της φλεβικής θρομβοεμβολής. Τέλος στη μελέτη RE-DEEM που συμμετείχαν ασθενείς με ACS που υποβλήθηκαν σε PCI, μελετήθηκε το dabigatran σε συνδυασμό με διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή (ασπιρίνη, κλοπιδογρέλη). Η μελέτη έδειξε αύξηση των αιμορραγικών επεισοδίων²⁷.

Μία από τις κύριες επιπλοκές του dabigatran είναι η γαστρεντερική αιμορραγία. Σε άτομα τα οποία εμφανίζουν γαστρεντερική παθολογία και στους ηλικιωμένους ασθενείς με νεφρική δυσλειτουργία, θα πρέπει να αποφεύγεται η χορήγηση του. Το αντίδοτο για το dabigatran

είναι η ινταρουσιζουμάμπη (Praxbind, Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals) που εγκρίθηκε το 2015 από το FDA. Είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που συνδέεται με το dabigatran και αναστρέφει τη δράση του. Ένα παράγοντας αναστροφής που βρίσκεται υπό μελέτη στη φάση II είναι ο PER977 ή ciraparantag. Άλλα αντίδοτα που μπορούν να χορηγηθούν είναι το PCC, φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα (FFP) και (rFVIIa). Τα επίπεδα του dabigatran μπορούν να ελεγχθούν εργαστηριακά μετρώντας το aPTT, Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) είναι ευαίσθητος, ωστόσο ένας φυσιολογικός χρόνος μπορεί να αποκλείσει τα αυξημένα επίπεδα του φαρμάκου στον οργανισμό²⁶.

3.3.2 Rivaroxaban

Το rivaroxaban είναι άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα . Ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι 5 με 13 ώρες και τα μέγιστα επίπεδα τα επιτυγχάνει εντός 3 με 4 ωρών. Η βιοδιαθεσιμότητα αγγίζει το 80 με 100%. Η απέκκριση του rivaroxaban γίνεται με 2 τρόπους. Τα δύο τρίτα του φαρμάκου μεταβολίζονται στο ήπαρ και απεκκρίνονται, ενώ το ένα τρίτο αποβάλλεται από τους νεφρούς χωρίς να υποστεί μεταβολισμό²⁷. Η δόση του είναι 10mg-20mg. Σε ασθενείς όμως με CrCl 15–50 ml/min, η δόση θα πρέπει να μειώνεται στα 15mg²⁶. Το κυτόχρωμα P450 3A4(CYP3A4) και η P-γλυκοπρωτεΐνη είναι υποστρώματα του rivaroxaban. Οι αναστολείς αυτοί μπορούν να αυξήσουν την συγκέντρωση του φαρμάκου στο πλάσμα και θα πρέπει να αποφεύγεται η συγχορήγησή τους²⁷.

Το rivaroxaban έλαβε έγκριση το 2008 για την πρόληψη της ΦΘΕ στηριζόμενο στη μελέτη RECORD. Στις μελέτες RECORD 1 και RECORD 2 μελετήθηκε το rivaroxaban 10mg με την enoxaparin 40mg, μια φορά ημερησίως, σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επέμβαση ισχίου. Στις RECORD 3 και RECORD 4 συμμετείχαν ασθενείς που υποβλήθηκαν σε ολική αντικατάσταση γονάτου, μελετήθηκαν πάλι το rivaroxaban 10mg με την enoxaparin 30mg-40mg. Όλες οι μελέτες έδειξαν υπεροχή του rivaroxaban για την πρόληψη της ΦΘΕ. Η κλινική μελέτη ROCKET-AF συνέκρινε το rivaroxaban 20mg με τη βαρφαρίνη για την πρόληψη εγκεφαλικού επεισοδίου σε άτομα με μη βαλβιδική κολπική μαρμαρυγή. Τα αποτελέσματα ήταν υπέρ του rivaroxaban και οδήγησαν στην έγκρισή του το 2011 για τη χορήγηση σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή για πρόληψη εγκεφαλικού επεισοδίου. Η κλινική μελέτη EINSTEIN που περιελάμβανε την EINSTEIN DVT και την EINSTEIN PE οδήγησε στην έγκρισή του rivaroxaban για την δευτερογενή πρόληψη της DVT και της PE²⁷. Η PREVENT-HD είναι μια πρόσφατη μελέτη, η οποία έδειξε την αποτελεσματικότητα της

rivaroxaban 10 mg για τη πρόληψη θρομβωτικών και αρτηριακών επεισοδίων σε ασθενείς με Covid-19²⁵.

3.3.3 Apixaban

Το apixaban είναι ένας αναστολέας του παράγοντα Χα, αναστέλλει τον ελεύθερο και το δεσμευμένο παράγοντα Χα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι περίπου 12 ώρες, απορροφάται ταχέως και φτάνει στη μέγιστη απορρόφηση 3 με 4 ώρες μετά τη χορήγηση του. Η βιοδιαθεσιμότητα του είναι περίπου στο 50% και είναι ανεξάρτητη από τη τροφή. Η αποβολή του apixaban γίνεται μέσω της χολής, του λεπτού εντέρου και των νεφρών²⁸ ενώ ο μεταβολισμός γίνεται στο ήπαρ διαμέσου του κυτοχρώματος P450²⁷.

Οι δόσεις του Apixaban είναι 5mg και 10mg ανάλογα με την ένδειξη χορήγησης. Η μειωμένη δόση του είναι τα 2,5mg και χορηγείται στους ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή που έχουν δύο από τα τρία εξής κριτήρια:

- 1) ηλικία > 80 ετών
- 2) σωματικό βάρος < 60kg
- 3) κρεατινίνη ορού > 1,5 mg/dL²⁸

Επίσης η δόση μειώνεται στο μισό και κατά τη χορήγηση της κετοконаζόλης, της ιτρακοναζόλης, της ριτοναβίρης και της κλαριθρομυκίνης. Δεν συνιστάται η χορήγηση του Apixaban σε άτομα με CrCl < 15ml/min και σε αυτούς που έχουν σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια²⁸.

Το Apixaban 2,5 mg εγκρίθηκε το 2011 για τη πρόληψη της ΦΘΕ, βασιζόμενο στη μελέτη ADVACE στην οποία συμμετείχαν ασθενείς που θα υποβάλλονταν σε ορθοπεδική εγχείρηση. Η κλινική μελέτη αυτή αποτελούνταν από την ADVANCE-1, ADVANCE-2 και ADVANCE-3. Και στις τρεις μελέτες συγκρίθηκε το Apixaban 2,5mg έναντι της enoxaparin 40mg. Μόνο στην ADVANCE-1 τα ποσοστά της μη μείζονος αιμορραγίας ήταν μειωμένα στους ασθενείς που έλαβαν apixaban 2,5mg. Στις άλλες δύο περιπτώσεις δεν υπήρχε σημαντική διαφορά. Ενώ η ADVANCE-2 έδειξε ότι τα ποσοστά του πρωτεύοντος καταληκτικού σημείου που ήταν η DVT και η μη θανατηφόρα PE μειώθηκαν σημαντικά με τη χορήγηση του apixaban²⁷.

Σε μία άλλη μεγάλη μελέτη την AVERROES συμμετείχαν ασθενείς με μη βαλβιδική κολπική μαρμαρυγή και έναν ακόμη παράγοντα κινδύνου εγκεφαλικού επεισοδίου. Συγκρίθηκε το apixaban 5mg δύο φορές ημερησίως, αν η δόση πληρούσε τα κριτήρια, αλλιώς μειωνόταν η δόση στο μισό, ενώ η ασπιρίνη χορηγούνταν σε δόση 81-324mg. Η μελέτη διακόπηκε σύντομα καθώς υπήρχε μεγάλη διαφορά υπέρ του apixaban για το καταληκτικό σημείο του εγκεφαλικού επεισοδίου.

Τέλος το apixaban μελετήθηκε και σε ασθενείς με ACS στη μελέτη APPRECIATE. Συγκρίθηκε το apixaban 2,5mg ή 10mg με εικονικό φάρμακο σε ασθενείς που ελάμβαναν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή. Τα αποτελέσματα έδειξαν αύξηση των αιμορραγιών και μείωση των ισχαιμικών επεισοδίων²⁷.

3.3.4 Edoxaban

Το edoxaban είναι και αυτό ένας άμεσος αναστολέας του παράγοντα Xa, έχει προέλθει από τον παρεντερικό αναστολέα Xa DX-9065a. Ο χρόνος ημίσειας ζωής του είναι 6 με 11 ώρες ενώ το peak της δράσης του είναι στις 1 με 2 ώρες μετά τη χορήγηση του²⁷. Η βιοδιαθεσιμότητα του αγγίζει το 62%. Το 50% του edoxaban απεκκρίνεται από τους νεφρούς²⁹. Όπως και τα υπόλοιπα DOACS έτσι και το edoxaban είναι υπόστρωμα της P-γλυκοπρωτεΐνης και δεν θα πρέπει να συγχωρηγούνται²⁷.

Από τις μεγαλύτερες μελέτες που έχουν γίνει για την αποτελεσματικότητα του edoxaban στην κολπική μαρμαρυγή είναι η ENGAGE AF-TIMI 48. Οι ασθενείς λάμβαναν edoxaban 30mg ή 60mg έναντι της βαρφαρίνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν μη κατωτερότητα του edoxaban, σε σύγκριση με την βαρφαρίνη, σε ότι αφορά την πρόληψη εγκεφαλικού επεισοδίου και εμβολής. Επίσης το edoxaban έχει χαμηλότερα ποσοστά αιμορραγίας²⁹.

Μια ακόμα διεθνής μελέτη ήταν η HOKUSAI VTE. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν ασθενείς με οξεία φλεβική θρομβοεμβολή. Οι ασθενείς έλαβαν edoxaban 60mg ή 30mg μετά από χορήγηση enoxaparin. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση της αιμορραγίας σε ασθενείς με φλεβική θρομβοεμβολή³⁰.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία

4.1. Στόχος μελέτης

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η παρουσίαση των αντιθρομβωτικών φαρμάκων (αντιπηκτικών και αντιαιμοπεταλιακών) και η ανάλυση των εργαστηριακών μεθόδων για τη παρακολούθηση τους καθώς και η κλινική εφαρμογή της εργαστηριακής διερεύνησης της αντιθρομβωτικής αγωγής.

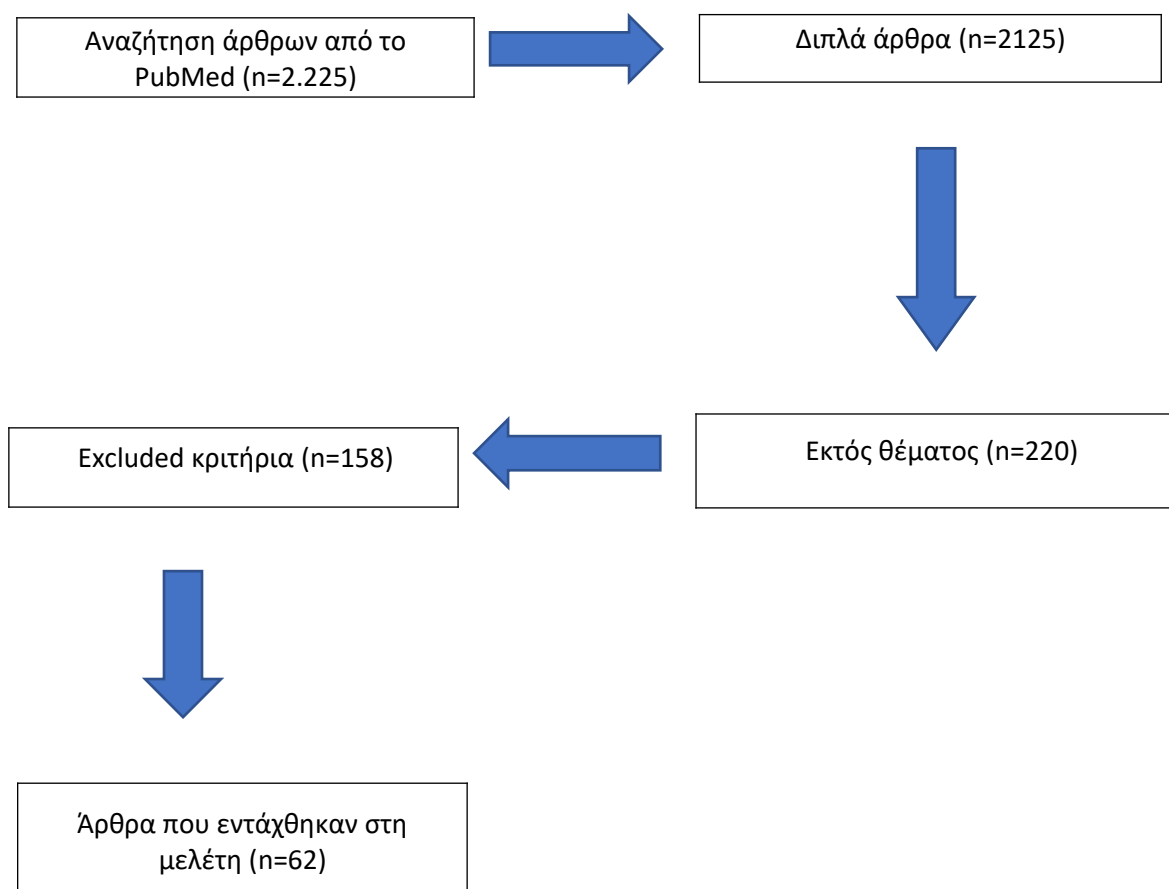
4.2. Κριτήρια ένταξης και αποκλεισμού

Τα τρία βασικά κριτήρια για την ένταξη ή τον αποκλεισμό ενός άρθρου ήταν η ημερομηνία δημοσίευσης καθώς συμπεριλήφθηκαν μόνο όσα δημοσιεύθηκαν τη περίοδο 2008 – 2023, η σχετικότητα του με το θέμα και ο impact factor του περιοδικού στο οποίο δημοσιεύθηκαν.

4.3. Στρατηγική αναζήτησης

Αναζητήθηκαν άρθρα με τη χρήση των εξής λέξεων κλειδιών: αντιθρομβωτική αγωγή (antithrombotic treatment), αντιαιμοπεταλιακή αγωγή (antiplatelet treatment), Doacs, Platelet function testing, Ανταγωνιστές των υποδοχέων P2Y12. Η αναζήτηση έγινε στο PubMed. Η κάθε αναζήτηση έγινε με φίλτρο ώστε να εμφανίζονται άρθρα από το 2008 και μετά. Η ανάγνωση και κατανόηση του τίτλου και της περίληψης κάθε άρθρου ήταν αυτές που λειτούργησαν καθοριστικά στην συμπερίληψη ή απόρριψη ενός άρθρου στη παρούσα ανασκόπηση.

ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗΣ ΑΝΑΖΗΤΗΣΗΣ



Κεφάλαιο 5: Εργαστηριακή Διερεύνηση Αντιαιμοπεταλιακής Αγωγής

Η αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία είναι η κύρια αγωγή των ασθενών με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ACS), σταθερή στηθάγχη και όσων έχουν κάνει επαναγγείωση (PCI).³¹ Η αύξηση των καρδιαγγειακών παθήσεων είχε ως αποτέλεσμα και τη συχνότερη χρήση αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων ιδιαιτέρως της ασπιρίνης και των ανταγωνιστών των υποδοχέων P2Y₁₂. Για το λόγο αυτό έγιναν αρκετές μελέτες με σκοπό την ανακάλυψη νέων τεχνικών που θα βοηθούσαν στην παρακολούθηση και στον έλεγχο της αιμοπεταλιακής λειτουργίας, συνεπώς και της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής³².

Παρακάτω θα αναλυθούν οι μέθοδοι ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας (PFT) που χρησιμοποιούνται έως σήμερα. Οι PFT χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της απόκρισης στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, για τον κίνδυνο εμφάνισης αιμορραγίας σε ασθενείς οι οποίοι θα υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις, καθώς και σε περιπτώσεις όπου απαιτείται μετάγγιση³². Με τις δοκιμασίες ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας παίρνουμε πληροφορίες για την αυξημένη δραστικότητα των αιμοπεταλίων “high on-treatment platelet reactivity” (HTPR) η οποία σχετίζεται με υποτροπιάζουσες θρομβώσεις, και τη μειωμένη δραστικότητα των αιμοπεταλίων «low on-treatment platelet reactivity» (LTPR) που σχετίζεται με αιμορραγίες³².

5.1. Συσσωρευομετρία οπτικής διαπερατότητας

Light Transmission Aggregometry (LTA)

Αρχή μεθόδου

Η Συσσωρευομετρία οπτικής διαπερατότητας ή Light Transmission Aggregometry (LTA) είναι το “gold standard” ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας. Περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1962 από τους Born και O'Brien^{33, 34}. Το LTA αποτελείται από μια συσκευή που ονομάζεται φωτόμετρο. Η μέθοδος στηρίζεται στη μέτρηση της αύξησης της μετάδοσης του φωτός μέσω ενός δείγματος που είναι πλούσιο σε αιμοπετάλια PRP, αφού πρώτα προηγηθεί η προσθήκη ενός αγωνιστή.³⁴ Η συσκευή καταγράφει το ρυθμό και το μέγιστο ποσοστό αυτής της αύξησης από 0% (μέγιστη οπτική πυκνότητα PRP) έως 100% (χωρίς οπτική πυκνότητα) χρησιμοποιώντας ένα φωτόμετρο. Το σήμα αυτό μετασχηματίζεται σε μια γραφική παράσταση που απεικονίζει τη καμπύλη που σχηματίζει η αύξηση της μετάδοσης

τους φωτός κατά τη διάρκεια της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων³⁵. Ανάλογα με τον αγωνιστή που χρησιμοποιείται λαμβάνονται και διαφορετικές πληροφορίες σε ό,τι αφορά τη λειτουργία των αιμοπεταλίων λόγω του ότι ο κάθε αγωνιστής διεγείρει διαφορετική οδό ενεργοποίησης αιμοπεταλίων³⁴. Οι πιο συχνοί αγωνιστές είναι οι εξής: η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP), το κολλαγόνο, το Αραχιδονικό Οξύ (AA), η επινεφρίνη και το πεπτίδιο ενεργοποίησης των υποδοχέων θρομβίνης (TRAP).^{36,37}

Η LTA είναι από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους που χρησιμοποιούνται για τη παρακολούθηση της αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας, κυρίως για θεραπείες με ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ASA), θειενοπυριδίνες και αναστολείς γλυκοπρωτεϊνών IIb/IIIa³⁸.

Ένας από τους πιο συχνούς αγωνιστές που χρησιμοποιείται για το προσδιορισμό της επίδρασης της κλοπιδογρέλης σχετικά με την αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων είναι η ADP. Πάνω στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων υπάρχουν δύο ειδών υποδοχείς: ο υποδοχέας P2Y1 και ο υποδοχέας P2Y12 οι οποίοι συνδέονται με ADP. Η χαμηλή δόση της διφωσφορικής αδενοσίνης συνδέεται στα αιμοπετάλια με τους υποδοχείς P2Y1. Η σύνδεση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την έκκριση Ca^{++} , η οποία οδηγεί στην αλλαγή σχήματος των αιμοπεταλίων. Με αυτή τη διαδικασία ενεργοποιείται το πρωτογενές κύμα συσσώρευσης αιμοπεταλίων. Ο σχηματισμός του δευτερογενούς κύματος συσσώρευσης οφείλεται στη απελευθέρωση ADP από τους κόκκους των αιμοπεταλίων. Σε περίπτωση που η συγκέντρωση του αγωνιστή ADP είναι υψηλή θα συνδεθεί με τον υποδοχέα P2Y12 και θα ξεκινήσει η διαδικασία συσσώρευσης αιμοπεταλίων, με τη διαφορά ότι δεν θα έχουμε αλλαγή του σχήματος τους.

Αν όμως ο ασθενής έχει καλή απόκριση στην κλοπιδογρέλη, αυτή θα παρεμποδίσει τη σύνδεση ADP-P2Y12 και θα αποτρέψει τη δημιουργία του δευτερογενούς κύματος συσσώρευσης αυτών. Επομένως η θεραπεία με κλοπιδογρέλη στοχεύει στο μπλοκάρισμα του υποδοχέα P2Y12, οι οποίοι έχουν βασικό ρυθμιστικό ρόλο στη συγκεκριμένη διαδικασία. Το ποσοστό οπτικής διαπερατότητας στο PRP παρέχει το ποσοστό αναστολής συσσώρευσης αιμοπεταλίων καθώς και το ποσοστό μέγιστης συσσώρευσης αιμοπεταλίων. Αν το φως περνάει μέσα από το PRP τότε η συσσώρευση των PLTs είναι 0%, δηλαδή η οπτική διαπερατότητα μέσω PRP είναι 0%. Άρα υπάρχει 100% αναστολή από κλοπιδογρέλη³⁷.

Πλεονεκτήματα

Έχουν γίνει αρκετές μελέτες για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Γι' αυτό θεωρείται και το gold standard. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο επίκτητων και κληρονομικών διαταραχών των αιμοπεταλίων³³. Χρησιμοποιείται για την επικύρωση νέων μεθόδων σχετικά με τη λειτουργικότητα τους³⁷. Προσφέρει αξιόπιστα αποτελέσματα για την επίδραση των P2Y12 και της ασπιρίνης, καθώς μπορεί και προβλέπει καρδιαγγειακά συμβάντα³³.

Μειονεκτήματα

Η διαδικασία είναι αρκετά χρονοβόρα και πολύπλοκη. Απαιτεί μεγάλο όγκο δείγματος, επηρεάζεται από προαναλυτικούς παράγοντες όπως η αιμόλυση, η λιπαιμικότητα του δείγματος και ο τύπος του αντιπηκτικού. Το προσωπικό που το χειρίζεται θα πρέπει να έχει λάβει ειδική εκπαίδευση και ο χώρος στον οποίο γίνεται η μέτρηση θα πρέπει να διαθέτει τον ειδικό απαραίτητο εξοπλισμό. Για πολλά εργαστήρια, το υψηλό κόστος της μεθόδου, την κάνει αυτόματα απαγορευτική. Ακόμη το γεγονός ότι απαιτεί πλάσμα πλούσιο σε αιμοπετάλια, κάνει τη μέθοδο μη λειτουργική σε ασθενείς με θρομβοπενία, ενώ παράλληλα δεν υπάρχει ομοφωνία για τις συγκεντρώσεις των αγωνιστών που θα πρέπει να χρησιμοποιούνται^{33,34,37}.

Νέα εξέλιξη της LTA

Μελέτες που έχουν γίνει για τη μέθοδο της συσσωρευομετρίας της οπτικής διαπερατότητας, οδήγησαν στην αυτοματοποίηση της μέσω ενός προηγμένου λογισμικού σε εργαστηριακά όργανα όπως είναι το Sysmex CS-2000i. Αυτό προσφέρει τη δυνατότητα στο χρήστη να επιλέξει τις συγκεντρώσεις των αγωνιστών, με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές. Παρέχει επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα και δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό. Σε σύγκριση με την κλασσική LTA ο όγκος πλάσματος, πλούσιου σε αιμοπετάλια, είναι μικρότερος (140ml) από τα 200-500ml που είναι αναγκαία στην παραδοσιακή. Ο χρόνος διεξαγωγής της εξέτασης είναι ο ίδιος, το κόστος όμως υψηλότερο³⁴.

5.2. VerifyNow (Accumetrics, San Diego, CA)

Αρχή μεθόδου

Η VerifyNow (Εικ.3) είναι μια δοκιμασία που ελέγχει την λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Συγκεκριμένα, η μέθοδος χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των ασθενών και για

το κατά πόσο αυτοί ανταποκρίνονται στη θεραπεία με αντιαιμοπεταλιακούς παράγοντες. Στην αρχή η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των αναστολέων της γλυκοπρωτεΐνης (GP) IIb/IIIa. Η VerifyNow μετρά τη συγκόλληση των αιμοπεταλίων που είναι καλυμμένα με ινωδογόνο, τα οποία διεγείρονται από ένα πεπτίδιο, που λειτουργεί ως αγωνιστής τον iso-TRAP, ο οποίος ενεργοποιεί τον υποδοχέα της θρομβίνης.

Η τεχνική πραγματοποιείται σε φιαλίδιο ολικού αίματος με αντιπηκτικό κιτρικό. Το φιαλίδιο εισέρχεται αρχικά στο μηχάνημα, σε ένα σωλήνα, για σταθεροποίηση της θερμοκρασίας του. Στο σωλήνα αυτό υπάρχει μια βελόνα (ένα κλειστό σύστημα κενού αέρα), που το συνδέει απευθείας με το σύστημα της VerifyNow. Η τεχνική VerifyNow, μετρά τη μεταβολή της διαπερατότητας του φωτός, η οποία αναφέρεται ως μονάδα αιμοπεταλιακής συσσώρευσης (Platelet Aggregation Units – PAU).³³ Όσο μεγαλύτερη είναι η συγκόλληση, τόσο αυξάνεται η διαπερατότητα του φωτός³⁹. Σήμερα χρησιμοποιούνται παράλληλα και δυο παραλλαγές της τεχνικής: Η VerifyNow Aspirin για παρακολούθηση ασθενών που ακολουθούν θεραπεία με ασπιρίνη και η VerifyNow P2Y12, για παρακολούθηση ασθενών που ακολουθούν θεραπεία με κλοπιδογρέλη³³. Η αξιολόγηση της δράσης με κλοπιδογρέλη γίνεται με τη χρήση του ασβεστίου ως αγωνιστή³⁸ και τη χρήση της προσταγλανδίνης E1 ως αναστολέα. Η προσταγλανδίνη μειώνει τα επίπεδα του ελεύθερου ενδοκυττάριου ασβεστίου, καθώς μειώνει την δέσμευση της ADP στους υποδοχείς P2Y1.³⁹



Εικόνα 3 : VerifyNow

Έρευνες έχουν δείξει ότι τα αποτελέσματα της μεθόδου VerifyNow δεν παρέχουν περισσότερες πληροφορίες από την μέθοδο της LTA, σχετικά με την αξιολόγηση των ασθενών. Επομένως τα αποτελέσματα των δυο μεθόδων είναι συγκρίσιμα³³.

Πλεονεκτήματα

Η VerifyNow αποτελεί μια μέθοδο τυποποιημένη, βαθμονομημένη και είναι ουσιαστικά ημιαυτόματη³³. Συγκεκριμένα, απαιτείται ελάχιστη ποσότητα δείγματος, ενώ είναι απαραίτητη η χρήση της πιπέτας για την διεξαγωγή της εξέτασης, κάτι το οποίο κάνει τα αποτελέσματά της πιο αξιόπιστα και ακριβή³⁸.

Μειονεκτήματα

Σε περιπτώσεις που η δειγματοληψία δεν έχει γίνει σωστά και τα φιαλίδια δεν παρέχουν την απαιτούμενη ποσότητα αίματος, μπορεί να δημιουργηθεί πήγμα και να υπάρξει εμπλοκή κατά τη διαδικασία³³.

5.3. Περιστρεφόμενη Θρομβοελαστομετρία ,Θρομβοελαστογραφία Rotational thromboelastometry (ROTEM delta, Rotem platel), Thromboelastography

Αρχή μεθόδου

Η περιστρεφόμενη θρομβοελαστομετρία delta (Εικ.4) (rotational thromboelastometry) είναι μια διαδικασία ιξωδοελαστικής μέτρησης των αιμοπεταλίων. Παρέχει στοιχεία για το ρόλο των αιμοπεταλίων όπως είναι ο σχηματισμός θρόμβου, η σταθεροποίηση του και έπειτα η ινωδόλυση του³⁴. Η συλλογή αίματος γίνεται σε φιαλίδιο που περιέχει κιτρικό νάτριο 3,2%, το οποίο στη συνέχεια επωάζεται στους 37°C πριν ξεκινήσει η επεξεργασία. Η συσκευή αυτή αποτελείται από ένα κανάλι που γεμίζει με αίμα και έναν κυλινδρικό πείρο ο οποίος, λειτουργεί σαν αισθητήρας³⁴. Ένα σύρμα στρέψης αιωρείται³⁷. Έπειτα βυθίζεται στο κανάλι αφήνοντας ένα κενό μεταξύ του 1mm. Ο πείρος με τη βοήθεια ενός ελατηρίου περιστρέφεται προς τα πλάγια μέχρι το το αίμα που είναι σε υγρή μορφή να πήξει. Αυτού του είδους η κίνηση καταγράφεται και αποδίδεται έως μια θρομβοελαστομετρική καμπύλη με αριθμητικές παραμέτρους. Οι παράμετροι που μπορεί να ανιχνεύσει το ROTEM είναι ο χρόνος πήξης, ο χρόνος σχηματισμού θρόμβου (CFT), η μέγιστη σταθερότητα θρόμβου (MCF) και η γωνία άλφα. Ανάλογα με τη κατάσταση του οργάνου, του αντιδραστηρίου, τη θερμοκρασία καθώς και τη σταθερότητα του δείγματος μπορεί να υπάρξει διαφορά στα αποτελέσματα.

Το μειονέκτημα της διαδικασίας αυτής είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο της αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας λόγω της αυξημένης παραγωγής θρομβίνης. Η θρομβίνη διεγείρει τα αιμοπετάλια, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να ανιχνευθεί η τυχόν αναστολή τους λόγω αντιαιμοπεταλιακής αγωγής που μπορεί να λαμβάνει ο ασθενής.

Γι' αυτό το λόγο το Rotem delta και τα αιμοπετάλια ROTEM συνενώθηκαν με αποτέλεσμα το δείγμα να αναλύεται συγχρόνως με δύο τεχνικές. Η διαδικασία Rotem αιμοπετάλια στηρίζεται στη αρχή της σύνθετης αντίστασης. Αποτελείται από δύο κανάλια με συγκεκριμένη θερμοκρασία όπου εισάγονται οι κυψελίδες μαζί με το δείγμα, και μέσα στη κυψελίδα τοποθετούνται δυο καλώδια ηλεκτροδίων. Στη συνέχεια, όταν τα αιμοπετάλια συσσωρευτούν γύρω από τη επιφάνεια των ηλεκτροδίων, σχηματίζεται μια καμπύλη εμπέδισης. Ανάλογα με την απόκριση του ασθενή στην κλοπιδογρέλη, η καμπύλη βρίσκεται πάνω ή κάτω από τη καμπύλη αναφοράς. Η καμπύλη εμπέδισης περιλαμβάνει 3 παραμέτρους: 1) την περιοχή κάτω από τη καμπύλη όπου αφορά την ολική συσσώρευση των αιμοπεταλίων, 2) το πλάτος στα 6 λεπτά που σχετίζεται με το βαθμό συσσώρευσης των αιμοπεταλίων έπειτα από της ενεργοποίησή τους και 3) τη μέγιστη κλίση που υποδηλώνει το χρόνο που είναι απαραίτητος για τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων³⁶.



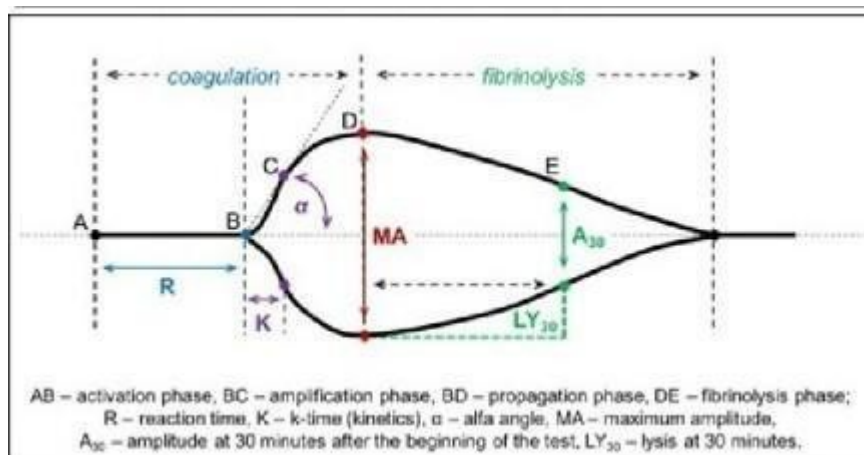
Εικόνα 4: Περιστρεφόμενη Θρομβοελαστομετρία

Η Θρομβοελαστογραφία (Thromboelastography - TEG) είναι μια μη επεμβατική μέθοδος που αναπτύχθηκε για πρώτη φορά το 1948 από το Hellmut Hartert στο Πανεπιστήμιο της Χαϊδελβέργης (Γερμανία). Η αρχή της βασίζεται στον εντοπισμό των ιξωδοελαστικών ιδιοτήτων της πήξης του αίματος υπό χαμηλή διατμητική τάση. Η συλλογή αίματος γίνεται σε φιαλίδιο που περιέχει κιτρικό νάτριο 3,2%. Το μηχάνημα στο οποίο διενεργείται η εξέταση ονομάζεται θρομβοελαστογράφος. Αυτός διαθέτει δύο θαλάμους που δουλεύεται παράλληλα το ίδιο δείγμα για αποφυγή σφαλμάτων που σχετίζονται είτε με τη δειγματοληψία, είτε με τη μέτρηση. Ο κάθε θάλαμος περιέχει ένα κανάλι στο οποίο τοποθετείται το δείγμα και έναν πείρο ανιχνευτή που αιωρείται από ένα σύρμα στρέψης. Το κανάλι αμφιταλαντεύεται γύρω από το πείρο ανίχνευσης. Η κίνηση αυτή καταγράφεται σε μια γραφική παράσταση σε συνάρτηση με το χρόνο. Αρχικά η κίνηση αυτή είναι μικρή

καθώς το ιξώδες του αίματος είναι ελάχιστο. Όταν το αίμα αρχίζει και πήζει σχηματίζοντας θρόμβο, οι ταλαντώσεις μεταφέρονται στον πείρο προκαλώντας την κίνησή του. Όσο μεγαλύτερο είναι το ιξώδες του αίματος, τόσο μεγαλύτερο θα είναι και το πλάτος της κίνησης του πείρου⁴⁰. Η TEG είναι μια μέθοδος η οποία παρακολουθεί τη διαδικασία της αιμόστασης από την έναρξη της, δηλαδή από τη δημιουργία του θρόμβου έως την τελική φάση ινωδόλυσης του θρόμβου⁴¹

Η ανάλυση της TEG μετρά τις εξής 5 παραμέτρους (Εικ.5):

1. Χρόνος αντίδρασης (R): Είναι η ενεργή φάση. Ο χρόνος από την έναρξη της μεθόδου μέχρι να σχηματιστεί ο θρόμβος. Οι φυσιολογικές τιμές είναι 5'-10'. Επηρεάζεται από την αντιπηκτική αγωγή και την ανεπάρκεια παραγόντων πήξης.
2. Κινητική (K): Φάση ενίσχυσης. Είναι ο χρόνος από την πήξη έως τη δημιουργία θρόμβου. Οι φυσιολογικές τιμές είναι 1' - 3'.
3. Γωνία Άλφα (A): Φάση πολλαπλασιασμού. Είναι η γωνία μεταξύ του χρόνου αντίδρασης (R) και μιας νοητής γραμμής η οποία δείχνει τη μέγιστη ταχύτητα σχηματισμού θρόμβου. Οι φυσιολογικές τιμές 53° -72°
4. Μέγιστο πλάτος (MA): Φάση τερματισμού. Είναι το μέγιστο πλάτος της καμπύλης TEG. Φυσιολογικές τιμές 50'-70'. Επηρεάζεται από την αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και τη θρομβοπενία.
5. Λύση θρόμβου στα 30': Φάση ινωδόλυσης. Είναι το ποσοστό μείωσης του πλάτους μετά την εκπλήρωση του μέγιστου πλάτους



Εικόνα 5: Πίνακας θρομβοελαστογραφίας³⁹.

Η θρομβοελαστογραφία είναι ακόμα αμφισβητήσιμη για το αν θα πρέπει να αξιολογείται για την παρακολούθηση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής⁴⁰. Τόσο η ευαισθησία όσο και η

ειδικότητα της χαρτογράφησης των αιμοπεταλίων σε ό,τι αφορά την επίδραση της ασπιρίνης είναι σε χαμηλά επίπεδα³². Ωστόσο, πιστεύεται ότι στο μέλλον θα είναι ένα σημαντικό εργαλείο για τον έλεγχο της αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας, τον κίνδυνο θρομβώσεων και αιμορραγιών⁴⁰. Ήδη κάποιες κατευθυντήριες οδηγίες την συνιστούν για την παρακολούθηση της αιμόστασης των καρδιοχειρουργικών ασθενών και για τη διαχείριση της περιεγχειρητικής αιμορραγίας.

Πλεονεκτήματα TEG

Η μέθοδος της TEG χρειάζεται μικρή ποσότητα αίματος και αυτό θεωρείται ένα βασικό πλεονέκτημα. Παρέχει πληροφορίες για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων, το καταρράκτη της πήξης και την ινωδόλυση, μπορεί δηλαδή να χρησιμοποιηθεί για ανίχνευση διαταραχών πήξης. Τέλος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη καθοδήγηση μετάγγισης παραγώγων αίματος.

Μειονεκτήματα TEG

Η συγκεκριμένη μέθοδος είναι αρκετά απαιτητική. Γι' αυτό και το προσωπικό πρέπει να είναι έμπειρο και να έχει λάβει ειδική εκπαίδευση. Το αποτέλεσμα μπορεί να επηρεαστεί άμεσα από τον χειριστή και χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή και γνώση των λειτουργιών της μεθόδου. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ασθενών καθώς και την κλινική τους κατάσταση. Τέλος, αντενδείκνυται για την παρακολούθηση ασθενών που λαμβάνουν αγωγή με βαρφαρίνη⁴⁰.

5.4 Αυτόματος αναλυτής PFA-100/PFA200 Platelet Function Analyzer-PFA100/ PFA200

Αρχή λειτουργίας

Ο αυτόματος αναλυτής PFA-100/PFA200 (Εικ.6) μελετά τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων υπό συνθήκες διατμητικής τάσης (shear stress). Η συλλογή αίματος γίνεται σε φιαλίδιο με κιτρικό ως αντιπηκτικό³⁴. Το δείγμα αίματος αναρροφάται μέσω ενός τριχοειδούς μέσα σε δύο θήκες οι οποίες είναι μια χρήσεως. Η θήκη αποτελείται από μια μεμβράνη που περιέχει μια οπή. Το εσωτερικό της μεμβράνης αλλά και της οπής μπορεί να είναι επικαλυμμένα με κολλαγόνο και ADP ή κολλαγόνο και επινεφρίνη. Ο χρόνος που απαιτείται για να κλείσει η οπή της μεμβράνης, λόγω της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων, αναφέρεται ως χρόνος κλεισίματος (CT)³⁴.



Εικόνα 6: Αυτόματος αναλυτής PFA-100/PFA200

Υπάρχουν μελέτες οι οποίες έχουν δείξει ότι ο έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας μέσω του PFA έχει τη δυνατότητα να προβλέψει τον πιθανό υποτροπιασμό στεφανιαίων συμβάντων μετά από PCI⁴¹. Υπάρχει μια καλή συσχέτιση της μεθόδου αυτής με την LTA, όχι όμως και με τις υπόλοιπες³⁷. Δεν συστήνεται για τη παρακολούθηση της κλοπιδογρέλης και γενικά των P2Y₁₂ λόγω ανεπάρκειας ευαισθησίας και ειδικότητας.^{37,41}

Πλεονεκτήματα

Η αρχή της μεθόδου και οι διαδικασίες που απαιτούνται για την ολοκλήρωση της τεχνικής είναι απλές. Επομένως δεν απαιτείται το προσωπικό να έχει ιδιαίτερη εξειδίκευση. Επιπλέον, η διαδικασία δεν είναι χρονοβόρα, γι' αυτό και χρησιμοποιείται σε καταστάσεις έκτακτης ανάγκης όπως είναι οι ασθενείς με καρδιακά προβλήματα που βρίσκονται στο χειρουργείο ή πρόκειται να υποβληθούν σε επέμβαση. Ανήκει στις point of care μεθόδους, καθώς η ποσότητα του δείγματος που απαιτείται είναι μικρή και μπορεί να δουλευτεί δίχως κάποια ιδιαίτερη προεπεξεργασία³⁴. Η μέθοδος αυτή είναι κατάλληλη για παρακολούθηση ασθενών που λαμβάνουν θεραπεία ακετυλοσαλικυλικό οξύ. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι η ευαισθησία της μεθόδου αγγίζει το 94,9% , το οποίο κάνει τα αποτελέσματα της αξιόπιστα³⁷.

Μειονεκτήματα

Οι μελέτες που έχουν γίνει μέχρι στιγμής σχετικά με την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων της μεθόδου PFA είναι λίγες. Θα πρέπει να πραγματοποιηθούν και άλλες μελλοντικά ώστε η μέθοδος αυτή να μπορέσει να εφαρμοστεί σε επίπεδο ρουτίνας ενός εργαστηρίου. Επιπλέον, το αποτέλεσμα επηρεάζεται από τον αριθμό των αιμοπεταλίων ($PLT < 50 \times 10^9$), τον αιματοκρίτη, τον παράγοντα von willebrand, καθώς και από κάποιες τροφές και φάρμακα που πιθανόν να λαμβάνει ο ασθενής. Η συγκεκριμένη μέθοδος αντενδίδνεται για

παρακολούθηση ασθενών που ακολουθούν θεραπεία με θειενοπυριδίνες. Ακόμα δεν προτείνεται για τη μέτρηση των GPIIb/IIIa ανταγωνιστών καθώς ο CT>300'', θεωρείται οριακός για την ικανότητα του αναλυτή³⁷.

5.5 Κυτταρομετρία ροής **Flow cytometric (VASP assay)**

Αρχή μεθόδου

Η κυτταρομετρία ροής είναι μια μέθοδος ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας που στηρίζεται στο φθορισμό. Μια συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος που βασίζεται στη κυτταρομετρία ροής είναι η VASP. Η VASP είναι μια ενδοκυτταρική ρυθμιστική πρωτεΐνη ή οποία φωσφορυλιώνεται μέσω της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) με ενεργοποίηση PGI₂ ή PGE₁⁴¹. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιεί ολικό αίμα το οποίο αναμειγνύεται με PGE₁ ή PGE₁ και ADP και μπορεί να μείνει σε θερμοκρασία δωματίου έως και 48 ώρες^{33,41}. Έπειτα το δείγμα επισημαίνεται με ένα φθορίζον αντίσωμα έναντι φωσφοριλιωμένου VASP χρησιμοποιώντας κυτταρομετρία ροής. Τέλος, υπολογίζεται ο δείκτης αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων (PRI), ο οποίος εκφράζεται σαν ποσοστό και δηλώνει την αναλογία φωσφοριλιωμένων και αποφωσφοριλιωμένων VASP⁴¹. Η φωσφοριλιωμένη VASP δείχνει την αναστολή των υποδοχέων P2Y₁₂ ενώ η αποφωσφοριλιωμένη τη δραστηριότητα τους.

Μια από τις σημαντικότερες κλινικές εφαρμογές της μεθόδου είναι η αξιολόγηση των υποδοχέων P2Y₁₂ μέσω του δείκτη PRI. Η τεχνική αυτή δεν θεωρείται το ίδιο αξιόπιστη όταν έχουμε χαμηλά επίπεδα αναστολής των υποδοχέων P2Y₁₂. Ωστόσο, δείχνει ότι αντοχή στην κλοπιδογρέλη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο MACE και ότι ο PRI έχει αρνητική προγνωστική αξία³².

Γενικότερα η κυτταρομετρία ροής μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε σοβαρές θρομβοπενίες, σε σύνδρομα όπως Bernard-Soulier και Glanzmann. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε ασθενείς που χρήζουν μετάγγιση αίματος³⁸.

Πλεονεκτήματα

Ένα από τα πιο βασικά πλεονεκτήματα της παραπάνω μεθόδου είναι ότι δεν επηρεάζεται από τους ανταγωνιστές της γλυκοπρωτεΐνης IIb/ IIIa. Είναι μια πολύ καλή τεχνική για την αξιολόγηση των ανταγωνιστών P2Y₁₂ και ιδιαίτερα της κλοπιδογρέλης καθώς μπορεί να μετρήσει τα επίπεδα της σε in vivo καταστάσεις. Χρησιμοποιεί μικρό όγκο δείγματος και ολικό αίμα. Μπορεί να γίνει διατήρηση του δείγματος έως και 24 ώρες χωρίς να επηρεαστεί η σταθερότητα των αποτελεσμάτων. Τέλος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε θρομβοπενικούς ασθενείς καθώς δεν επηρεάζεται από τον αριθμό των αιμοπεταλίων^{37,38}.

Μειονεκτήματα

Ένα από τα μειονεκτήματα της μεθόδου όπως και πολλών άλλων είναι ότι απαιτεί προσωπικό εξειδικευμένο. Είναι χρονοβόρα διαδικασία και η προετοιμασία του δείγματος σύνθετη. Δεν ανήκει στην κατηγορία των point of care μεθόδων όπως είναι το PFA100, η VerifyNow και ο Plateletworks analyzer. Επίσης είναι δύσκολο να ενταχθεί στη ρουτίνα ενός εργαστηρίου. Ακόμη θεωρείται μια από τις πιο ακριβές οικονομικά μεθόδους^{37,38}.

5.6 Plateletworks analyzer

Αρχή μεθόδου

Η αρχή μεθόδου του Plateletworks analyzer (Εικ.7) βασίζεται στη μέτρηση του αριθμού των αιμοπεταλίων πριν γίνει προσθήκη του αγωνιστή ADP και έπειτα στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων μετά την προσθήκη ADP. Απαιτούνται δύο ειδών δείγματα: το ένα να περιέχει EDTA και το άλλο κιτρικό. Η διαδικασία θα πρέπει να διενεργείται εντός 10 λεπτών μετά την αιμοληψία^{32,38}. Όταν το αίμα περάσει από την οπή του αναλυτή, το σταθερό ηλεκτρικό ρεύμα θα δημιουργήσει έναν παλμό ο οποίος θα ενισχυθεί και θα μετατραπεί για να έχουμε τον αριθμό των αιμοπεταλίων. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων παρουσιάζεται ως ποσοστό συγκρίνοντας τον αριθμό των αιμοπεταλίων μεταξύ των δειγμάτων που περιέχουν διαφορετικό αντιπηκτικό



Εικόνα 7: Plateletworks analyzer

Πλεονεκτήματα

Ο Plateletworks analyzer είναι μια συσκευή Point of Care. Χρησιμοποιεί μικρό όγκο αίματος και δεν χρειάζεται ιδιαίτερη προετοιμασία δείγματος. Είναι εύκολο στη χρήση του. Μελέτες έχουν δείξει συσχέτιση με την LTA³⁷.

Μειονεκτήματα

Ένα μεγάλο μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι θα πρέπει να διεξάγεται σε σύντομο χρονικό διάστημα. Οι μελέτες που έχουν γίνει για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου σχετικά με την αναταιοπεταλιακή αγωγή είναι πολύ περιορισμένες. Επιπλέον το αποτέλεσμα επηρεάζεται από προ αναλυτικές παραμέτρους³⁷.

5.7 Εμπέδηση Στη Συγκόλληση (Impedance aggregometry) [Multiple Electrode Aggregometry (MEA)]

Αρχή μεθόδου

Το Impedance aggregometry είναι μια μέθοδος ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας που μετρά την ηλεκτρική αντίσταση ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια, όταν τα αιμοπετάλια συσσωρεύονται ως απόκριση ενός αγωνιστή και προσκολλώνται σε αυτά. Μία ευρέως χρησιμοποιούμενη συσκευή είναι το Multiple Electrode Aggregometry (Εικ.8) (MEA) η

οποία αποτελείται από πέντε κανάλια και διαθέτει κυψέλες μιας χρήσεως που η καθεμία τους περιέχει δύο ζεύγη ηλεκτροδίων αισθητήρων σαν εσωτερικό ποιοτικό έλεγχο. Σε κάθε ένα από αυτούς τους δύο αισθητήρες ο αναλυτής μετρά την σύνθεση της αντίστασης σε μονάδες συνάθροισης (AU).^{32,38}



Εικόνα 8: Multiple Electrode Aggregometry

Η μέθοδος MEA είναι ένα σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο για την παρακολούθηση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Μελέτες που έγιναν σε ασθενείς που λάμβαναν κλοπιδογρέλη και υποβλήθηκαν σε PCI, είχαν πολύ καλά αποτελέσματα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση HTR κατά τη θεραπεία. Επίσης μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για να προβλέψει την ανάγκη μετάγγισης αιμοπεταλίων. Η δοκιμή αυτή σύμφωνα με έρευνες που έχουν γίνει έχει αποδειχθεί ότι όχι μόνο βοηθάει στον εντοπισμό των ασθενών που έχουν υψηλό κίνδυνο θρόμβωσης, αλλά και σε αυτούς που διατρέχουν σοβαρό κίνδυνο αιμορραγίας, καθώς επίσης μπορεί να προβλέψει και το μετεγχειρητικό κίνδυνο αιμορραγίας^{32,38,43}.

Πλεονεκτήματα

Το Multiple Electrode Aggregometry είναι μια μέθοδος point of care η οποία χρησιμοποιεί ολικό αίμα. Έχει τη δυνατότητα να μετρήσει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων εις διπλούν. Είναι μια τυποποιημένη μέθοδος και γρήγορη. Έχει καλή αναπαραγωγιμότητα.

Μειονεκτήματα

Στα μειονεκτήματα της μεθόδου συμπεριλαμβάνονται ο μεγάλος χρόνος επώασης που απαιτείται, περίπου στη μία ώρα. Είναι ημιαυτόνομη και ακριβή. Η τεχνική που ακολουθεί είναι απαιτητική, άρα χρειάζεται και έμπειρο προσωπικό. Επίσης επηρεάζεται από προαναλυτικούς παραμέτρους. Τέλος, το κόστος του αναλυτή είναι υψηλό^{37,42}.

5.8. IMPACT:Cone and Plate(let) Analyzer - αναλυτής CPA

Αρχή μεθόδου

Το Impact R (Εικ.9) (DiaMed, Cressier, Ελβετία) ελέγχει τη προσκόλληση και τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων υπό συνθήκες ροής αίματος. Χρησιμοποιεί ολικό αίμα. Το δείγμα αίματος τοποθετείται σε μία πλάκα πολυστυρενίου και οι πρωτεΐνες του πλάσματος προσκολλώνται πάνω σε αυτό. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται η συσσώρευση και η προσκόλληση των αιμοπεταλίων. Ο αναλυτής έχει τη δυνατότητα να χρωματίζει και να απεικονίζει τα αιμοπετάλια που είναι στη πλάκα με ρυθμό διάτμησης που δημιουργείται λόγω της περιστροφής του κώνου στη πλάκα πολυστυρενίου^{32,38}.



Εικόνα 9: IMPACT:Cone and Plate(let) Analyzer - αναλυτής CPA

Παρέχει σημαντικά αποτελέσματα για τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Μπορεί να παρακολουθηθεί η αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία, καθώς σημαντικό ρόλο σε αυτό έχει η προσθήκη αγωνιστών ADP και αραχιδονικού οξέος³⁸.

Πλεονεκτήματα

Η χρήση της μεθόδου είναι απλή, ο όγκος δείγματος είναι μικρός και δεν απαιτείται κάποια ιδιαίτερη προετοιμασία³⁸.

Μειονεκτήματα

Το Impact R Δεν είναι ευρέως διαδεδομένο³². Επίσης δεν θεωρείται στη πραγματικότητα point of care test καθώς απαιτείται η χρήση της πιπέτας για τη διενέργεια της μεθόδου³⁸.

Κεφάλαιο 6: Εργαστηριακή Διερεύνηση Αντιπηκτικής Αγωγής

Τα κουμαρινικά είναι από τα πιο συχνά αντιπηκτικά φάρμακα που λαμβάνονται. Λόγω όμως του ότι έχουν ένα μικρό θεραπευτικό εύρος και επηρεάζονται από διαφορετικούς παράγοντες όπως, η διατροφή και η ηλικία, είναι απαραίτητη η εργαστηριακή τους παρακολούθηση. Η ανακάλυψη των DOACS περιόρισε σημαντικά την τακτική εργαστηριακή παρακολούθηση χωρίς όμως να την εξαλείψει. Παρακάτω παρατίθενται αναλυτικά οι διαθέσιμες εργαστηριακές μέθοδοι οι οποίες αξιολογούν την δράση των αντιπηκτικών φαρμάκων^{43,44}.

6.1 Χρόνος προθρομβίνης (PT)

Ο χρόνος προθρομβίνης (PT) μελετήθηκε για πρώτη φορά από τον Armand Quick το 1935. Είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα τεστ πήξεως που ελέγχουν τη κοινή και την εξωγενή οδό πήξης. Το PT μετρά σε δευτερόλεπτα το χρόνο ο οποίος απαιτείται για το σχηματισμό θρόμβων έπειτα από τη προσθήκη του αντιδραστηρίου θρομβοπλαστίνης σε πλάσμα φτωχό σε αιμοπετάλια (PPP). Η θρομβοπλαστίνη αποτελείται από τον παράγοντα ιστού (TF), ιόντα ασβεστίου και από φωσφολιπίδια. Η προέλευση του αντιδραστηρίου της θρομβοπλαστίνης μπορεί να είναι ανθρώπινη ή ζωική (πλακούντας ή εγκέφαλος κουνελιού). Λόγω της ευαισθησίας της θρομβοπλαστίνης υπήρχαν αποκλίσεις στις τιμές PT ανάλογα με το εργαστήριο που διενεργούνταν. Γι' αυτό το λόγο έγιναν προσπάθειες για καλύτερη τυποποίηση των δοκιμών PT. Το 1983 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) εισήγαγε το διεθνές σύστημα ομαλοποίησης αναλογίας (INR) το οποίο είναι ανεξάρτητο από τη θρομβοπλαστίνη. Το INR χρησιμοποιεί το λόγο PT προσαρμοσμένο σε ένα διορθωτικό συντελεστή που λέγεται διεθνής δείκτης ευαισθησίας (ISI)

$$\text{International Normalized Ratio} = \left[\frac{\text{Patient PT}}{\text{Mean Normal Pt}} \right]^{\text{ISI}}$$

Η τιμή του ISI για τα αντιδραστήρια της θρομβοπλαστίνης κυμαίνεται μεταξύ 0,9 και 1,7. Ωστόσο και η τιμή του INR μπορεί να επηρεαστεί από τη μέση φυσιολογική τιμή του PT (MNTP) ή τη γεωμετρική μέση φυσιολογική τιμή (GMNTP). Επομένως λοιπόν τα εμπορικά σκευάσματα της θρομβοπλαστίνης, θα πρέπει να βαθμονομούνται με βάση το παρασκεύασμα αναφοράς της θρομβοπλαστίνης (IRP). Αυτή η διαδικασία πραγματοποιείται

χρησιμοποιώντας μια νέα θρομβοπλαστίνη και τη θρομβοπλαστίνη αναφοράς σε 20 υγιή άτομα και σε 60 ασθενείς η οποία έλαβαν VKA για τουλάχιστον 6 εβδομάδες. Με αυτό το τρόπο λαμβάνεται ο ISI⁴⁵. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν και άλλοι παράγοντες εκτός από την ευαισθησία του αντιδραστηρίου, που διορθώθηκαν από τον ISI, οι οποίοι μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα, όπως για παράδειγμα ο αναλυτής πήξης που χρησιμοποιείται και το είδος δείγματος⁴⁶.

Η παρακολούθηση των VKA γίνεται μέσω του INR. Ο στόχος INR για τη πλειοψηφία των ασθενών είναι 2-3 με εξαίρεση ασθενείς με μηχανική βαλβίδα και ασθενείς με υψηλό κίνδυνο ΦΘΕ. Η μέτρηση γίνεται κάθε 4 με 6 εβδομάδες στους σταθερούς ασθενείς, ενώ στους μη σταθερούς κάθε εβδομάδα⁴⁵. Προτείνεται οι ασθενείς που λαμβάνουν VKA να γίνεται έλεγχος του PT στο ίδιο εργαστήριο κατά τη διάρκεια της θεραπείας. Το PT δεν είναι ευαίσθητο για τις μετρήσεις των επιπέδων της LMWH,UFH και του fondaparinux⁴⁶.

Σχετικά με τα DOACS το PT δεν έχει την ίδια ευαισθησία. Το dabigatran μπορεί να παρατείνει το PT. Όμως φυσιολογικές τιμές PT μπορεί να συνυπάρχουν με αιμορραγία.⁴⁴ Στο rivaroxaban το PT ανιχνεύει τις υψηλές δόσεις αλλά δεν προτείνεται για τις χαμηλές συγκεντρώσεις του rivaroxaban λόγω χαμηλής ευαισθησίας. Για το apixaban δεν παρέχει καμία σημαντική κλινική πληροφορία^{44,46}.

6.2 Ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT)

Ο ενεργοποιημένος χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης (APTT) είναι μια από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους πήξης. Μετρά το χρόνο ενεργοποίησης του παράγοντα XII έως τη δημιουργία θρόμβου ινώδους. Το πλάσμα επωάζεται με έναν ενεργοποιητή (διοξειδίο του πυριτίου) και φωσφολιπίδια που αναφέρονται και μερική θρομβοπλαστίνη. Η ενεργοποίηση της πήξης ξεκινάει με τη προσθήκη ασβεστίου ο χρόνος που απαιτείται για τη δημιουργία θρόμβου ονομάζεται aPTT και καταγράφεται σε δευτερόλεπτα⁴⁷.

Το aPTT συνδυάζεται με το PT και τη δοκιμασία ινωδογόνου. Χρησιμοποιείται από τους κλινικούς ιατρούς για την αξιολόγηση της διαταραχής πήξης, της διάγνωσης αιμορραγίας και για προεγχειρητικό έλεγχο. Το aPTT μετρά την ενδογενή οδό πήξης και την κοινή οδό (XII, XI, IX, X, VIII, II και I). Μελέτες έχουν δείξει και τη συσχέτιση του aPTT με την ΦΘΕ.^{46,47}

Παράταση του χρόνου aPTT έχουμε σε ανεπάρκεια κινινογόνου υψηλού μοριακού βάρους (HMWK), προκαλλικρεΐνης, των παραγόντων πήξης XII, XI, IX, VIII X και V. Επίσης παρατείνεται στην ανεπάρκεια του von Willebrand και στη παρουσία αντιπηκτικό του λύκου.

Το aPTT χρησιμοποιείται για τη παρακολούθηση της UFH όπου αποτελεί δοκιμή επιλογής. Ωστόσο υπάρχει μεγάλη διαφορά στη μεταβλητότητα των αντιδραστηρίων aPTT σε σχέση με την ανταπόκριση τους στην ηπαρίνη. Άρα το θεραπευτικό εύρος 1,5-2,5 φορές την τιμή στόχου (aPTT ratio) αντικατοπτρίζει διαφορετικές συγκεντρώσεις και δοσολογίες ηπαρίνης όταν γίνεται χρήση διαφορετικών αντιδραστηρίων aPTT. Για να έχουμε το κατάλληλο θεραπευτικό εύρος θα πρέπει να γίνεται βαθμονόμηση κάθε παρτίδας αντιδραστηρίου aPTT έναντι του anti-Xa και του αναστολέα της θρομβίνης, κάτι το οποίο δεν είναι εφικτό στα περισσότερα εργαστήρια^{46,47}.

Η LMWH δεν έχει σημαντική επίδραση στο aPTT. Αν και το aPTT παρατείνεται σε ασθενείς που λαμβάνουν LMWH δεν είναι τόσο ευαίσθητο για την συγκέντρωση της LMWH στο αίμα⁴⁶.

Το fondaparinux όπως και τα VKA δεν έχουν επίδραση στο aPTT. Το bivalirudin και το argotroban παρατείνουν τη δράση του aPTT. Το aPTT χρησιμοποιείται στην κλινική καθημερινότητα για την δράση του bivalirudin και του argotroban παρά τις ελλείψεις δεδομένων που υπάρχουν για το θεραπευτικό εύρος και την ευαισθησία του κάθε αντιδραστηρίου.

Επιπλέον παράταση του aPTT προκαλεί και το dabigatran ακόμα και στις χαμηλές τους συγκεντρώσεις. Το aPTT χρησιμοποιείται σε επείγουσες καταστάσεις για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του dabigatran. Βέβαια υπάρχει πιθανότητα αυτή η μέθοδος να μην είναι τόσο ευαίσθητη σε περιπτώσεις όπου τα επίπεδα του dabigatran είναι υπερθεραπευτικά. Όλα τα εργαστήρια θα πρέπει να γνωρίζουν την ευαισθησία των δοκιμασιών aPTT στο dabigatran⁴⁶.

Το rivaroxaban ενώ παρουσιάζει ευαισθησία, σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις του μπορεί να μην έχουμε παράταση του aPTT. Λόγω του ότι επηρεάζεται από το αντιδραστήριο και από τον αναλυτή που δουλεύεται. Το aPTT δεν χρησιμοποιείται για το προσδιορισμό της συγκέντρωσης του apixaban^{46,47}.

Η παραπάνω μέθοδος είναι οικονομική, απλή, αυτοματοποιημένη και διαθέσιμη σχεδόν σε όλα τα εργαστήρια. Το μειονέκτημα είναι ότι υπάρχει διαφορά στα αποτελέσματα λόγω των

διαφορετικών αντιδραστηρίων που χρησιμοποιούνται. Οι μεταβλητές που επηρεάζουν το aPTT είναι η συγκέντρωση των φωσφολιπιδίων, ο ενεργοποιητής, τα ρυθμιστικά διαλύματα καθώς και ο χρόνος επώασης⁴⁷.

6.3 Χρόνος θρομβίνης (TT)

Ο χρόνος θρομβίνης είναι μια απλή δοκιμασία πήξης. Μετρά το σχηματισμό του ινωδογόνου σε ινώδες αφού προστεθεί θρομβίνη. Ανθρώπινη ή βοοειδή θρομβίνη προστίθεται σε κιτρικό πλάσμα, φτωχό σε αιμοπετάλια, που έχει επωαστεί στους 37°C για 1 με 4 λεπτά. Ο χρόνος που απαιτείται για σχηματισμό θρόμβου ινώδους, καταγράφεται σε δευτερόλεπτα⁴⁸.

Ο TT είναι ευαίσθητος στη παρουσία της UFH. Μπορεί να προκαλέσει παράταση του TT. Ωστόσο, δεν χρησιμοποιείται για τη παρακολούθηση της UFH. Μπορεί όμως να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις μόλυνσης του δείγματος με ηπαρίνη, όπως όταν γίνεται λήψη αίματος από κεντρική γραμμή.

Ο TT για την LMWH, το fondaparinux και για τους άμεσους αναστολείς του παράγοντα Χα δεν παρέχει καμία κλινική σημασία, όπως επίσης και για τα VKA. Σημαντική παράταση του TT έχουμε στο bivalirudin, στο argatroban και στο dabigatran. Το μειονέκτημα είναι ότι η πλειοψηφία των αναλυτών πήξης δεν μπορούν να μετρήσουν τη παράταση αυτή, ακόμα και στις πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις των αναστολέων θρομβίνης⁴⁹.

Συγκεκριμένα για το dabigatran ένας φυσιολογικός χρόνος TT υποδηλώνει τη μη ύπαρξη του dabigatran στον οργανισμό ή πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις του. Ο χρόνο θρομβίνης παρατείνεται για συγκεντρώσεις μικρότερες ή ίσο με 30ng/mL. Ωστόσο, το dabigatran επηρεάζεται από τις συγκεντρώσεις της θρομβίνης που έχει το εκάστοτε αντιδραστήριο TT. Άρα δεν μπορούμε να είμαστε σίγουροι ότι ένας παρατεταμένος TT αντιστοιχεί και σε υψηλές δόσεις φαρμάκου⁵⁰.

6.4 Αραιωμένος χρόνος θρομβίνης (dTT)

Ο αραιωμένος χρόνος θρομβίνης(dTT) έχει ίδια αρχή μεθόδου με τον χρόνο θρομβίνης. Είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται κυρίως για το dabigatran. Βέβαια είναι απαραίτητο να αραιωθεί το dabigatran στο πλάσμα με φυσιολογικό ορό. Η βαθμονόμηση του dTT γίνεται με βαθμονομητές dabigatran.

Το bivalirudin και το argatroban μπορούν να μετρηθούν με το dTT. Στην κλινική πράξη όμως δεν είναι τόσο ευρέως χρησιμοποιούμενα λόγω των άγνωστων θεραπευτικών ορίων τους καθώς και τα ίδια τα φάρμακα δεν είναι ευρέως διαθέσιμα⁴⁹.

6.5. Η χρωμογονική δοκιμασία εκαρίνης (ECA)

Η εκαρίνη είναι μια μεταλλοπρωτεάση που προέρχεται από το δηλητήριο οχιάς. Στόχος της είναι η ενεργοποίηση της προθρομβίνης και ο σχηματισμός της μειζοθρομβίνης. Η μειζοθρομβίνη έχει παραπλήσιο μοριακό βάρος με την προθρομβίνη. Στην ECA ένα χρωμογενές υπόστρωμα και περίσσειμα θρομβίνης προστίθενται σε πλάσμα. Η απελευθέρωση του χρωμοφόρου λόγω της θρομβίνης ανιχνεύεται φασματοφωτομετρικά.

Η ECA χρησιμοποιείται κυρίως για τη μέτρηση της συγκέντρωσης του dabigatran. Δεν είναι ευαίσθητη για την ηπαρίνη, επειδή η ηπαρίνη δεν μπορεί να αναστείλει την μειζοθρομβίνη, σε αντίθεση με το argatroban και το dabigatran που μπορούν να την αναστείλουν⁴⁹.

Η ECA είναι παρόμοια με τον χρόνο πήξης εκαρίνης (ECT). Η διαφορά τους είναι στον τρόπο ανίχνευσης σήματος. Η ECA βασίζεται στη δημιουργία χρώματος ενώ η ECT στο χρόνο για το σχηματισμό θρόμβου. Ωστόσο οι δοκιμασίες εμφανίζουν διαφορές ανάλογα με την παρτίδα λόγω των συγκεντρώσεων των συστατικών που περιέχουν. Και τα δύο παρουσιάζουν πολύ καλή συσχέτιση με LC-MS / MS⁵⁰.

6.6 Anti-Xa assay

Ο Anti-Xa είναι μία χρωμογονική μέθοδος. Η διαδικασία είναι εύκολη και αυτοματοποιημένη. Είναι ακριβότερη σε σχέση με το APTT και πιθανόν να μην είναι διαθέσιμη σε όλα τα εργαστήρια. Απαραίτητη διαδικασία για τη διενέργεια της εξέτασης είναι το εργαστήριο να διαθέτει μια πρότυπη καμπύλη για την UFH ή LMWH χρησιμοποιώντας μια δεξαμενή που περιέχει φυσιολογικές ποσότητες πλάσματος UFH και LMWH. Μέσα σε αυτή την δεξαμενή προστίθεται γνωστές συγκεντρώσεις του Xa, αφήνεται να επωαστεί και στη συνέχεια γίνεται μέτρηση της υπολειμματικής ποσότητας του Xa. Τα μόρια της UFH τροποποιούνται είτε χημικά είτε ενζυματικά παράγοντας μικρότερα κλάσματα LMWH, τα όποια έχουν μεγαλύτερη ειδικότητα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να υπάρχει αυξημένη δραστηριότητα anti-Xa σε σύγκριση με τη δραστηριότητα anti-IIa. Επομένως

η μέτρηση του APTT για τη LMWH δεν είναι ευαίσθητη και προτιμάται να χρησιμοποιείται η δοκιμασία anti-Xa.

Η μέτρηση του anti-Xa μπορεί να επηρεαστεί από τους εξής τρεις παράγοντες:

- 1) το ηπαρινοειδές: Είναι απαραίτητη η δημιουργία πρότυπων καμπύλων για κάθε είδους UFH και LMWH σε κάθε κέντρο. Αυτές θα χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των ηπαρινών στο πλάσμα του ασθενούς με μονάδες μέτρησης anti Xa/ml.
- 2) Ο εργαστηριακός αναλυτής: Οι καμπύλες βαθμονόμησης θα πρέπει να χρησιμοποιούνται από τον αναλυτή πήξης για την κλινική διαχείριση των ασθενών. Υπάρχει ευρεία βιβλιογραφία η οποία τονίζει την αναγκαιότητα της τυποποίησης των δοκιμών πήξης με βάση τον εργαστηριακό αναλυτή και τα αντιδραστήρια.
- 3) Το αντιδραστήριο anti Xa: τα αντιδραστήρια τα οποία έχουν κατασκευαστεί για να υπολογίζουν την δραστικότητα του anti Xa μπορεί να διαφέρουν σημαντικά καθώς ορισμένα από τα kit έχουν εξωγενή αντιθρομβίνη ή θειική δερματάνη. Η επίδραση των εξωγενών αυτών παραγόντων επηρεάζει τα επίπεδα anti Xa.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει τη σημαντική κλινική χρησιμότητα της μέτρησης anti Xa για την παρακολούθηση της UFH. Η δοκιμασία anti-Xa έχει συγκριθεί με τη δοκιμασία aPTT σε πολλές μελέτες με τα αποτελέσματα να έχουν δείξει υπεροχή της μεθόδου anti Xa. Καθώς έχει παρατηρηθεί ότι σε ασθενείς οι οποίοι έλαβαν εκτεταμένη θεραπευτική δόση UFH δεν είχαν την αναμενόμενη παράταση στο aPTT. Βέβαια δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στη πρόβλεψη αιμορραγιών και υποτροπιάζουσών θρομβώσεων σε σχέση με τους ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν με aPTT ή με τη μέθοδο anti Xa⁵¹.

Η δοκιμασία anti Xa μπορεί να υπολογίσει την συγκέντρωση του fondaparinux στο αίμα αφού πρώτα έχει βαθμονομηθεί καταλλήλως. Τα μέγιστα αποτελέσματα του φαρμάκου επιτυγχάνονται δύο ώρες αφότου έχει γίνει η υποδόρια ένεση. Όλα τα μόρια του fondaparinux διαθέτουν ανασταλτική δράση και συνδέονται με την αντιθρομβίνη. Μεταξύ της αντιπηκτικής δράσης και της χορηγούμενης δόσης υπάρχει συσχέτιση. Η συγκέντρωση του fondaparinux κυμαίνεται από 0,05 έως 0,35mg/L σε χορήγηση δόσης 2,5mg μια φορά την ημέρα, σύμφωνα με ελάχιστες μελέτες που έχουν γίνει. Επίσης η παραπάνω δοκιμασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για την μέτρηση του rivaroxaban. Μετά από δύο ώρες από τη λήψη του φαρμάκου η συγκέντρωση του φτάνει στα μέγιστα επίπεδα μεταξύ 120 και 375 ng/mL ενώ οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις είναι 5 και 85ng/ml⁴⁹.

Κεφάλαιο 7: Κλινική Εφαρμογή Αντιαιμοπεταλιακής Αγωγής

Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα χορηγούνται σε συγκεκριμένες δόσεις οι οποίες έχουν βασιστεί σε αποτελέσματα κλινικών μελετών και με τη βοήθεια των εργαστηριακών εξετάσεων χωρίς να εξατομικεύεται η δόση τους. Από τις μελέτες αυτές περιεγράφηκε το φαινόμενο της αντίστασης στη θεραπεία, δηλαδή η μεταβλητότητα της απόκρισης των αιμοπεταλίων στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και πιο συγκεκριμένα στην κλοπιδογρέλη. Οι ασθενείς οι οποίοι δεν εμφανίζουν καλή απόκριση σε αυτή την αγωγή ονομάστηκαν ως "πτωχά ανταποκρινόμενοι" ή "ανθεκτικοί στην θεραπεία". Για τον έλεγχο της απόκρισης των ασθενών με καρδιαγγειακή νόσο στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή χρησιμοποιήθηκαν οι δοκιμασίες ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας, προκειμένου να βοηθήσουν στην εξατομίκευση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Λόγω του ότι η αντιαιμοπεταλιακή αγωγή μειώνει τον κίνδυνο θρόμβωσης αλλά αυξάνει τον αιμορραγικό κίνδυνο, οι PFTs χρησιμοποιήθηκαν στην κλινική πρακτική για να βοηθήσουν στην εύρεση των ασθενών που κινδυνεύουν από θρόμβωση ή αιμορραγία και στην παρακολούθηση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Ωστόσο, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η πλειοψηφία των τεχνικών αυτών εμφανίζει πολλές αδυναμίες με αποτέλεσμα να μην αναπαράγει πραγματικές συνθήκες που σχετίζονται με τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων *in vivo*. Για παράδειγμα δεν μπορεί να γίνει τυποποίηση της διαδικασίας και έτσι τα αποτελέσματα διαφορετικών εργαστηρίων να μην μπορούν να συγκριθούν.

Υπάρχουν κάποιοι παράμετροι οι οποίοι θα μπορούσαν να βοηθήσουν στη βελτίωση των δοκιμών της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων. Όπως να μην γίνεται προσθήκη συντηρητικού στο αίμα, να χρησιμοποιείται ένας διεγέρτης και όχι μεμονωμένοι αγωνιστές και επίσης να ελέγχεται η ικανότητα του ινωδολυτικού συστήματος. Μεγάλες κλινικές μελέτες δεν μπόρεσαν να αποδείξουν ότι η εξατομίκευση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής βάση PFTs θα μπορούσε να βοηθήσει σε ένα καλύτερο κλινικό αποτέλεσμα σε ασθενείς που έχουν κάνει PCI. Βέβαια οι μελέτες συνεχίζονται και υπόσχονται πολλά για το μέλλον.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΑΝΤΙΚΡΟΟΥΝ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

7.1 Μελέτη GRAVITAS (Gauging Responsiveness with a VerifyNow Assay-Impact on Thrombosis and Safety)

Η GRAVITAS είναι μια τυχαιοποιημένη μελέτη. Συμμετείχαν 5.429 ασθενείς οι οποίοι έλαβαν ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη. Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε έλεγχο αιμοπεταλιακής λειτουργίας με την μέθοδο VerifyNow μετά από 12 με 24 ώρες από επέμβαση PCI. Το 41% των ασθενών είχαν υψηλή δραστικότητα αιμοπεταλίων (HTPR), PRU>230 με βάση τη μέθοδο VerifyNow. Αυτοί τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν κλοπιδογρέλη 75mg ή 150mg για διάστημα 6 μηνών. Η υψηλότερη δόση κλοπιδογρέλης δεν υπερέχει καθώς δεν μειώθηκαν οι καρδιαγγειακοί θάνατοι. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς με HTPR που ήταν υπό κλοπιδογρέλη έλαβαν ισχυρότερο αναστολέα υποδοχέων P2Y₁₂, διπλασιάζοντας όμως τη δόσης τους.⁵²

7.2 Μελέτη TRIGGER-PCI (Testing platelet Reactivity In patients under Going elective stentplacement ob clopidogrel to Guide alternative therapy with prasugrel)

Η TRIGGER-PCI μελέτησε την αποτελεσματικότητα της αντ αιμοπεταλιακής αγωγής της κλοπιδογρέλης και της πρασουγρέλης σε ασθενείς με υψηλή HTPR μετά από PCI. Συμμετείχαν 422 ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσο (CAD) με HTPR (PRU>208) με δοκιμή VerifyNow. Μετά από PCI έλαβαν πρασουγρέλη 10mg ή κλοπιδογρέλη 75mg ημερησίως. Η μελέτη διεκόπη πρόωρα λόγω της χαμηλότερης επίπτωσης του πρωτεύοντος καταληκτικού σημείου που ήταν το έμφραγμα του μυοκαρδίου και ο καρδιαγγειακός θάνατος. Σε κανέναν ασθενή που έλαβε πρασουγρέλη έναντι σε έναν που έλαβε κλοπιδογρέλη δεν εμφανίστηκε έμφραγμα του μυοκαρδίου ή καρδιαγγειακός θάνατος στους πρώτους έξι μήνες, ενώ μείζων αιμορραγία εμφανίστηκε σε τρεις ασθενείς οι οποίοι έλαβαν πρασουγρέλη έναντι ενός που έλαβε κλοπιδογρέλη στους πρώτους 6 μήνες⁵³

7.3 Μελέτη ARCTIC (Assessment by a Double Randomization of a Conventional Antiplatelet Strategy versus a Monitoring-guided Strategy for Drug-Eluting Stent Implantation and of Treatment Interruption versus Continuation One year after Stenting.

Η μελέτη ARCTIC είναι διεθνής, open-label μελέτη με διπλή τυχαιοποίηση. Στη μελέτη αυτή 2.446 ασθενείς με εμφύτευση DES έλαβαν μέρος σε μια στρατηγική χρήσης δοκιμασιών ελεγχού αιμοπεταλιακής λειτουργίας με προσαρμογή της αντιαιμοπεταλιακής θεραπείας ή μια συμβατική στρατηγική χωρίς προσαρμογή της δόσης του φαρμάκου η οποία αξιολογήθηκε μετά από έναν χρόνο παρακολούθησης. Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν η εμφάνιση θνησιμότητας, θρόμβωση stent, εγκεφαλικό επεισόδιο και έμφραγμα του μυοκαρδίου μη θανατηφόρο καθώς και επείγουσα PCI. Ήταν η πρώτη μελέτη για την αξιολόγηση των PFT με ασπιρίνη και θειενοπυριδίνη. Η αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων μελετήθηκε με την τεχνική VerifyNow, ως HTPR ορίζεται $PRU > 235$ ή $inh > 15\%$ όπως υπολογίζεται από τη VerifyNow P2Y12. Στους ασθενείς που έλαβαν κλοπιδογρέλη η HTPR εμφανίστηκε στο 34,5% ενώ σε αυτούς που τους χορηγήθηκε ασπιρίνη 7,6%. Η υψηλή HTPR της κλοπιδογρέλης απαιτεί τη χρήση αναστολέων GPIIb/IIIa με κλοπιδογρέλη ή σε αλλαγή με πρασουγρέλη. Η αναπροσαρμογή της δόσης δεν κατάφερε να μειώσει το πρωτεύον καταληκτικό σημείο. Δεν υπήρχαν διαφορές στη μείζων αιμορραγία. Η κριτική που δέχτηκε η μελέτη ήταν μεγάλη λόγω του ότι τα περιστατικά που παρακολουθούσε ήταν χαμηλού θρομβωτικού κινδύνου και κατά κύριο λόγο χρησιμοποιήθηκε η κλοπιδογρέλη⁵⁴.

7.4 Μελέτη ANTARCTIC (Assessment of a Normal versus Tailored dose of prasugrel after stenting in patients Aged >75 years to Reduce the Composite of bleeding, stent Thrombosis, and Ischemic Complications)

Η Antarctic ήταν open label, τυφλή και τυχαιοποιημένη μελέτη. Συμμετείχαν 877 ηλικιωμένοι ασθενείς άνω των 75 ετών με ACS που υποβλήθηκαν σε επείγουσα PCI. Το καταληκτικό σημείο ήταν εγκεφαλικό επεισόδιο, αιμορραγικές επιπλοκές, έμφραγμα μυοκαρδίου και θρόμβωση stent. Χώρισε του ασθενείς σε δύο ομάδες. Το ένα γκρουπ έλαβε πρασουγρέλη 5mg χωρίς παρακολούθηση της δόσης. Το δεύτερο γκρουπ έλαβε και αυτό πρασουγρέλη 5mg με παρακολούθηση της δόσης και προσαρμογή της, με τη μέθοδο VerifyNow, δύο εβδομάδες μετά την τυχαιοποίηση και μετά από 2 εβδομάδες μετά την προσαρμογή της δόσης. Οι ασθενείς με $PRU \geq 208$ έλαβαν πρασουγρέλη 10mg/ημέρα, ασθενείς με $85 < PRU < 208$ έλαβαν πρασουγρέλη 5mg, ενώ ασθενείς με $PRU \leq 85$ άλλαξαν

σε κλοπιδογρέλη 75mg/ημέρα. Τα ποσοστά τόσο των αιμορραγικών επεισοδίων όσο και των καρδιαγγειακών συμβαμάτων δεν διέφεραν. Στο συμπέρασμα στο οποίο κατέληξε η μελέτη ARCTIC ήταν πως ο έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας βοήθησε στη διαστρωμάτωση του αιμορραγικού και θρομβωτικού κινδύνου των ηλικιωμένων ασθενών χωρίς όμως να υπάρχει κλινικό όφελος από την εναλλαγή της αγωγής βάση των εργαστηριακών ευρημάτων.⁵⁵

7.5 ISAR-ASPI (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen- Aspirin and Platelet Ihibition)

Στη μελέτη Isar-aspi συμμετείχαν 7090 ασθενείς οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε PCI. Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ήταν ο θάνατος ή η θρόμβωση stent μέσα σε ένα χρόνο. Η μέθοδος ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας που χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων ήταν το Multiplate. Μεταξύ των ομάδων της υψηλής αντιδραστικότητας στην ασπιρίνη (HTPR) και της χαμηλής αντιδραστικότητας (LTPR) δεν υπήρξε διαφορά στην επίπτωση της αιμορραγίας. Ωστόσο οι ασθενείς με HTPR είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα θανάτου ή θρόμβωσης του stent στον έναν χρόνο⁵⁶.

Οι παραπάνω μελέτες χρησιμοποίησαν ασθενείς χαμηλού θρομβωτικού κινδύνου, αυτό είχε σαν αποτέλεσμα να μην οδηγήσουν σε συμπεράσματα υπέρ των δοκιμασιών ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας.

ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΥΠΟΣΤΗΡΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

7.6 Μελέτη EFFECIENT (The Effect of high dose Clopidogrel treatment)

Η κλινική δοκιμή EFFECIENT είχε ως σκοπό να αξιολογήσει την εμφάνιση καρδιαγγειακών συμβάντων μετά από PCI σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία υψηλής δόσης κλοπιδογρέλης. Στη μελέτη συμμετείχαν 192 ασθενείς. Δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες. Στη πρώτη ομάδα συμμετείχαν 98 ασθενείς οι οποίοι δεν είχαν αντίσταση στην κλοπιδογρέλη και λάμβαναν 75mg. Στη δεύτερη ομάδα συμμετείχαν 47 ασθενείς που έλαβαν 75mg κλοπιδογρέλης και στην τρίτη ομάδα 47 ασθενείς με 150mg κλοπιδογρέλης για ένα μήνα. Ο έλεγχος αντίστασης της κλοπιδογρέλης έγινε με τη μέθοδο VerifyNow P2Y12. Το

συμπέρασμα της έρευνα ήταν ότι οι ασθενείς που συνέχισαν τη θεραπεία με την υψηλή δόση κλοπιδογρέλης είχαν καλύτερα αποτελέσματα για την πρόληψη καρδιαγγειακών συμβαμάτων χωρίς να έχουμε αύξηση των αιμορραγικών επεισοδίων⁵⁷.

7.7 ADAPT-DES (Assessment of Dual Antiplatelet Therapy With Drug Eluting Stents)

Στη μελέτη ADAPT-DES συμμετείχαν 8.575 ασθενείς. Μελετήθηκε η συσχέτιση της υψηλής αντιδραστικότητας αιμοπεταλίων και θρομβώσεων του stent τον πρώτο μήνα και στο ένα έτος μετά από PCI. Η υψηλή αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων ορίστηκε ως PRU>208, με παρουσία θρόμβωσης της ενδοστεφανιαίας πρόσθεσης. Η τεχνική η οποία χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της μέτρησης της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων ήταν η VerifyNow. Οι τιμές οι οποίες ήταν PRU >230 είχαν μεγαλύτερη ειδικότητα. Ενώ όπως αποδείχθηκε δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ θρομβώσεων και απόκριση στην ασπιρίνη (ARU)⁵⁸

7.8 Μελέτη TROPICAL -ACS (Testing Responsiveness To Platelet Inhibition On Chronic Antiplatelet Treatment For Acute Coronary Syndromes)

Η μελέτη TROPICAL-ACS είναι μια ερευνητική, τυχαιοποιημένη, τυφλή και πολυκεντρική δοκιμή. Αυτό που την ξεχώρισε από τις υπόλοιπες μελέτες είναι ότι χρησιμοποίησε μια πρωτοποριακή ιδέα στην οποία γινόταν αποκλιμάκωση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής με βάση τον έλεγχο αιμοπεταλιακής λειτουργίας στους ασθενείς που είχαν υψηλό θρομβωτικό κίνδυνο (de escalation). Στη μελέτη συμμετείχαν 2600 ασθενείς ηλικίας 18-80 ετών με ACS που υποβλήθηκαν σε PCI, θετική τροπονίνη και απουσία προηγούμενου αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου. Το καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν έμφραγμα του μυοκαρδίου, εγκεφαλικό επεισόδιο, καρδιαγγειακός θάνατος και αιμορραγικός βαθμός ≥ 2 που ορίζεται σύμφωνα με τα κριτήρια BARC 12 μήνες μετά την τυχαιοποίηση. Δημιουργήθηκαν δύο ομάδες ασθενών, στην πρώτη ομάδα η οποία ορίστηκε σαν ομάδα ελέγχου οι ασθενείς έλαβαν ασπιρίνη και πρασουγρέλη. Στην δεύτερη ομάδα που ορίστηκε ως ομάδα υπό εξέταση οι ασθενείς έλαβαν για 7 ημέρες μετά από το εξιτήριο ασπιρίνη και πρασουγρέλη, ακολουθούμενη από 7 ημέρες ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη. Έπειτα αφού είχαν λάβει για μια εβδομάδα ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη γινόταν έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας με Multiplate Analyzer με βάση το οποίο διαμορφωνόταν η θεραπεία τους. Δηλαδή αυτοί που παρουσίαζαν ικανοποιητική αναστολή των αιμοπεταλίων

παραμέναν στη αγωγή με κλοπιδογρέλη, ενώ αυτοί που παρουσίαζαν αυξημένη συσσώρευση αιμοπεταλίων αλάζαν σε ασπιρίνη και πρασουγρέλη⁵⁹.

Από την μελέτη αυτή εξήχθησαν τα εξής σημαντικά αποτελέσματα:

1) Οι ασθενείς με οξέα στεφανιαία συμβάματα ανεξαρτήτως αγωγής που τους χορηγήθηκε, κλοπιδογρέλη ή πρασουγρέλη, εμφάνισαν παραπλήσιο θρομβωτικό κίνδυνο. 2) Η μεταπήδηση από κλοπιδογρέλη σε πρασουγρέλη στους ασθενείς με HTPR μείωσε τον κίνδυνο, σε αυτούς που μειώθηκε και η δραστηριότητα των αιμοπεταλίων. Άρα η υψηλή δραστηριότητα των αιμοπεταλίων μπορεί ίσως να θεωρηθεί ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου στα οξέα στεφανιαία συμβάματα με θετικούς βιοδείκτες. 3) Ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας θεωρήθηκε η χαμηλή δραστηριότητα των αιμοπεταλίων, ανεξαρτήτως αγωγής με πρασουγρέλη ή κλοπιδογρέλη.⁵⁹

Επιπλέον συμπεράσματα λήφθηκαν, καθώς έγινε έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας και στην ομάδα ελέγχου. Πιο συγκεκριμένα λοιπόν, η αντίσταση στην κλοπιδογρέλη ήταν ένα συχνό φαινόμενο που άγγιζε το 40% και επηρεαζόταν από κλινικούς παράγοντες όπως για παράδειγμα η παχυσαρκία, ο σακχαρώδης διαβήτης και η ηλικία. Η αλλαγή της αγωγής σε πρασουγρέλη σε περιπτώσεις υψηλής δραστηριότητας των αιμοπεταλίων μείωσε τα ισχαιμικά συμβάντα στη κλίμακα της κλοπιδογρέλης επί μη αντίστασης. Επιπλέον θεωρείται πιο αποτελεσματικό να γίνεται αλλαγή σε έναν πιο ισχυρό αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα παρά να αυξάνεται η δόση της κλοπιδογρέλης⁵⁹.

Τα συμπεράσματα της TROPICAL-ACS οδήγησαν στη βελτίωση της θέσης του εργαστηριακού ελέγχου της δραστηριότητας των αιμοπεταλίων σε ένδειξη IIb στις πρόσφατες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρίας, καθώς κάλυψε το κενό των μεθόδων αιμοπεταλιακής λειτουργίας και στους ασθενείς με υψηλό θρομβωτικό κίνδυνο ιδιαίτερα σε εκείνους με ACS⁵⁹.

7.9 Μελέτη SWITCH POBA (Predictor of Bleeding with Antiplatelet drugs)

Στη μελέτη Switch roba συμμετείχαν ασθενείς με ACS και χαμηλή δραστηριότητα αιμοπεταλίων που προσδιορίστηκε με την τεχνική VASP (PRI VASP <10%). Έγινε αλλαγή της θεραπείας από πρασουγρέλη 10mg σε κλοπιδογρέλη 75mg, αυτό είχε ως αποτέλεσμα να

μειωθούν τα αιμορραγικά επεισόδια το πρώτο μήνα παρακολούθησης. Η μελέτη αυτή έδειξε πως η προσαρμογή της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής μπορεί να μειώσει την εμφάνιση αιμορραγικών επεισοδίων μετά από PCI σε ασθενείς οι οποίοι παρουσιάζουν LTPR.⁶⁰

7.10 Μελέτη TARGET CABG (Ticagrelor or Antiplatelet Therapy to Reduce Graft Events and Thrombosis)

Η μελέτη TARGET CABG είναι μια μονοκεντρική μη τυχαιοποιημένη δοκιμή. Συμμετείχαν 180 ασθενείς. Ο σκοπός της ήταν ο έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας με θρομβοελαστογραφία σε ασθενείς που τους χορηγήθηκε κλοπιδογρέλη και υποβλήθηκαν σε χειρουργική επέμβαση παράκαμψης στεφανιαίας αρτηρίας (CABG). Το πρώτιστο καταληκτικό σημείο ήταν η παροχέτευση θωρακικού σωλήνα στο πρώτο 24ώρο ενώ το δευτερεύον καταληκτικό σημείο και το πιο σημαντικό ήταν η μετάγγιση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Το συμπέρασμα της κλινικής μελέτης αυτής ήταν ότι οι ασθενείς που έλαβαν κλοπιδογρέλη σε σχέση με εκείνους που δεν έλαβαν είχαν τα ίδια ποσοστά αιμορραγίας, ενώ οδήγησε σε μείωση του χρόνου αναμονής για το χειρουργείο κατά 50%. Το συμπέρασμα αυτό είχε σαν αποτέλεσμα να καταγραφεί στις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικάνικης Εταιρείας Χειρουργών Θώρακος το 2012. Οι οποίες αναφέρουν πως ο έλεγχος αιμοπεταλιακής λειτουργίας μπορεί να προκαθορίσει τους ασθενείς που έχουν ικανή λειτουργικότητα αιμοπεταλίων και επομένως μπορούν να χειρουργηθούν με μικρή απώλεια αίματος.⁶¹

Με βάση τις παραπάνω μελέτες μπορούμε να καταλήξουμε στο συμπέρασμα πως οι δοκιμασίες ελέγχου αιμοπεταλιακής λειτουργίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη πρόβλεψη θρομβωτικών και αιμορραγικών συμβαμάτων σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε PCI παρ' όλου που ακόμη δεν υπάρχουν αποδείξεις σχετικά με την διεξαγωγή τους ως εξέταση ρουτίνας. Ενώ φαίνεται ότι οι PFTs έχουν σημαντικό ρόλο στα χειρουργεία σχετικά με τη σωστή επιλογή του χρόνου επέμβασης και τη σωστή θεραπευτική προσέγγιση σε περίπτωση αιμορραγίας.

Κεφάλαιο 8: Κλινική Εφαρμογή Αντιπηκτικής Αγωγής

Τα VKA πρέπει να ελέγχονται συστηματικά με τη μέτρηση του INR. Επίσης η UFH και LWMH θα πρέπει να παρακολουθούνται. Η ανακάλυψη των DOACS οδήγησε στη μη τακτική εργαστηριακή διερεύνηση της αντιπηκτικής αγωγής σε σχέση με τα VKA. Ωστόσο, υπάρχουν κάποιες συγκεκριμένες περιπτώσεις στις οποίες είναι αναγκαίος ο προσδιορισμός της. Όπως για παράδειγμα: 1) πριν από χειρουργείο, 2) σε περίπτωση αιμορραγίας, 3) ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, 4) τη λήψη αντιδότη 5) σε ασθενείς που δεν συμμορφώνονται με τη θεραπευτική αγωγή. Παρακάτω παρατίθενται ποιές ομάδες ασθενών θα πρέπει να ελέγχονται εργαστηριακά.

8.1 Ασθενείς με ηπατική ανεπάρκεια

Δυστυχώς δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για αυτούς τους ασθενείς γιατί συνήθως αποκλείονται από τις κλινικές δοκιμές φάσης III των DOAC. Ένα μέρος όλων των DOACS αποβάλλεται από το ήπαρ. Σε ασθενείς με σοβαρή κίρρωση δεν ενδείκνυται η χορήγηση DOAC. Τόσο η αιμορραγία όσο και τα θρομβοεμβολικά επεισόδια είναι περισσότερα στους ασθενείς με κίρρωση και επομένως πρέπει να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή στους ασθενείς που λαμβάνουν DOAC και έχουν κίρρωση. Απαιτούνται περισσότερες μελέτες για να επιβεβαιωθεί η κλινική χρησιμότητα της παρακολούθησης των DOACS.⁶²

8.2 Ηλικιωμένοι ασθενείς

Πολλές ανεπιθύμητες ενέργειες των DOACS συσχετίστηκαν με τη μεγάλη ηλικία των ασθενών αν και σε σύγκριση με τη βαρφαρίνη τα DOACS έχουν καλύτερο προφίλ στους ηλικιωμένους. Στη μελέτη ENGAGE ασθενείς άνω των 75 ετών που τους χορηγήθηκε μειωμένη δόση edoxaban εμφάνισαν χαμηλότερα ποσοστά αιμορραγίας. Η χορήγηση του dabigatran 150mg δύο φορές την ημέρα και του rivaroxaban 20mg μία φορά την ημέρα αύξησε τα ποσοστά μείζονος αιμορραγίας στους ηλικιωμένους ασθενείς σε σχέση με αυτούς που έλαβαν βαρφαρίνη.⁶²

Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά των ανεπιθύμητων παρενεργειών μεταξύ νέων ασθενών και ηλικιωμένων ασθενών με κοιλιακή μαρμαρυγή που έλαβαν rivaroxaban. Ωστόσο, σε άλλη μελέτη στην οποία συμμετείχαν ασθενείς άνω των 75 ετών με κοιλιακή μαρμαρυγή στους οποίους χορηγήθηκε κάποιο DOAC παρουσίασαν

αιμορραγία και επιδείνωση νεφρικής λειτουργίας. Γι αυτό το λόγο είναι πολύ σημαντικό να παρακολουθείται το GFR σε αυτήν ομάδα των ασθενών. Επίσης η υπολευκωματιναιμία που την συναντάμε στους ηλικιωμένους έχει ενοχοποιηθεί για τα αυξημένα επίπεδα αιμορραγιών σε αυτούς που λαμβάνουν rivaroxaban.⁶²

Οι ηλικιωμένοι ασθενείς ανήκουν σε έναν ευαίσθητο πληθυσμό. Τα αιμορραγικά επεισόδια μπορεί να είναι πιο συχνά και επικίνδυνα σε αυτούς που λαμβάνουν DOAC λόγω των συννοσηροτήτων τους. Τα επίπεδα των DOACS μπορεί να είναι εκτός στόχου λόγω της διακύμανσης του χαμηλού ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR), της υπολευκωματιναιμίας και της πολυφαρμακευτικής αγωγής. Ίσως λοιπόν γι αυτό το λόγο αποτελεί μια ομάδα που θα πρέπει να γίνεται εργαστηριακή παρακολούθηση των DOACS, ωστόσο βέβαια απαιτούνται και άλλες μελέτες για την επαλήθευση της κλινικής χρησιμότητας.⁶²

8.3 Ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε χειρουργικές επεμβάσεις προγραμματισμένες ή έκτακτες

Η διακοπή των DOACS είναι αναγκαία πριν από χειρουργικές επεμβάσεις. Γενικά διακόπτονται δύο έως τρεις μέρες ανάλογα με το κίνδυνο αιμορραγίας και ξαναρχίζουν έπειτα από 24 με 48 ώρες. Άρα στην πλειοψηφία των ασθενών δεν απαιτείται η εργαστηριακή παρακολούθηση των φαρμάκων, εξαίρεση αποτελούν ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και ασθενείς που λαμβάνουν αλληλοεπιδρώντα φάρμακα.

Σε μία επείγουσα χειρουργική επέμβαση η παρακολούθηση των DOACS μπορεί να φανεί κλινικά σημαντική. Οι κατευθυντήριες οδηγίες δίνουν κάποια κατώτατα όρια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Τα στοιχεία όμως για τα ακριβή αυτά όρια είναι ελάχιστα. Παρ' όλα αυτά όμως η χειρουργική επέμβαση δεν θα πρέπει να διεξαχθεί έως ότου η δραστηριότητα των DOACS στο πλάσμα είναι κάτω από αυτά τα όρια. Αλλιώς θα πρέπει να χορηγηθεί το κατάλληλο αντίδοτο σε περιπτώσεις όπου η επέμβαση δεν μπορεί να καθυστερήσει και η συγκέντρωση του DOAC είναι >30 ng/ml. Και σε αυτή τη περίπτωση απαιτούνται επιπλέον μελέτες για τον προσδιορισμό των ορίων και για το πότε θα πρέπει να γίνεται αναστροφή της αντιπηκτικής αγωγής⁶².

Όταν είναι αναγκαία η θρομβολυτική θεραπεία όπως στο εγκεφαλικό επεισόδιο, θα πρέπει να μετρηθούν τα επίπεδα φαρμάκου στο πλάσμα για την ασφάλεια της διαδικασίας.

Σε ορισμένες περιπτώσεις που δεν είναι δυνατή η εκτίμηση για την ικανοποιητική περίοδο διακοπής της θεραπείας η εργαστηριακή παρακολούθηση των DOACS μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες στον κλινικό ιατρό⁶².

8.4 Ασθενείς με ακραίο σωματικό βάρος

Σε ασθενείς όπου το βάρος τους είναι <50 kg ή >120 kg ίσως πρέπει να γίνει τροποποίηση της δοσολογίας των αντιπηκτικών φαρμάκων, να λάβουν δηλαδή χαμηλότερες ή υψηλότερες δόσεις σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Μια μελέτη η οποία περιελάμβανε παχύσαρκους ασθενείς έδειξε ότι υπήρχε αναστολή της παραγωγής της θρομβίνης σε συγκεντρώσεις rivaroxaban μεγαλύτερες από 80ng/mL κάτι που δεν ίσχυε σε συγκεντρώσεις μικρότερες από 50ng/mL. Στο dabigatran έχουμε αύξηση των επιπέδων πλάσματος σε ασθενείς με βάρος <50 kg

Επειδή λίγες μελέτες έχουν γίνει για την ασφάλεια των DOACS σε ασθενείς με ακραίο βάρος, είναι απαραίτητο αυτοί οι ασθενείς να παρακολουθούνται εργαστηριακά ή να λαμβάνουν κουμαρινικά.⁶²

8.5 Ασθενείς με υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας

Σε ασθενείς οι οποίοι διατρέχουν υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας σύμφωνα με το HAS-BLED score και λαμβάνουν DOAC θα ήταν περισσότερο ασφαλής η παρακολούθηση των συγκεντρώσεων των φαρμάκων στο πλάσμα.⁶²

8.6 Ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια

Όλα τα DOACS αποβάλλονται από τους νεφρούς, με τη μεγαλύτερη νεφρική αποβολή να την κατέχει το dabigatran σε ποσοστό που αγγίζει το 80%. Ο χαμηλός ρυθμός σπειραματικής διήθησης σχετίζεται με υψηλά ποσοστά αιμορραγίας και γι αυτό το λόγο σε ασθενείς με $GFR < 50$ mL/min γίνονται αναπροσαρμογές στη δόση τους⁶². Σε ασθενείς με $CrCl > 30$

mg/dL συστήνεται η δόση των 150mg, σε CrCl 15-30mg / dL 75mg δύο φορές την ημέρα ενώ η δόση μειώνεται στα 110 mg στις εξής περιπτώσεις : 1)ασθενείς με ηλικία>80, 2) ταυτόχρονη λήψη verapamil και 3) σε ασθενείς με υψηλό αιμορραγικό. Σε ασθενείς με CrCl <30mg/dL δεν προτείνεται η χορήγηση του φαρμάκου. Σε ασθενείς με CrCl > 50mg/dL συστήνεται η χορήγηση rivaroxaban σε δόση 20mg ενώ σε ασθενείς με CrCl <50mg/dL συστήνεται δόση 15 mg μία φορά ημερησίως²⁶. Το apixaban χορηγείται σε δόση 5mg δύο φορές ημερησίως σε ασθενείς με σε ασθενείς με CrCl >50mg/dL ενώ σε ασθενείς με CrCl <30mg/dL χορηγείται σε δόση 2.5mg δύο φορές ημερησίως. Το apixaban χορηγείται σε δόση 2.5 mg όταν πληρούνται τα 2 από τα εξής 3 κριτήρια: Ηλικία >80 ετών, Κρεατινίνη ορού>1.5mg/dL και σωματικό βάρος <60kg²⁸.

Ασθενείς με χρόνια νεφρική νόσο έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο θρομβοεμβολικών επεισοδίων και αιμορραγίας. Απαιτείται λοιπόν μια πιο στενή παρακολούθηση των συγκεντρώσεων DOACS στο πλάσμα έτσι ώστε να αποφευχθούν ανεπιθύμητες παρενέργειες. Η χρήση των νέων αντιπηκτικών έχει δείξει καλύτερη αποτελεσματικότητα και ασφάλεια σε σύγκριση με τη χορήγηση των VKA σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Συγκεκριμένα το rivaroxaban στη μελέτη ROCKET-AF που συγκρίθηκε με τη βαρφαρίνη έδειξε μικρότερα ποσοστά εγκεφαλικού επεισοδίου. Ενώ φαίνεται ότι οι ασθενείς αυτοί θα μπορούσαν να έχουν όφελος μετρώντας τα επίπεδα των DOACS στο πλάσμα, χρειάζονται όμως περαιτέρω μελέτες για να επιβεβαιωθεί η κλινική χρησιμότητα της παρακολούθησης τους⁶².

8.7 Θρομβοεμβολικά και αιμορραγικά επεισόδια

Σε περιπτώσεις που έχουμε την εμφάνιση ενός αιμορραγικού ή θρομβωτικού επεισοδίου σε ασθενείς που λαμβάνει DOAC θα πρέπει να γίνει διαχωρισμός αν οφείλεται στα επίπεδα φαρμάκου που μπορεί να βρίσκονται εκτός στόχου ή σε μια παρενέργεια του ίδιου του φαρμάκου⁶².

Η παρακολούθηση των DOACS μπορεί να γίνει στο τμήμα επειγόντων περιστατικών και σε περιπτώσεις που έχουμε απειλητική για τη ζωή αιμορραγία να χορηγηθούν τα κατάλληλα αντίδοτα. Τα αντίδοτα για τα DOACS μπορούν να θεωρηθούν ως ένα μέσο στρατηγικής για την διαχείρισης της αιμορραγίας. Ένα κατώτατο όριο >50ng/ml μπορεί να χρησιμοποιηθεί

για να εξεταστεί αν είναι αναγκαία η χορήγηση αντιδότη. Η αναστροφή δεν προτείνεται σε περιπτώσεις όπου η αιμορραγία μπορεί να αντιμετωπιστεί με απλά αιμοστατικά μέτρα.⁶²

8.8 Λάθη στη δοσολογία

Τα λάθη τα οποία σχετίζονται με τη λήψη δοσολογίας, συνήθως της υπερδοσολογίας, των DOACS είναι μια πολύ καλή ένδειξη για την παρακολούθηση τους. Αν και δεν είναι απαραίτητο ότι οι υψηλές δόσεις των DOACS θα οδηγήσουν σε αιμορραγία η οποία θα είναι επικίνδυνη για τον ασθενή. Είναι κλινικά χρήσιμη η γνώση των επιπέδων των φαρμάκων⁶².

8.9 Δόση Off-Label

Έρευνες έχουν δείξει ότι περίπου το 25% των ασθενών λαμβάνουν μη σωστή δόση των DOACS, καθώς δεν ακολουθούνται τα εγκεκριμένα κριτήρια δοσολογίας. Η υποδοσολογία οδηγεί στην αύξηση των θρομβοεμβολικών επεισοδίων ενώ η υπερδοσολογία στην αύξηση των αιμορραγικών επεισοδίων⁶².

8.10 Αλληλεπιδράσεις φαρμάκων

Τα DOACS αλληλοεπιδρούν συχνά με άλλα φάρμακα. Η πλειοψηφία αυτών των φαρμάκων δεν αντενδείκνυται καθώς θα μπορούσαν να εφαρμοστούν μέτρα πρόληψης όπως η παρακολούθηση των επιπέδων των DOACS όταν υπάρχει συγχορήγηση φαρμάκων.

Μελετήθηκε η χορήγηση των DOACS σε σχέση με φάρμακα τα οποία συνταγογραφούνται. Η συγχορήγηση Amiodarone και fluconazole εμφάνισε υψηλά ποσοστά αιμορραγίας. Η συγχορήγηση atorvastatin συσχετίστηκε με χαμηλά επίπεδα αιμορραγίας. Επίσης χαμηλό κίνδυνο αιμορραγίας είχαν και οι ασθενείς οι οποίοι έλαβαν ταυτόχρονα digoxin, verapamil, cyclosporine και macrolides.⁶²

8.11 Έλεγχος συμμόρφωσης των ασθενών

Οι αμφιβολίες σχετικά με το εάν οι ασθενείς λαμβάνουν την αγωγή τους, θα μπορούσαν να περιοριστούν με την παρακολούθηση των συγκεντρώσεων των DOACS στο αίμα. Βέβαια, τα κατώτερα επίπεδα που επιτυγχάνονται μετά το πρώτο χάπι και το επόμενο είναι ίδια. Επομένως, δεν μπορεί η εργαστηριακή παρακολούθηση των DOACS να ελέγξει τη συμμόρφωση των ασθενών μακροπρόθεσμα αλλά μόνο να επιβεβαιώσει τη λήψη της τελευταίας δόσης⁶².

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η αντιθρομβωτική αγωγή αναφέρεται στη χορήγηση φαρμάκων τα οποία είτε εμποδίζουν τη δημιουργία θρόμβου είτε στη λύση του υπάρχοντος θρόμβου. Χρησιμοποιείται κυρίως για τη πρόληψη θρομβοεμβολικών επεισοδίων όπως η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση, η πνευμονική εμβολή το εγκεφαλικό επεισόδιο και το έμφραγμα του μυοκαρδίου. Η κατάλληλη επιλογή των αντιθρομβωτικών φαρμάκων εξαρτάται τόσο από το είδος της νόσου, το ιστορικό του ασθενούς και τον κίνδυνο αιμορραγίας που διατρέχει.

Η εργαστηριακή διερεύνηση την αντιαιμοπεταλιακής αγωγής μπορεί εν μέρει να βοηθήσει στη αξιολόγηση της λειτουργίας των αιμοπεταλίων του ασθενούς, στην παρακολούθηση της ανταπόκρισής τους στη θεραπεία και στην πρόγνωση μιας πιθανής αιμορραγίας ή ενός θρομβωτικού επεισοδίου. Ωστόσο όμως λόγω των μη ιδανικών αποτελεσμάτων σε μεγάλες κλινικές μελέτες έχει περιοριστεί να χρησιμοποιείται για ερευνητικούς κυρίως σκοπούς ή σε πολύ συγκεκριμένες ομάδες ασθενών.

Η εργαστηριακή διερεύνηση της αντιπηκτικής αγωγής βοηθάει στην αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια της αντιπηκτικής αγωγής έτσι ώστε να περιοριστούν ανεπιθύμητες επιπλοκές. Στην περίπτωση των κουμαρινικών είναι απαραίτητη για την προσαρμογή της δόσης τους. Στα νεότερα αντιπηκτικά από τους στόματος δεν είναι υποχρεωτική, εξαίρεση αποτελούν ορισμένες ομάδες ασθενών, και έτσι μπορεί να παραληφθεί. Βέβαια στη περίπτωση των DOACS είναι απαραίτητο να συνεχιστούν οι κλινικές μελέτες για να προσδιοριστεί ένα θεραπευτικός εύρος αυτών των φαρμάκων.

Για την εργαστηριακή παρακολούθηση της αντιθρομβωτικής αγωγής και την κλινική της εφαρμογή αυτής απαιτούνται ακόμα πολλές μελέτες για την αξιοπιστία της και τον ουσιαστικό της ρόλο.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Ashorobi D, Ameer MA, Fernandez R. Thrombosis. [Updated 2022 Sep 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538430/>
- 2) LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Antithrombotic Agents. [Updated 2020 Sep 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548679/>
- 3) hachil, J. (2016) “Antiplatelet therapy – a summary for the general physicians,” *Clinical Medicine*, 16(2), pp. 152–160. Available at: <https://doi.org/10.7861/clinmedicine.16-2-152>.
- 4) Gremmel, T., Bhatt, D.L. and Michelson, A.D. (2019) “Laboratory monitoring of Antiplatelet Therapy,” *Platelets*, pp. 653–682. Available at: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813456-6.00036-9>.
- 5) Iqbal AM, Lopez RA, Hai O. Antiplatelet Medications. 2022 Sep 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 30725747.
- 6) Warner, T.D., Nylander, S. and Whatling, C. (2011) “Anti-platelet therapy: Cyclo-oxygenase inhibition and the use of aspirin with particular regard to dual anti-platelet therapy,” *British Journal of Clinical Pharmacology*, 72(4), pp. 619–633. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.03943.x>.
- 7) Eikelboom, J.W. *et al.* (2012) “Antiplatelet drugs,” *Chest*, 141(2). Available at: <https://doi.org/10.1378/chest.11-2293>.
- 8) Arif H, Aggarwal S. Salicylic Acid (Aspirin) [Updated 2022 Jul 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519032/>
- 9) Shin, S. *et al.* (2015) “Effect of triflusal on primary vascular dysregulation compared with aspirin: A double-blind, randomized, crossover trial,” *Yonsei Medical Journal*, 56(5), p. 1227. Available at: <https://doi.org/10.3349/ymj.2015.56.5.1227>.
- 10) Molins-Molina, O. *et al.* (2019) “Photobinding of triflusal to human serum albumin investigated by fluorescence, proteomic analysis, and computational studies,” *Frontiers in Pharmacology*, 10. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.01028>.
- 11) Kerndt CC, Nagalli S. Dipyridamole. [Updated 2022 Jul 4]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5544>
- 12) Balinski AM, Preuss CV. Cilostazol. [Updated 2022 Sep 21]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544363/>

- 13) Beavers CJ, Naqvi IA. Clopidogrel. [Updated 2022 Jul 11]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470539/>
- 14) Sampat PJ, Wadhwa R. Prasugrel. [Updated 2022 Apr 16]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557427/>
- 15) LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Ticagrelor. [Updated 2020 Sep 25]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548529/>
- 16) LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Cangrelor. [Updated 2017 Oct 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548439/>
- 17) Angiolillo, D.J. et al. (2012) "Bridging antiplatelet therapy with cangrelor in patients undergoing cardiac surgery," *JAMA*, 307(3). Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2011.2002>.
- 18) Pan H, Boucher M, Kaunelis D. PAR-1 Antagonists: An Emerging Antiplatelet Drug Class. 2016 Sep 30. In: CADTH Issues in Emerging Health Technologies. Ottawa (ON): Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2016-. 148. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK391027/>
- 19) Alquwaizani, M. et al. (2013) "Anticoagulants: A review of the pharmacology, dosing, and complications," *Current Emergency and Hospital Medicine Reports*, 1(2), pp. 83–97. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40138-013-0014-6>.
- 20) Gupta, A., Udayakumar, D.S. and Saxena, R. (2019) "Laboratory monitoring of anticoagulant therapy," *Hematopathology*, pp. 377–388. Available at: https://doi.org/10.1007/978-981-13-7713-6_22.
- 21) Deaton JG, Nappe TM. Warfarin Toxicity. [Updated 2022 Jul 18]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK431112/>
- 22) "Therapeutic anticoagulation with heparin in critically ill patients with covid-19" (2021) *New England Journal of Medicine*, 385(9), pp. 777–789. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa2103417>.
- 23) LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012-. Fondaparinux. [Updated 2023 Feb 22]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548551/>

- 24) Conway, S.E. *et al.* (2017) “Laboratory and clinical monitoring of direct acting oral anticoagulants: What clinicians need to know,” *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 37(2), pp. 236–248. Available at: <https://doi.org/10.1002/phar.1884>.
- 25) Capell, W.H. *et al.* (2021) “Rationale and design for the study of rivaroxaban to reduce thrombotic events, hospitalization and death in outpatients with covid-19: The prevent-HD study,” *American Heart Journal*, 235, pp. 12–23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2021.02.001>.
- 26) Joppa, S. *et al.* (2018) “A practical review of the emerging direct anticoagulants, laboratory monitoring, and reversal agents,” *Journal of Clinical Medicine*, 7(2), p. 29. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm7020029>.
- 27) Ahrens I, Peter K, Lip GY, Bode C. Development and clinical applications of novel oral anticoagulants. Part II. Drugs under clinical investigation. *Discov Med*. 2012 Jun;13(73):445-50. PMID: 22742650.
- 28) Byon, W. *et al.* (2019) “Apixaban: A clinical pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review,” *Clinical Pharmacokinetics*, 58(10), pp. 1265–1279. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40262-019-00775-z>.
- 29)Giugliano, R.P. *et al.* (2013) “Edoxaban versus warfarin in patients with Atrial Fibrillation,” *New England Journal of Medicine*, 369(22), pp. 2093–2104. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1310907>.
- 30) “Edoxaban versus warfarin for the treatment of symptomatic venous thromboembolism” (2013) *New England Journal of Medicine*, 369(15), pp. 1406–1415. Available at: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1306638>.
- 31) McFadyen, J.D., Schaff, M. and Peter, K. (2018) “Current and future antiplatelet therapies: Emphasis on preserving haemostasis,” *Nature Reviews Cardiology*, 15(3), pp. 181–191. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.206>.
- 32) R. Orme, H. Judge, R. Storey, Monitoring antiplatelet therapy, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. 43 (2017) 311–319. doi:10.1055/s-0036-1597298.
- 33) C. Gachet, B. Aleil, Testing Antiplatelet therapy, *European Heart Journal Supplements*. 10 (2008). doi:10.1093/eurheartj/sum081.
- 34) R. Paniccchia, R. Priora, A. Alessandrello Liotta, R. Abbate, Platelet function tests: A comparative review, *Vascular Health and Risk Management*. (2015) 133. doi:10.2147/vhrm.s44469.
- 35) P.P. Wadowski, B. Eichelberger, C.W. Kopp, J. Pultar, D. Seidinger, R. Koppensteiner, *et al.*, Disaggregation following agonist-induced platelet activation in patients on dual antiplatelet therapy, *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 10 (2017) 359–367. doi:10.1007/s12265-017-9746-0.

- 36) B.Y. Alvitigala, L.V. Gooneratne, G.R. Constantine, R.A. Wijesinghe, L.D. Arawwawala, Pharmacokinetic, pharmacodynamic, and pharmacogenetic assays to monitor clopidogrel therapy, *Pharmacology Research & Perspectives*. 8 (2020). doi:10.1002/prp2.686.
- 37) K. Koltai, G. Kesmarky, G. Feher, A. Tibold, K. Toth, Platelet aggregometry testing: Molecular mechanisms, techniques and clinical implications, *International Journal of Molecular Sciences*. 18 (2017) 1803. doi:10.3390/ijms18081803.
- 38) Kim MH, Choi SY, An SY, Serebruany V. Validation of three platelet function tests for bleeding risk stratification during dual antiplatelet therapy following coronary interventions. *Clinical Cardiology*. 2016;39(7):385–90..
- 39) Shaydakov ME, Sigmon DF, Blebea J. Thromboelastography. [Updated 2022 Apr 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537061/>
- 40) C. Yue, Z. Lin, C. Lu, H. Chen, Efficacy of monitoring platelet function by an automated PL-12 analyzer during the treatment of acute cerebral infarction with Antiplatelet Medicine, *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 27 (2021) 107602962110011. doi:10.1177/10760296211001119.
- 41) Sikora, J. et al. (2022) “The importance of platelets response during antiplatelet treatment after ischemic stroke—between benefit and risk: A systematic review,” *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), p. 1043. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms23031043>.
- 42) Le Blanc, J. *et al.* (2020) “Advances in platelet function testing—light transmission aggregometry and beyond,” *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), p. 2636. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm9082636>.
- 43) Peacock, W.F., Rafique, Z. and Singer, A.J. (2016) “Direct-acting oral anticoagulants: Practical considerations for emergency medicine physicians,” *Emergency Medicine International*, 2016, pp. 1–13. Available at: <https://doi.org/10.1155/2016/1781684>.
- 44) Ramos-Esquivel, A. (2015) “Monitoring anticoagulant therapy with New Oral Agents,” *World Journal of Methodology*, 5(4), p. 212. Available at: <https://doi.org/10.5662/wjm.v5.i4.212>.
- 45) Dorgalaleh, A. *et al.* (2020) “Standardization of prothrombin time/international normalized ratio (PT/INR),” *International Journal of Laboratory Hematology*, 43(1), pp. 21–28. Available at: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13349>.
- 46) Božič Mijovski, M. (2019) “Advances in monitoring anticoagulant therapy,” *Advances in Clinical Chemistry*, pp. 197–213. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.01.005>.
- 47) Ignjatovic, V. (2013). *Activated Partial Thromboplastin Time. Methods in Molecular Biology*, 111–120. doi:10.1007/978-1-62703-339-8_8

- 48) Undas, A. (2017) "Determination of fibrinogen and thrombin time (TT)," *Methods in Molecular Biology*, pp. 105–110. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7196-1_8.
- 49)Božič Mijovski, M. (2019) "Božič Mijovski, M. (2019) Božič Mijovski, M. (2019) "Advances in monitoring anticoagulant therapy," *Advances in Clinical Chemistry*, pp. 197–213. Available at: <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2019.01.005>.
- 50) Dunois, C. (2021) "Laboratory monitoring of Direct Oral Anticoagulants (doacs)," *Biomedicines*, 9(5), p. 445. Available at: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050445>.
- 51)Newall, F. (2013) "Anti-factor xa (Anti-Xa) assay," *Haemostasis*, pp. 265–272. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-62703-339-8_19.
- 52) Price, M.J. *et al.* (2009) "Evaluation of individualized clopidogrel therapy after drug-eluting stent implantation in patients with high residual platelet reactivity: Design and rationale of the gravitas trial," *American Heart Journal*, 157(5). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2009.02.012>.
- 53) Trenk, D. *et al.* (2012) "A randomized trial of prasugrel versus clopidogrel in patients with high platelet reactivity on clopidogrel after elective percutaneous coronary intervention with implantation of drug-eluting stents," *Journal of the American College of Cardiology*, 59(24), pp. 2159–2164. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.02.026>.
- 54) Collet, J.-P. *et al.* (2011) "Randomized comparison of platelet function monitoring to adjust antiplatelet therapy versus standard of care: Rationale and design of the assessment with a double randomization of (1) a fixed dose versus a monitoring-guided dose of aspirin and clopidogrel after des implantation, and (2) treatment interruption versus continuation, 1 year after Stenting (Arctic) study," *American Heart Journal*, 161(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2010.09.029>.
- 55) Cayla, G. *et al.* (2016) "Platelet function monitoring to adjust antiplatelet therapy in elderly patients stented for an acute coronary syndrome (Antarctic): An open-label, blinded-endpoint, randomised controlled superiority trial," *The Lancet*, 388(10055), pp. 2015–2022. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)31323-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(16)31323-x).
- 56) Mayer, K. *et al.* (2014a) 'Aspirin treatment and outcomes after percutaneous coronary intervention', *Journal of the American College of Cardiology*, 64(9), pp. 863–871. doi: 10.1016/j.jacc.2014.05.049.
- 57) Ari, H. *et al.* (2012) "The effect of high-dose clopidogrel treatment in patients with clopidogrel resistance (the efficient trial)," *International Journal of Cardiology*, 157(3), pp. 374–380. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2010.12.083>.

- 58) Gupta, R. *et al.* (2017) 'Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents in subjects with peripheral arterial disease', *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 10(3). doi:10.1161/circinterventions.116.004904.
- 59) Sibbing D, Aradi D, Jacobshagen C, *et al.* A randomised trial on platelet function-guided de-escalation of antiplatelet treatment in ACS patients undergoing PCI. Rationale and design of the Testing Responsiveness to Platelet Inhibition on Chronic Antiplatelet Treatment for Acute Coronary Syndromes (TROPICAL-ACS) Trial. *Thromb Haemost.* 2017;117(1):188-195. doi:10.1160/TH16-07-0557
- 60) Deharo, P. *et al.* (2013) 'Effectiveness of switching "hyper responders" from prasugrel to clopidogrel after acute coronary syndrome: The POBA (predictor of bleeding with antiplatelet drugs) switch study', *International Journal of Cardiology*, 168(5), pp. 5004–5005. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.07.121.
- 61) Kulik, A. *et al.* (2021) 'Ticagrelor versus aspirin and vein graft patency after Coronary Bypass: A randomized trial', *Journal of Cardiac Surgery*, 37(3), pp. 563–570. doi:10.1111/jocs.16189.
- 62) Moner-Banet, T., Alberio, L. and Bart, P.-A. (2020) "Does One dose really fit all? on the monitoring of Direct Oral Anticoagulants: A review of the literature," *Hämostaseologie*, 40(02), pp. 184–200. Available at: <https://doi.org/10.1055/a-1113-0655>.