



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

## ***Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία***

"Εργαστηριακή διερεύνηση αντιθρομβωτικής αγωγής και κλινική εφαρμογή αυτής"

υπό

**ΘΕΟΔΩΡΑ-ΝΕΚΤΑΡΙΑ ΣΑΒΒΑΛΑ**

Ειδικευμένου ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΒΙΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

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

Λάρισα, 2021

**Επιβλέπων:** Α. Τσελέπης

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:** Α. Τσελέπης, Σ. Τσιάρα, Κ. Καλαντζή

**Αναπληρωματικό μέλος:** Ν. Ρούσας

**Τίτλος εργασίας στα αγγλικά:**

“Laboratory monitoring of antithrombotic therapy and its clinical application”

[3]

**ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Στην οικογένειά μου...

*Σαββάλα Θεοδώρα-Νεκταρία*

## Περίληψη

**Εισαγωγή:** Η ανάπτυξη των αντιθρομβωτικών παραγόντων αύξησε την επιβίωση και βελτίωσε την ποιότητα της ζωής των ασθενών. Η ανάγκη εξατομικευμένης αντιθρομβωτικής αγωγής για την μείωση είτε των ισχαιμικών είτε των αιμορραγικών επιπλοκών είναι επιθυμητή. Για να επιτευχθεί αυτό χρειάζονται ταχείες, εύκολες στη χρήση αλλά παράλληλα ειδικές και τυποποιημένες δοκιμασίες.

**Μέθοδος:** Στην παρούσα διπλωματική έγινε προσπάθεια καταγραφής των εργαστηριακών μεθόδων διερεύνησης τόσο της αντιαιμοπεταλιακής όσο και της αντιπηκτικής αγωγής. Επίσης έγινε αναφορά και στην κλινική χρήση αυτών των δοκιμασιών βάση δημοσιευμένων μελετών. Για τη συλλογή βιβλιογραφίας η αναζήτηση έγινε σε μηχανές αναζήτησης κυρίως στο pubmed. Δόθηκε έμφαση σε άρθρα και ανασκοπήσεις της τελευταίας πενταετίας. Επιλέχθηκαν άρθρα με βάση την πληρότητα ανάλυσης και επεξήγησης των μηχανισμών εργαστηριακής διερεύνησης.

**Αποτελέσματα:** Αρχής γενομένης της αντιθρομβωτικής αγωγής, δημιουργήθηκαν πλείστες εργαστηριακές δοκιμασίες που να ελέγχουν τόσο το κομμάτι της πήξης όσο και το αντιπηκτικό αποτέλεσμα των φαρμάκων αυτών. Ο έλεγχος της πρωτογενούς αιμόστασης (δηλαδή των παθοφυσιολογικών λειτουργιών του ενδοθηλιακού τραυματισμού που οδηγούν στη δημιουργία του ασταθούς, πρωτογενούς, λευκού, αιμοπεταλιακού θρόμβου) και της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής για την εξατομίκευσή της γίνεται με τη χρήση δοκιμασιών λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (plateletfunctiontrials-PFTs). Κύριοι εκπρόσωποι είναι η μέτρηση των επιπέδων της θρομβοξάνης β<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>), οι δοκιμασίες: Light Transmission Aggregometry (LTA), VerifyNow Assay, Εμπέδηση στη Συγκόλληση (Impedance Aggregometry), Θρομοελαστογραφία (TEG), Platelet Function Analyzer (PFA)-100 / Innovance Platelet Function Analyzer (PFA)-200, η κυτταρομετρία ροής (VASP assay). Ο έλεγχος της δευτερογενούς αιμόστασης (δηλαδή του αιμοστατικού καταρράκτη που ακολουθεί την αιμοπεταλιακή ενεργοποίηση και οδηγεί στο σχηματισμό του δευτερογενούς σταθερού ερυθρού θρόμβου ινικής, στον οποίο παγιδεύονται και ερυθρά και λευκά αιμοσφαίρια) και της αντιπηκτικής αγωγής γίνεται αφενός με τις κλασσικές δοκιμασίες πήξης (χρόνος θρομβίνης, χρόνος προθρομβίνης, χρόνος μερικής θρομβοπλαστίνης) και τη σφαιρική δοκιμασία θρομβοελαστομετρίας (ROTEM), αφετέρου με τις ιδανικές μεθόδους μέτρησης των επιπέδων των DOACs στο πλάσμα του ασθενούς (Anti - Xa assay, modified/diluted thrombin time-DTT, ecarin clotting time-ECT/ Ecarin chromogenic assay - ECA).

**Συμπεράσματα:** Η παρακολούθηση του πρωτογενούς αιμοστατικού μηχανισμού με τις συνήθεις εργαστηριακές εξετάσεις παρουσιάζει σημαντικά κενά και αδυνατεί να συσχετίσει τις «παθολογικές» τιμές όλων των παραγόντων με τα αυξημένα ποσοστά θρόμβωσης και αιμορραγίας, καθιστώντας αναγκαίο τον συνδυασμό τους με τις υποκειμενικές εμπειρικές παρατηρήσεις και τα κλινικά συμπτώματα ως πιο αξιόπιστη μέθοδο παρακολούθησης.

Με βάση τα στοιχεία που είναι μέχρι στιγμής διαθέσιμα η δραστηριότητα των αιμοπεταλίων υπό θεραπεία είναι ένας δείκτης κινδύνου που έχει μεν καθιερωθεί, όχι όμως με τη μορφή εξέτασης ρουτίνας. Επίσης δεν μπορεί ακόμη να θεωρηθεί τροποποιητικός παράγοντας κινδύνου.

Στο κομμάτι της αντιπηκτικής αγωγής έχει καθιερωθεί ως ρουτίνα η χρήση των κλασικών δοκιμασιών στην παρακολούθηση της δράσης των VKAs και των ηπαρινώνγενικότερα. Σε ειδικές κατηγορίες ασθενών που λαμβάνουν DOACs ενδεχομένως να έχει νόημα να γίνεται η αντιπηκτική τους δράση. Όμως είναι γνωστό ότι οι συμβατικές δοκιμασίες της πήξης δεν αντανακλούν με ακρίβεια τα επίπεδα των DOACs που κυκλοφορούν στον αίμα.

Από την άλλη, ειδικές δοκιμασίες είναι διαθέσιμες μόνο σε εξειδικευμένα κέντρα. Έτσι η εξατομίκευσή τους καθίσταται αδύνατη. Μεγάλες τυχαιοποιημένες μελέτες και η καθιέρωση κατευθυντήριων οδηγιών έχουν αναδείξει το βέλτιστο δοσολογικό τους σχήμα τους ανάλογα με την υποκείμενη πάθηση.

**Λέξεις-Κλειδιά:** θρόμβωση, αντιαιμοπεταλικά φάρμακα, αντιπηκτικά φάρμακα, δοκιμασίες λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, δοκιμασίες πήξης, TXB2, LTA, VerifyNow Assay, Impedance Aggregometry, Flow Cytometry, PT, APTT, TT, Anti-Xa assay, DTT, μελέτη GRAVITAS, μελέτη TRIGGER-PCI, μελέτη ARCTIC, μελέτη ADAPT-DES, μελέτη ISAR-ASPI, TROPICAL-ACS, μελέτη TARGET-CABG

## Abstract

**Introduction:** The development of anticoagulants has increased survival and improved patients' quality of life. The need for individualized anticoagulant therapy to reduce either ischemic or hemorrhagic complications is desirable. To achieve this we need fast, easy to use but at the same time special and standardized tests.

**Method:** In the present dissertation an attempt was made to record the laboratory methods of investigating both antiplatelet and anticoagulant therapy. Reference was also made to the clinical use of these trials based on published studies. For the bibliography collection the search was done in search engines mainly in pubmed. Emphasis was placed on articles and reviews from the last five years. Articles were selected based on the completeness of the analysis and explanation of the laboratory investigation mechanisms.

**Results:** Beginning with anticoagulant therapy, most laboratory tests were performed to control both the coagulation fraction and the anticoagulant effect of these drugs. The control of primary hemostasis (i.e. the pathophysiological functions of endothelial injury that lead to the formation of unstable, primary, white, platelet thrombus) and antiplatelet therapy for its individualization is done using platelet-platelet function-PFTs tests. The main representatives are the measurement of thromboxane  $\beta_2$  (TXB<sub>2</sub>) levels, the tests: Light Transmission Aggregometry (LTA), VerifyNow Assay, Impedance Aggregometry, Thromboelastography (TEG) -Platelet Function (Platelet Function) Platelet Function Analyzer (PFA) -200, flow cytometry (VASP assay). The control of secondary hemostasis (i.e. the hemostatic cataract that follows the platelet activation and leads to the formation of the secondary stable fibrous red thrombus, in which both red and white blood cells are trapped) and the anticoagulant treatment is done on the one hand. Prothrombin time, partial thromboplastin time and the global thromboelastometry test (ROTEM), on the other hand with the ideal methods of measuring the levels of DOACs in the patient's plasma (Anti - Xa assay, modified / diluted thrombin time-DTT-ECromTic assay - ECA).

**Conclusions:** The monitoring of the primary hemostatic mechanism with the usual laboratory examinations presents significant gaps and fails to correlate the "pathological" values of all factors with the increased rates of thrombosis and bleeding, making it necessary to combine them with subjective and subjective empirical observations as more reliable monitoring method. Based on the data available so far, the activity of the treated platelets is a risk indicator that has been established, but not in the form of a routine examination. Nor can it yet be considered a modifying risk factor. In the field of anticoagulant therapy, the use of classical tests in monitoring the action of VKAs and

heparin in general has been established as a routine. In certain groups of patients receiving DOACs it may make sense to have anticoagulant action. However, it is known that conventional coagulation tests do not accurately reflect the levels of DOACs circulating in the blood. On the other hand, special tests are only available at specialized centers. This makes their personalization impossible. Large randomized studies and the introduction of guidelines have highlighted their optimal dosage regimen depending on the underlying condition.

**Keywords:** thrombosis, antiplatelet drugs, anticoagulants, platelet function tests, coagulation tests, TXB2, LTA, VerifyNow Assay, Impedance Aggregometry, Flow Cytometry, PT, APTT, TT, Anti-Xa assay, DTT study, TRT -PCI, ARCTIC study, ADAPT-DES study, ISAR-ASPI study, TROPICAL-ACS, TARGET-CABG study

## Πίνακας περιεχομένων

|  |    |
|--|----|
| Περίληψη.....  | 4  |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΗΚΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ..... | 11 |

|  |    |
|--|----|
| 1.1 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΗΚΤΙΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ .....   | 11 |
| 1.2 ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.....   | 13 |
| 1.2.1 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ COX-1.....  | 13 |
| 1.2.2 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑ P <sub>2</sub> Y <sub>12</sub> .....                       | 15 |
| 1.2.3 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ GPIIb/IIIa .....  | 20 |
| 1.2.4 PAR-1 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ .....   | 21 |
| 1.2.5 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΦΩΣΦΟΔΙΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (PDEs).....  | 21 |
| 1.3 ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.....   | 22 |
| 1.3.1 ΚΟΥΜΑΡΙΝΙΚΑ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ- VKAs.....   | 22 |
| 1.3.2 ΗΠΑΡΙΝΕΣ.....  | 23 |
| 1.3.3 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΑΝΤΙ-Χα.....  | 24 |
| 1.3.4 ΑΜΕΣΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (DTIs) .....                                     | 26 |
| 1.3.5 ΙΝΩΔΟΓΟΝΟΛΥΤΙΚΑ .....  | 26 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ .....   | 27 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ.....                      | 28 |
| 3.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΞΑΝΗΣ B <sub>2</sub> (TXB <sub>2</sub> ).....                        | 28 |
| 3.2 ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΜΕΤΡΙΑ ΟΠΤΙΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ (LIGHT TRANSMISSION AGGREGOMETRY, LTA)..... | 29 |
| 3.3 VERIFYNOWASSAY .....   | 32 |
| 3.4 ΕΜΠΕΔΗΣΗΣΤΗΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗ (IMPEDANCE PLATELET AGGREGOMETRY).....                       | 34 |
| 3.5 ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ (THROMBOELASTOGRAPHY- TEG).....                                 | 37 |
| 3.6 ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PFA- 100)/ (PFA-200).....                  | 38 |
| 3.7 ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ.....  | 40 |
| 3.7.1 ΦΩΣΦΟΥΡΥΛΩΣΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΠΡΩΤΕΙΝΗΣ VASP (VASP ASSAY) .....                          | 40 |
| 3.7.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ P- SELECTIN ΣΤΗΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....                     | 41 |
| 3.7.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ GP Iib/IIIa .....                                     | 41 |
| 3.7.4 ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΜΕΝΑ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ- ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ.....                       | 41 |
| 3.8 ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....   | 41 |
| 3.9 PLATELETSMICRORNAs.....  | 41 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ .....                           | 42 |
| 4.1 ΧΡΟΝΟΣΠΡΟΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (PROTHROMBIN TIME,PT).....                                      | 42 |



|   |    |
|---|----|
| 4.2 ΧΡΟΝΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ (ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME-APTT).....  | 44 |
| 4.3 ΧΡΟΝΟΣΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (TT-THROMBIN TIME).....   | 46 |
| 4.4 ANTI-XA ASSAY .....   | 47 |
| 4.5 MODIFIED THROMBIN TIME-DILUTED THROMBIN TIME- DTT .....   | 48 |
| 4.6 ECARIN CLOTTING TIME (ECHIS CLOTTING TIME)- ECARIN CHROMOGENIC ASSAY .....  | 49 |
| 4.7 ROTATIONALTHROMBOELASTOMETRY (ROTEM)-ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ.....  | 50 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ .....  | 51 |
| 5.1.ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ.....   | 51 |
| ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΑΜΦΙΣΒΗΤΟΥΝ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ .....  | 52 |
| GRAVITAS (Gauging Responsiveness with a VerifyNow Assay-Impact on Thrombosis and Safety).....   | 52 |
| TRIGGER-PCI (Testing platelet Reactivity In patients under Going elective stent placement ob clopidogrel to Guide alternative thErapy with pRasugrel).....  | 53 |
| 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) ..... | 53 |
| 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) .....  | 54 |
| ISAR-ASPI (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen—Aspirin and Platelet Inhibition).....  | 54 |
| ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ ...  | 55 |
| EFFICIENT (The EFFect of hIgh dose Clopldogrel treatmENT).....  | 55 |
| ADAPT-DES (Assessment of Dual AntiPlatelet Therapy With Drug Eluting Stents).....   | 55 |
| TROPICAL-ACS (Testing Responsiveness To Platelet Inhibition On Chronic Antiplatelet Treatment For Acute Coronary Syndromes).....  | 55 |
| SWITCH POBA (Predictor of Bleeding with Antiplatelet drugs) .....   | 58 |
| TARGET-CABG (Ticagrel or Antiplatelet Therapy to Reduce Graft Events and Thrombosis) .  | 58 |
| 5.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ.....   | 59 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....   | 62 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ.....  | 63 |
| Βιβλιογραφία.....   | 65 |

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΠΗΚΤΙΚΟΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

## 1.1 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΠΗΚΤΙΚΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ

Ο μηχανισμός της πήξης αποτελεί μια φυσιολογική αντίδραση άμυνας του οργανισμού με στόχο την δημιουργία αιμοστατικού θρόμβου και την επίσχεση της αιμορραγίας. Σε αυτόν τον μηχανισμό συμμετέχει τόσο η διαδικασία της πήξης όσο και η διαδικασία της ινωδόλυσης. Η απορρύθμισή του οδηγεί στην εμφάνιση παθολογίας, είτε με τη μορφή αιμορραγιών σε ανεπάρκεια παραγόντων πήξης ή αυξημένης δραστηριότητας του ινωδολυτικού συστήματος, είτε με τη μορφή σε θρομβώσεων λόγω ανεπάρκειας των αναστολέων της αιμόστασης ή αυξημένη δραστηριότητα του πηκτικού μηχανισμού. Η διαδικασία της πήξης εντοπίζεται στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο των αγγείων και χωρίζεται σε τέσσερις φάσεις:

- Φάση αγγειοσύσπασης
- Φάση αρχικής αιμόστασης. Είναι η φάση κατά την οποία γίνεται η προσκόλληση και συσώρευση των αιμοπεταλίων με αποτέλεσμα το σχηματισμό του αιμοπεταλιακού θρόμβου
- Φάση μόνιμης αιμόστασης. Σε αυτό το στάδιο γίνεται ο σχηματισμός του ινώδους και η δημιουργία του αιμοστατικού θρόμβου.
- Τελική φάση. Κατά τη διάρκεια αυτής ενεργοποιείται το ινωδολυτικό σύστημα και το σύστημα μεταλλοπρωτεασών για την απομάκρυνση του θρόμβου και την αποκατάσταση της βλάβης[1].

Έως πρότινος για την περιγραφή του μηχανισμού της πήξης χρησιμοποιούνταν το κλασικό μοντέλο "καταρράκτη". Όμως πλέον επικρατεί η αντίληψη ότι η διαδικασία της πήξης ακολουθεί διαδοχικά στάδια που αλληλοκαλύπτονται και όχι από συγκεκριμένες "οδούς"[2].

Κύριος παράγοντας έναρξης της πήξης είναι η έκλυση του ιστικού παράγοντα TF στο ενδοθήλιο των αγγείων, είτε μέσω τραυματισμού (π.χ. τραύμα, έγκαυμα) από τους ινοβλάστες, είτε μέσω ενεργοποιημένων κυτταροκινών (σήψη) που εκλύονται από

μονοκύτταρα και ενδοθηλιακά κύτταρα. Η ενεργοποίηση του πήκτικού μηχανισμού εκτός από τον κύριο παράγοντα έναρξης της πήξης δηλαδή την έκλυση του TF μπορεί να ενεργοποιηθεί από ενδοτοξίνες, ξένα σώματα και αρνητικά φορτισμένα μόρια[3].

Ο ιστικός παράγοντας TF συνδέεται άμεσα με τον παράγοντα VIIa πυροδοτώντας την έναρξη της αιμόστασης. Παράλληλα ίχνη του παράγοντα Xa ενεργοποιούν τον παράγοντα VII. Στο αγγειακό δίκτυο ο παράγοντας VII κυκλοφορεί σε αδρανή μορφή και μόνο το 1% βρίσκεται σε ενεργοποιημένη μορφή VIIa. Έτσι το σύμπλεγμα TF/VIIa δημιουργείται με δυο τρόπους, απευθείας σύνδεση του TF με τον κυκλοφορούντα VIIa αλλά και άμεση σύνδεση του TF με τον VII και μετατροπή του σε VIIa (εξωγενής οδός). Το σύμπλοκο TF/VIIa προκαλεί την ενεργοποίηση του IX αλλά και μέρος του X. Από την ενεργοποίηση του X προκύπτουν τα πρώτα ίχνη θρομβίνης, τα οποία παρουσία ιόντων  $Ca^{++}$  και φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης ενεργοποιούν τον παράγοντα VIII ο οποίος σχηματίζει σύμπλεγμα με τον IXa. Το σύμπλεγμα IXa/VIIIa ενεργοποιεί και αυτό με τη σειρά του τον παράγοντα X(ενδογενής οδός). Παράλληλα από τα πρώτα ίχνη θρομβίνης ενεργοποιείται ο παράγοντας V ο οποίος παρουσία ιόντων  $Ca^{++}$  και φωσφολιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης συνδέεται με τον ενεργοποιημένο παράγοντα X. Το σύμπλεγμα Va/Xa ονομάζεται προθρομβινικό σύμπλεγμα ή προθρομβινάση. Ως επακόλουθο αυτού παρατηρείται μαζική παραγωγή θρομβίνης από το προθρομβινικό σύμπλεγμα (Xa και Va) στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Η κύρια δράση της θρομβίνης είναι η μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες και η ενεργοποίηση του παράγοντα XIII. Έτσι, λοιπόν, στη φάση δημιουργίας του αιμοστατικού θρόμβου η παρουσία των αιμοπεταλίων, του ενεργοποιημένου παράγοντα XIII αλλά και του TAFI (αναστολέας της ινωδόλυσης ενεργοποιημένος από την θρομβίνη-thrombin activatable fibrinolysis inhibitor) συμβάλλουν στην σταθεροποίηση του θρόμβου[4].

Το σύστημα της πήξης του αίματος έχει την δυνατότητα να αυτορρυθμίζεται μέσω των ενζύμων της αιμόστασης και να περιορίζει την λειτουργία του μόνο στο σημείο της βλάβης αποφεύγοντας μια γενικευμένη πήξη. Σε αυτά τα ένζυμα ανήκουν η αντιθρομβίνη (AT), η πρωτεΐνη C (PC), η πρωτεΐνη S (PS) και ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI, tissue factor pathway inhibitor). Η αντιθρομβίνη προκαλεί μια ήπια αναστολή της θρομβίνης, παρουσία όμως ηπαρίνης ή θειϊκής ηπαράνης (επιφάνεια ενδοθηλιακών κυττάρων) η αναστολή της επιταχύνεται έως και 2000 φορές. Η ενεργοποίηση της πρωτεΐνης C και του συμπαραγόντά της πρωτεΐνη S προκαλείται από την θρομβίνη και έχει ως στόχο την αναστολή της δράσης των παραγόντων VIII και V. Τέλος ο αναστολέας της οδού του ιστικού παράγοντα- TFPI αναστέλλει την δράση των παραγόντων VII και V και διακόπτει τη δραστηριότητα της εξωγενούς οδού[5].

Κατά τη διάρκεια της τελικής φάσης ενεργοποιείται το ινωδολυτικό σύστημα και το σύστημα μεταλλοπρωτεασών για την απομάκρυνση του θρόμβου και την αποκατάσταση της βλάβης. Αυτό επιτυγχάνεται με τη δράση της πλασμίνης που είναι το κύριο ένζυμο της ινωδόλυσης. Η πλασμίνη παράγεται από το πλασμινογόνο το οποίο ενεργοποιείται από μια ομάδα πρωτεασών δηλαδή τον ιστικόενεργοποιητή του πλασμινογόνου (tPA) και τον τύπου ουρακινάση ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (u-PA)[6].

Οι ενεργοποιητές του ινωδολυτικού συστήματος t-PA και u-PA αναστέλλονται από τη δράση του αναστολέα-1 ενεργοποιητή πλασμινογόνου PAI-1. Επίσης το σύστημα της ινωδόλυσης αναστέλλεται από την α2-αντιπλασμίνη η οποία συνδεόμενη με την αντιπλασμίνη δημιουργεί το ανενεργό σύμπλοκο πλασμίνης-α2-αντιπλασμίνης (PAI, plasmin-a2-antiplasmin)[7].

Η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας οδηγεί σε συσσώρευση αιμοπεταλίων και προσκόλληση σε υπενδοθηλιακές πρωτεΐνες όπως ο vWF και το κολλαγόνο. Η μετέπειτα ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων οδηγεί σε έκκριση διάφορων διαλυτών αγωνιστών όπως η θρομβοξάνη A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), η διφωσφορική αδενοσίνη (ADP) και η θρομβίνη, με τους οποίους ενεργοποιούνται περαιτέρω τα αιμοπετάλια. Η συσσωμάτωσή τους διαμεσολαβείται από το ινωδογόνο, το οποίο συνδέεται με τον γλυκοπρωτεϊνικό υποδοχέα των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων αII<sub>b</sub>β<sub>3</sub>, ή αλλιώς GPIIb/IIIa. Τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα στοχεύουν σημεία κλειδιά στην ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων και της θρομβογένεσης[8].

## 1.2 ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

### 1.2.1 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ COX-1

Η COX-1 είναι ένζυμο το οποίο καταλύει το σχηματισμό της προσταγλανδίνης H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) από αραχιδονικό οξύ (AA). Το τελευταίο απελευθερώνεται από τη φωσφολιπιδική μεμβράνη με τη δράση της φωσφολιπάσης A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) κατά την κυτταρική ενεργοποίηση. Η PGH<sub>2</sub> εν τέλει μετατρέπεται σε θρομβοξάνη A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) με τη δράση της αντίστοιχης συνθάσης, η οποία εκκρίνεται και ασκεί τις βιολογικές της δράσεις μέσω TP προστανοειδών υποδοχέων[9],[10].

### **ΑΚΕΤΥΛΟΣΑΛΥΚΥΛΙΚΟ ΟΞΥ (ASPIRIN)**

Αποτελεί το παλαιότερο, φθηνότερο και το πιο δημοφιλές αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο, το οποίο δρα μέσω της μη αντιστρεπτής αδρανοποίησης της COX-1 με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση σχηματισμού ΤΧΑ<sub>2</sub> στα αιμοπετάλια. Η αδρανοποίηση του ενζύμου επιτυγχάνεται μέσω της ακετυλίωσης της σερίνης 530 που εδράζεται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Από τη στιγμή που η δράση της είναι μη αντιστρεπτή μία δόση της τάξης των 75-100mg ημερησίως είναι αρκετή να αδρανοποιήσει πλήρως τον σχηματισμό ΤΧΑ<sub>2</sub> των αιμοπεταλίων. Ο χρόνος ημιζωής της ασπιρίνης στο πλάσμα είναι 20 λεπτά, μεταβολίζεται στο ήπαρ ενώ τα μέγιστα επίπεδα στο πλάσμα επιτυγχάνονται 30-40 λεπτά μετά την κατάποση μη επικαλυμμένης μορφής και 3-4 ώρες μετά την κατάποση της επικαλυμμένης- εντερικής μορφής[11].

Κυριότερα μειονεκτήματα του ακετυλοσαλυκυλικού οξέος είναι οι αιμορραγίες του πεπτικού συστήματος και η αντίσταση στη δράση του. Επάγει συστηματικές μεταβολές στον μεταβολισμό των προσταγλανδινών οδηγώντας σε διαταραχή της ακεραιότητας του βλεννογόνου χιτώνα ακόμη και στο άπω τμήμα του γαστρεντερικού με αποτέλεσμα τοξίνες και βακτήρια του εντερικού αυλού να δημιουργούν διαβρώσεις και έλκη. Με τη συγχρόνηση αναστολέων της αντλίας πρωτονίων ελαττώνεται ο κίνδυνος αιμορραγίας[12],[13].

Πολυάριθμες μελέτες τονίζουν την χρήση της ασπιρίνης κυρίως στη δευτερογενή πρόληψη. Όσον αφορά στη πρωτογενή οι αμερικάνικες οδηγίες συστήνουν η ασπιρίνη να χρησιμοποιείται για την πρόληψη του ορθοκολικού καρκίνου και των αγγειακών επεισοδίων σε ασθενείς 50-59 ετών που έχουν >10% κίνδυνο καρδιαγγειακού συμβάματος. Αυτοί θα πρέπει να έχουν προσδόκιμο ζωής τουλάχιστον δέκα έτη και να έχουν την πρόθεση να λάβουν για δέκα τουλάχιστον χρόνια χαμηλή ημερήσια δόση ασπιρίνης. Στο επίπεδο της πρωτογενούς επίσης πρόληψης η ευρωπαϊκή καρδιολογική εταιρεία σε οδηγίες της το 2019 συστήνει με κλάση ένδειξης IIb την χορήγηση ασπιρίνης, όταν βέβαια αυτή δεν αντενδείκνυται σε δόση 75-100mg ημερησίως στους διαβητικούς ασθενείς όταν αυτοί βρίσκονται σε υψηλό ή πολύ υψηλό καρδιαγγειακό κίνδυνο. Συγκεκριμένα οι ασθενείς πολύ υψηλού κινδύνου είναι αυτοί με τεκμηριωμένη αγγειακή νόσο, με βλάβη οργάνου στόχου (πρωτεϊνουρία, GFR<30ml/min/1.73m<sup>2</sup>, υπερτροφία της αριστερής κοιλίας, αμφιβληστροειδοπάθεια), με συνύπαρξη ακόμη τριών τουλάχιστον μείζονων παραγόντων κινδύνου (ΑΥ, δυσλιπιδαιμία, κάπνισμα, παχυσαρκία και ηλικία) και η πρώιμη έναρξη διαβήτη τύπου I με διάρκεια μεγαλύτερη των 20 ετών. Αντίστοιχα σε υψηλό κίνδυνο βρίσκονται διαβητικοί ασθενείς με διάρκεια νόσου μεγαλύτερη ή ίση των 10 ετών, χωρίς άλλο παράγοντα κινδύνου ή βλάβη οργάνου στόχου. {14}

### **ΤΡΙΦΛΟΥΖΑΛΗ (2-ΑΚΕΤΥΛΟΞΥ- 4-ΤΡΙΦΛΟΥΡΟΜΕΘΥΛΒΕΝΖΟΪΚΟ ΟΞΥ)**

Η τριφλουζάλη αποτελεί αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα παρόμοιας χημικής δομής με την ασπιρίνη, αλλά διαφορετικής φαρμακοκινητικής. Λαμβάνεται από του στόματος με βιοδιαθεσιμότητα 83-100% και συνδέεται σχεδόν πλήρως (σε ποσοστό έως 99%) με τις πρωτεΐνες του πλάσματος. Ακετυλιώνεται δυο φορές στο ήπαρ σχηματίζοντας τον κύριο μεταβολίτη της 2-υδρόξυ-4-τριφλουρομεθυλ βενζοϊκό οξύ (HTB), ο οποίος διατηρεί τη δραστικότητα του με χρόνο ημίσειας ζωής περίπου 40 ώρες[8].

Η αποτελεσματικότητά της είναι παρόμοια της ασπιρίνης στη δευτερογενή πρόληψη των αγγειακών συμβαμάτων, με ευνοϊκότερο όμως προφίλ ασφαλείας και συγκεκριμένα λιγότερες αιμορραγίες. Εμποδίζει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων με δύο μηχανισμούς, καθώς αναστέλλει τόσο την κυκλοξυγενάση COX-1 των αιμοπεταλίων όπως η ασπιρίνη, όσο και τη φωσφοδιεστεράση αυτών. Η φωσφοδιεστεράση είναι ένζυμο που αποδομεί τα κυκλικά νουκλεοτίδια cAMP και cGMP τα οποία αναστέλλουν την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Στη τελευταία δράση της οφείλεται και η ελάχιστη επίδραση στην ευεργετική για την αγγειακή λειτουργία προστακυκλίνη σε αντίθεση με την ασπιρίνη[15].

### 1.2.2 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΥΠΟΔΟΧΕΑ P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>

Το ADP αποθηκεύεται σε ικανές ποσότητες στα πυκνά κοκκία των αιμοπεταλίων και εκκρίνεται στη φάση ενεργοποίησή τους τόσο σε προστατευτική αιμόσταση όσο και σε περίπτωση δημιουργίας αποφρακτικού ενδοαρτηριακού θρόμβου. Αλληλεπιδρά με τα αιμοπετάλια μέσω των υποδοχέων P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> και P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> [16]. Η σύνδεση του ADP με τους υποδοχείς P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> πυροδοτεί την αρχή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, ενώ η σύνδεση του ADP με τους υποδοχείς P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> προάγει περαιτέρω την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Δεν υπάρχουν κλινικές μελέτες που να αναδεικνύουν τη χρήση των ανταγωνιστών των υποδοχέων P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> ως αντιθρομβωτικών παραγόντων. Αντίθετα η δράση των P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> ανταγωνιστών είναι αρκετά μελετημένη[17].

Οι πρώτης γενιάς ανταγωνιστές των υποδοχέων P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> είναι οι θειενοπυριδίνες, από του στόματος προ-φάρμακα τα οποία μετατρέπονται στην ενεργή μορφή τους μετά τον μεταβολισμό τους στο ήπαρ. Αυτοί οι θειο-μεταβολίτες συνδέονται μη αντιστρεπτά με δισουλφιδικούς δεσμούς με υπολείμματα κυστεΐνης του υποδοχέα P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>, αδραντοποιώντας τον μόνιμα[18].

### ΘΕΙΕΝΟΠΥΡΙΔΙΝΕΣ

- **ΤΙΚΛΟΔΙΠΙΝΗ**

Είναι η πρώτη θειενοπυριδίνη που χρησιμοποιήθηκε και της οποίας η χρήση περιορίστηκε, λόγω των σοβαρών παρενεργειών. Σε αυτές αναφέρονται η σοβαρή ουδετεροπενία και οι μείζονες αιμορραγίες[19].

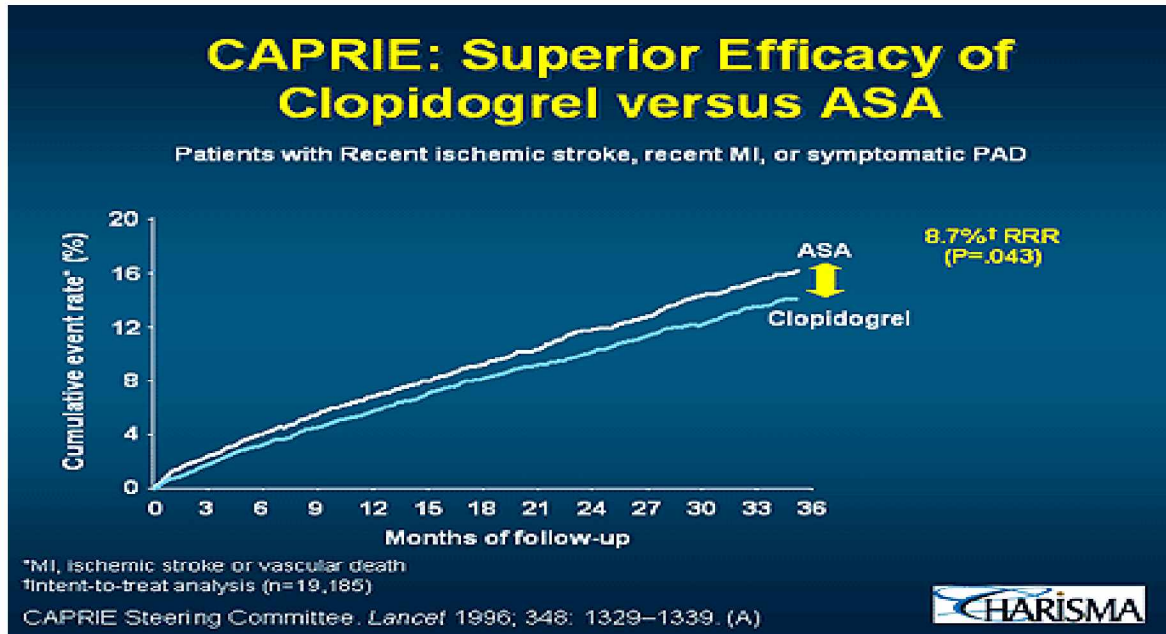
- **ΚΛΟΠΙΔΟΓΡΕΛΗ**

Δεύτερης γενιάς θειενοπυριδίνη με αρκετά ασφαλέστερο προφίλ έναντι της τικλοδιπίνης δεδομένου ότι έχει πιο στοχευμένη αντιαιμοπεταλιακή δράση. Έχει γρηγορότερη έναρξη δράσης συγκριτικά με την τικλοδιπίνη και η δοσολογία της είναι μια φορά την ημέρα [20]. Αποτελεί από του στόματος χορηγούμενο προ-φάρμακο με έναρξη δράσης μετά τις δύο ώρες. Πετυχαίνει μη αντιστρεπτή αδρανοποίηση των υποδοχέων P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> του αιμοπεταλίου, ενώ οι μελέτες που το καθιέρωσαν είναι πολυάριθμες. Χαρακτηριστικά η μελέτη CAPRIE η οποία την συνέκρινε με την ασπιρίνη στην δευτερογενή πρόληψη της αθηροσκληρωτικής αγγειακής νόσου έδειξε πως η κλοπιδογρέλη ελάττωσε τον συνολικό κίνδυνο αγγειακού θανάτου στο σύνολο του πληθυσμού και απέδειξε όφελος/ ανωτερότητα στην περιφερική αρτηριακή νόσο (*εικόνα 1*).

Αποτελεί το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιθρομβωτικό φάρμακο μετά την ασπιρίνη και το καλύτερα μελετημένο. Οι ενδείξεις χορήγησής της καλύπτουν όλο το φάσμα των αγγειακών συμβαμάτων στα πλαίσια της δευτερογενούς πρόληψής τους. Συγκεκριμένα χορηγείται σε συνδυασμό με την ασπιρίνη στη δόση των 75mgτην ημέρα σε ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο με ή χωρίς αγγειοπλαστική για διάστημα που καθορίζεται από τον θρομβωτικό και αιμορραγικό κίνδυνο του ασθενούς και αργότερα ως μονοθεραπεία σε δυσανεξία ή αντένδειξη χορήγησης της ασπιρίνης. Χορηγείται σε ασθενείς με συμπτωματική περιφερική αγγειακή νόσο των κάτω άκρων (κνημοβραχιόνιος δείκτης πίεσης <0.9) που αντιμετωπίζονται συντηρητικά και σε συγχορήγηση με ασπιρίνη για διάστημα 6 μηνών σε αυτούς που αντιμετωπίζονται με διαδερμική επαναγγείωση. Χρησιμοποιείται επίσης ως εναλλακτική της ασπιρίνης στην συμπτωματική ή ασυμπτωματική καρωτιδική νόσο με στένωση καρωτίδας >50% και σε συγχορήγηση με αυτή αμέσως μετά από νευρολογικό συμβάν και για διάστημα μέχρι τους 3 μήνες[20],[21].

Σημαντικά μειονεκτήματα της κλοπιδογρέλης είναι η καθυστερημένη έναρξη δράσης (120 έως 360 min), το φαινόμενο της αντίστασης στη δράση της εξαιτίας γενετικών πολυμορφισμών στο ισοένζυμο CYP2C19 καθώς και η αλληλεπίδραση με άλλα φάρμακα που μεταβολίζονται με το CYP3A4 ένζυμο του ήπατος[22].



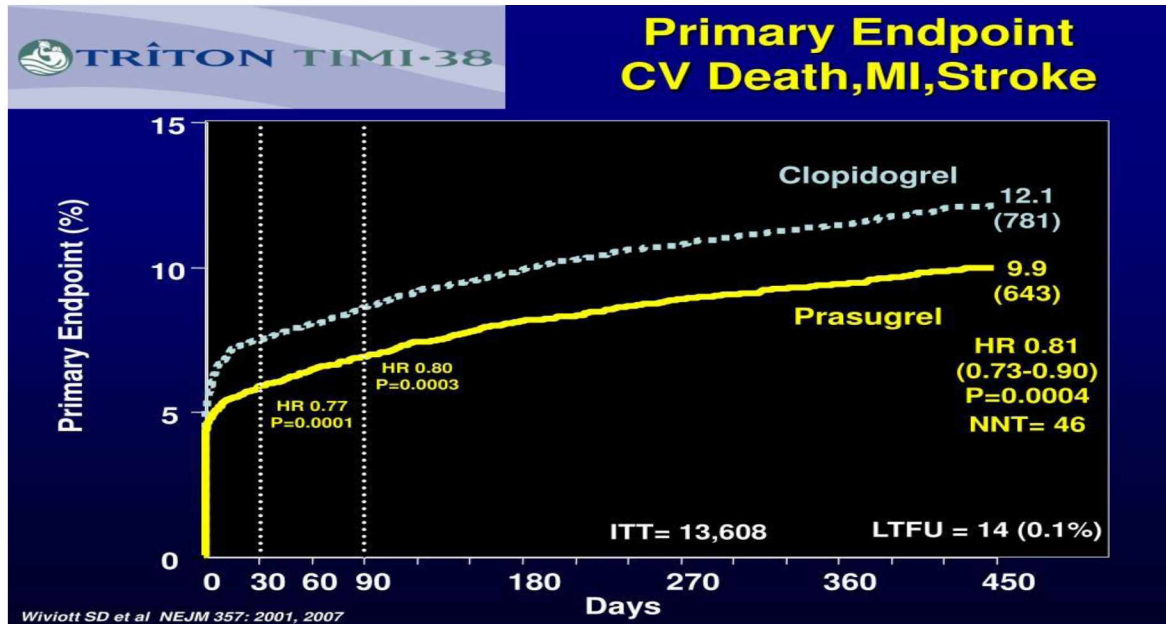


Εικόνα 1 :μελέτη CAPRIE σύγκριση κλοπιδογρέλης με την ασπιρίνη στην δευτερογενή πρόληψη της αθηροσκληρωτικής αγγειακής νόσου. Η κλοπιδογρέλη ελάττωσε τον συνολικό κίνδυνο αγγειακού θανάτου στο σύνολο του πληθυσμού και απέδειξε όφελος/ ανωτερότητα στην περιφερική αρτηριακή νόσο.

- **ΠΡΑΣΟΥΓΡΕΛΗ**

Η πρασουγρέλη είναι τρίτης γενεάς θειενοπυριδίνη και χορηγείται από το στόμα. Είναι προφάρμακο και η οδός μεταβολισμού της σε ενεργό μορφή περιλαμβάνει μόνο ένα βήμα με αποτέλεσμα ο ενεργός μεταβολίτης της να παράγεται πιο άμεσα σε σύγκριση με την κλοπιδογρέλη και να έχει γρηγορότερη έναρξη δράσης (30 έως 240 λεπτά). Σοβαρές αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα δεν έχουν παρατηρηθεί. Έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο της αντίστασης στη δράση της αλλά σε μικρότερο βαθμό από την κλοπιδογρέλη[20].

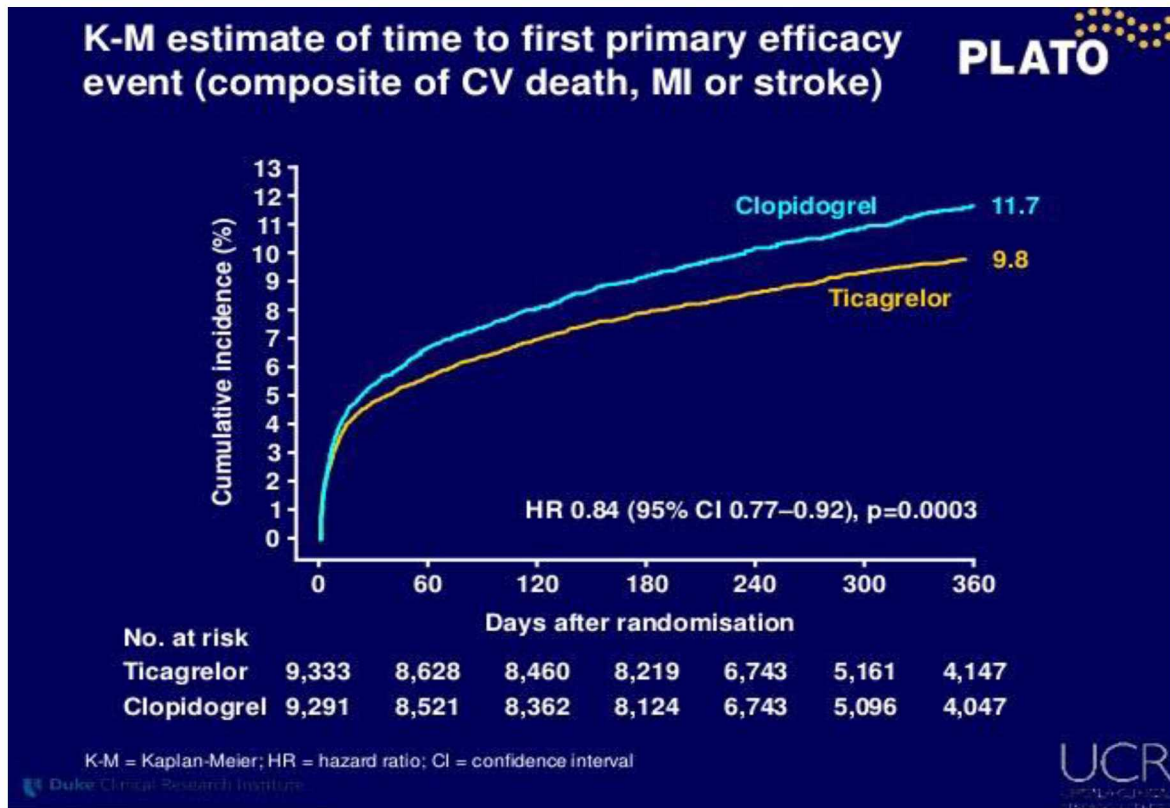
Η χρήση της πρασουγρέλης καθιερώθηκε με την μελέτη TRITON-TIMI 38 (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel–Thrombolysis in Myocardial Infarction) και περιγράφεται στην [εικόνα2](#). Σε αυτήν μελετήθηκαν 13.608 ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο οι οποίοι προγραμματίστηκαν για αγγειοπλαστική (PCI) και 1 ώρα μετά την επέμβαση τους χορηγήθηκε δόση φόρτισης με 60 mg πρασουγρέλης ή 300 mg κλοπιδογρέλης και στη συνέχεια δόσεις συντήρησης των 10mg πρασουγρέλης ή 75 mg κλοπιδογρέλης ημερησίως αναλόγως της ομάδας που ανήκαν. Η ομάδα της πρασουγρέλης είχε τα λιγότερα πρωτογενή καταληκτικά σημεία [20].



Εικόνα 2 :μελέτη TRITON-TIMI 38.Η ομάδα της πρασουγρέλης είχε τα λιγότερα πρωτογενή καταληκτικά σημεία (ΑΕΕ, ΟΕΜ, θάνατος από αγγειακά αίτια).

### ΤΙΚΑΓΚΡΕΛΟΡΗ

Είναι νεώτερο από του στόματος φάρμακο. Ο χρόνος έναρξης της δράσης του είναι 30 έως 240 λεπτά. Λόγω του ότι μεταβολίζεται από το ένζυμο CYP3A αλληλεπιδρά με πληθώρα άλλων φαρμάκων. Τα κλινικά χαρακτηριστικά της τικαγκελόρης όπως η μείωση των καρδιαγγειακών συμβαμάτων συσχετίζεται όχι μόνο με τη δράση της στους υποδοχείς P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> αλλά και στην σχετιζόμενη με αδενοσίνη δράσης της μέσω των υποδοχέων ENT-1 (Equilibrative Nucleoside Transporter-1) [20]. Η κλινική της χρήση καθιερώθηκε με τη μελέτη PLATO (PLATelet inhibition and patient Outcomes) και περιγράφεται στην [εικόνα 3](#). [23]



Εικόνα 3 : Μελέτη PLATO. Μετά από 12 μήνες η θεραπεία με τικαγκρελόρη σε ασθενείς με ACS που υποβλήθηκαν σε PCI έδειξε υπεροχή συγκριτικά με τη κλοπιδογρέλη βασισόμενη σε πρωτογενή καταληκτικά σημεία (ΑΕΕ, OEM, θάνατος από αγγειακά αίτια).

### ΚΑΓΚΡΕΛΟΡΗ

Αποτελεί ενδοφλέβια χορηγούμενο ανταγωνιστή των υποδοχέων  $P_2Y_{12}$ . Είναι ανάλογο της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) και συνδέεται άμεσα και αναστρέψιμα με τους εν λόγω υποδοχείς. Έχει πολύ βραχύ χρόνο ημίσειας ζωής, γρήγορη έναρξη δράσης (3-6min) και εξίσου άμεση αποδρομή με το πέρας της έγχυσης [24]. Η κλινική της χρησιμότητα έγκειται σε σύμπλοκες, υψηλού θρομβωτικού κινδύνου αγγειοπλαστικές όπου απαιτείται γρήγορη αδρανοποίηση των αιμοπεταλίων έως ότου επιτευχθούν επίπεδα των από του στόματος φαρμάκων και σε περιστατικά με πρόσφατη αγγειοπλαστική στα στεφανιαία αγγεία τα οποία για λόγους επείγουσας χειρουργικής παρέμβασης κρίνεται αναγκαία η διακοπή των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων. Αυτά επωφελούνται απ' την γεφυρική αγωγή με καγκρελόρη αφού μένουν χωρίς αντιαιμοπεταλιακή κάλυψη μόνο για τον χρόνο της επέμβασης βάση της ιδανικής φαρμακοκινητικής της [25].

### 1.2.3 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ GPIIb/IIIa

Οι υποδοχείς  $\alpha_{IIb}\beta_3$  ή GPIIb/IIIa υπάρχουν σε αφθονία, περίπου 80,000 υποδοχείς ανά αιμοπετάλιο και μεσολαβούν στο τελευταίο στάδιο της συσσώρευσης αιμοπεταλίων στην δημιουργία του θρόμβου [26]. Πιο συγκεκριμένα τα αιμοπετάλια ενώνονται μέσω αυτών των υποδοχέων με το ινωδογόνο, το οποίο δημιουργεί σχηματισμούς γέφυρας που ενώνουν τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, σχηματίζοντας τον αιμοπεταλιακό θρόμβο [27]. Στην ομάδα αυτή ανήκουν η αμπσιξιμάμπη, η τιροφιμπάνη και η επιφιμπατίδη και η χρησιμότητά τους έγκειται κυρίως στις αγγειοπλαστικές πολύ αυξημένου θρομβωτικού κινδύνου (παρουσία θρόμβου εντός στεφανιαίου δικτύου) σε έδαφος οξέων στεφανιαίων συνδρόμων ως επιπρόσθετο αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα. Επίσης εξαιτίας του σύντομου χρόνου ημιζωής τους χρησιμοποιούνται ως γεφυρική αγωγή σε ασθενείς με πρόσφατη αγγειοπλαστική, οι οποίοι πρέπει να υποβληθούν σε χειρουργείο άμεσα και να διακόψουν τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα.

#### **ABCIXIMAB**

Η αμπσιξιμάμπη (abciximab) είναι το Fab τμήμα του χιμαιρικού μονοκλωνικού αντισώματος 7E3. Δεσμεύει τον γλυκοπρωτεϊνικό υποδοχέα (GP) IIb/IIIa ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ), ο οποίος ευρίσκεται επάνω στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων του ανθρώπου και αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, παρεμποδίζοντας τη σύνδεση του ινωδογόνου, του παράγοντα vonWillebrand και άλλων μορίων προσκόλλησης με τους υποδοχείς GPIIb/IIIa επί των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων [26].

#### **TIROFIBAN**

Η τιροφιμπάνη (tirofiban) είναι ένας μη πεπτιδικός ανταγωνιστής του υποδοχέα GPIIb/IIIa, εμποδίζει το ινωδογόνο να συνδεθεί με τον υποδοχέα GPIIb/IIIa και έτσι αναστέλλει τη συνάθροιση των αιμοπεταλίων [26].

#### **EPTIFIBATIDE**

Η επιφιμπατίδη (eptifibatide) αναστέλλει αναστρέψιμα τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων εμποδίζοντας τη δέσμευση του ινωδογόνου, του παράγοντος vonWillebrand και άλλων υποκαταστατών στους υποδοχείς της γλυκοπρωτεΐνης GPIIb/IIIa [26].

#### 1.2.4 PAR-1 ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ

##### **ΒΟΡΑΠΑΧΑΡ**

Η βοραπαξάρη (vogaraaxar) είναι ένας εκλεκτικός και αναστρέψιμος αναστολέας των υποδοχέων PAR-1 στα αιμοπετάλια, οι οποίοι ενεργοποιούνται από μικρές ποσότητες θρομβίνης. Χορηγείται από του στόματος και διαθέτει υψηλή βιοδιαθεσιμότητα [16].

Οι μελέτες στις οποίες διερευνήθηκε η βοραπαξάρη (TRACER και TRA 2 P- TIMI 50) απέδειξαν πως ο ανταγωνισμός των υποδοχέων PAR-1 ελαττώνει τα ισχαιμικά συμβάματα όταν συγκρίνεται με τη συμβατική θεραπεία, ωστόσο αυξάνονται σημαντικά οι μείζονες αιμορραγίες. Όφελος παρουσιάζεται σε ασθενείς πολύ υψηλού κινδύνου, όπως αυτοί με προηγούμενο ΟΣΣ και ταυτόχρονη περιφερική αγγειακή νόσο, επί απουσίας αγγειακού νευρολογικού επεισοδίου στο ιστορικό γιατί τότε αυξάνονταν σημαντικά οι ενδοκράνιες αιμορραγίες [16].

#### 1.2.5 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΦΩΣΦΟΔΙΕΣΤΕΡΑΣΩΝ (PDEs)

Οι φωσφοδιεστεράσες είναι ένζυμα που υδρολύουν σε ανενεργό μορφή το c-AMP και c-GMP με αποτέλεσμα την ενδοκυττάρια αύξηση των c-AMP και c-GMP στα αιμοπετάλια. Το γεγονός αυτό οδηγεί σε αυξημένη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η δράση των αναστολέων περιορίζει την υδρόλυση των c-AMP και c-GMP και την συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Στην καθημερινή κλινική πρακτική δυο αναστολείς έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιαιμοπεταλιακή τους δράση, η διπυριδαμόλη και η σιλοσταζόλη [28].

##### **ΔΙΠΥΡΙΔΑΜΟΛΗ**

Η διπυριδαμόλη είναι ένα αγγειοδιασταλτικό των στεφανιαίων που χρησιμοποιείται για την προφυλακτική θεραπεία της στηθάγχης. Αυξάνει τα ενδοκυττάρια επίπεδα του c-GMP αναστέλλοντας την κυκλική νουκλεοτιδική φωσφοδιεστεράση, ενώ μέσω των ENT-1 υποδοχέων αυξάνει τα επίπεδα της αδενοσίνης. Η από του στόματος χορηγούμενη διπυριδαμόλη απαιτεί για την απορρόφησή της όξινο περιβάλλον [29],[30].

##### **ΣΙΛΟΣΤΑΖΟΛΗ**

Αναστέλλει το ισόένζυμο 3 της φωσφοδιεστεράσης με αποτέλεσμα να αυξάνει τα επίπεδα του c-AMP στα αιμοπετάλια [31]. Ταυτόχρονα διεγείρει τους ENT-1 υποδοχείς και την αύξηση της ενδοκυττάριας αδενοσίνης [32]. Παράλληλα με την αντιαιμοπεταλιακή της δράση η σιλοσταζόλη έχει αρκετές πλειοτροπικές δράσεις όπως αγγειοδιαστολή, αύξηση της παραγωγής μονοξειδίου του αζώτου (NO), αύξηση του HDL-C και μείωση των επιπέδων των τριγλυκεριδίων (TG), ενίσχυση της αγγειογένεσης και

μείωση της φλεγμονής [33]. Χορηγείται από του στόματος και εντός περίπου 2,5 ωρών φτάνει τα ανώτερα επίπεδα στο πλάσμα διαθέτοντας χρόνο ημίσειας ζωής 10 ώρες [28]. Οι πιο κοινές παρενέργειες που έχουν παρατηρηθεί είναι ο πονοκέφαλος, η ταχυκαρδία και η αίσθηση ζάλης καθώς και τα δερματικά εξανθήματα. Η σιλοσταζόλη αυξάνει την απόσταση βάρδισης σε συμπτωματικούς ασθενείς με περιφερική αγγειακή νόσο των κάτω άκρων στο στάδιο της διαλείπουσας χωλότητας και μπορεί να χορηγηθεί επιπλέον του βασικού αντιαιμοπεταλιακού φαρμάκου (κλοπιδογρέλη ή ασπιρίνη) [34].

## 1.3 ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ

### 1.3.1 ΚΟΥΜΑΡΙΝΙΚΑ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΑ- VKAs

Τα κουμαρινικά αντιπηκτικά ή ανταγωνιστές της βιταμίνης K (VKAs) κυκλοφόρησαν το 1940 ως τα πρώτα *per os* αντιπηκτικά και παρέμειναν ως φάρμακα πρώτης γραμμής στην αντιπηκτική αγωγή για πάνω από 7 δεκαετίες. Η κατανόηση της δράσης των VKAs προαπαιτεί την κατανόηση του μεταβολισμού και του τρόπου δράσης της βιταμίνης K, καθώς και του ρόλου που επιτελεί ο σχηματισμός των ενζυμικών συμπλεγμάτων της πήξης. Υπάρχουν δύο μεγάλες ομάδες ABK, με διαφορές στο χρόνο έναρξης και στη διάρκεια της δράσης τους. Στην πρώτη ομάδα (που χρησιμοποιείται και ευρύτερα στην κλινική πράξη) ανήκουν τα παράγωγα της 4-υδροξικουμαρίνης, με κύριους εκπροσώπους την ασενοκουμαρόλη (με έναρξη δράσης σε 2-3 ημέρες και διάρκεια δράσης 2-4 μέρες) και τη βαρφαρίνη (με έναρξη δράσης σε 2-3 μέρες και διάρκεια δράσης 4-8 μέρες). Στη δεύτερη ομάδα ανήκουν τα παράγωγα της ινδανενδιόνης, με εκπροσώπους τη φαινουδιόνη (με έναρξη δράσης σε 1-2 μέρες και διάρκεια δράσης 1-2 μέρες) και την παραφθοριοφαινουλινδανενδιόνη (με έναρξη δράσης σε 1-2 μέρες και διάρκεια δράσης 2-3 μέρες).

#### **WARFARIN ( ΒΑΡΦΑΡΙΝΗ)**

Η βαρφαρίνη (warfarin) αναστέλλει την αναγωγή του 2,3-εποξειδίου της βιταμίνης K (vitamin-K epoxidoreductase, VKOR) με αποτέλεσμα την αναστολή της σύνθεσης των παράγοντων πήξης II, VII, IX, και X και των αντιπηκτικών πρωτεϊνών C και S. Η ελάττωση των τριών από τους τέσσερις παραγόντων πήξης που εξαρτώνται από την βιταμίνη K (παραγόντες II, VII και X), οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα προθρομβίνης και μια μείωση στο ποσό της θρομβίνης που παράγεται και δεσμεύεται σε ινώδες. Με βάση το χρόνο 24 ημισείας ζωής τους, κατά σειρά ελαττώνονται τα πλάσματικά επίπεδα των FVII, FIX, FX και τελευταία του FII. Το γεγονός αυτό μειώνει την θρομβογεννητικότητα [35].

#### **ACENOCOUMAROL-SINTROM (ΑΣΕΝΟΚΟΥΜΑΡΟΛΗ)**

Η ασενοκουμαρόλη (acenocoumarol) είναι ένα παράγωγο της κουμαρίνης (η φαινουλική

ομάδα της βαρφαρίνης αντικαθίσταται από την ομάδα του p-νιτροφαινυλίου) που χρησιμοποιείται ως αντιπηκτικό διότι δρα ως ανταγωνιστής της βιταμίνης Κ. Οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ παρουσιάζουν την αντιπηκτική τους δράση αναστέλλοντας την έποξυ-ρεντουκτάση της βιταμίνης Κ με συνέπεια την μείωση της γ-καρβοξυλίωσης ορισμένων μορίων του γλουταμικού οξέος, που βρίσκονται σε διάφορες θέσεις κοντά στο τελικό άκρο της πεπτιδικής αλυσίδας, τόσο των παραγόντων πήξης II (προθρομβίνη), VII, IX και X όσο και της πρωτεΐνης C ή του συμπαράγοντά της πρωτεΐνης S [35]. Τα κουμαρινικά αντιπηκτικά δίδονται από του στόματος προληπτικά σε ασθενείς υψηλού θρομβωτικού κινδύνου (π.χ. σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή, τεχνητές βαλβίδες ή κατά τη μετεγχειρητική περίοδο) αλλά και μακράς διάρκειας αντιπηξία μετά από θρομβωτικά συμβάματα. Η χορήγησή τους εξατομικεύεται βάση PT/INR. Όταν απαιτείται άμεση αντιπηξία τότε η χορήγησή τους συνδυάζεται με ένα άμεσα δρών παρεντερικό αντιπηκτικό, το οποίο διακόπτεται εφ' όσον έχει επιτευχθεί και σταθεροποιηθεί η αντιπηκτική αγωγή. Δεδομένου ότι μεταβολίζονται στο ήπαρ μέσω του P450 κυτοχρώματος αλληλεπιδρούν με πολλά φάρμακα. Η απορρόφηση των VKAs γίνεται 2-6 ώρες από τη χορήγησή τους και ολοκληρώνεται μετά από 24h. Η βαρφαρίνη είναι η VKA με τη μεγαλύτερη συγγένεια σύνδεσης με τα ηπατοκύτταρα και ακολουθεί η ασενοκουμαρόλη. Ο χρόνος ημισείας ζωής της ασενοκουμαρόλης είναι 8-11 ώρες και η βαρφαρίνη 20-60 ώρες. Οι VKAs περνούν τον ομφαλοπλακουντιακό φραγμό και απεκκρίνονται στο μητρικό γάλα οπότε και αντενδείκνυται η χορήγησή τους στην κύηση (έχουν συνδεθεί με τερατογενέσεις) και στο θηλασμό [35].

### 1.3.2 ΗΠΑΡΙΝΕΣ

#### **ΚΛΑΣΙΚΗ ΗΠΑΡΙΝΗ (UFH-UNFRACTIONATED HEPARIN)**

Αποτελεί από ένα ανομοιογενές μίγμα πολυσακχαριτών με επαναλαμβανόμενες δισακχαρτικές μονάδες γλυκοζαμίνης και ουρονικού οξέος. Ο κύριος μηχανισμός δράσης της είναι η σύνδεσή της με την αντιθρομβίνη III και την επιτάχυνση της δράσης της. Μόνο το ένα τρίτο της χορηγούμενης δόσης συνδέεται με την αντιθρομβίνη III. Το σύμπλεγμα ηπαρίνης- αντιθρομβίνης III απενεργοποιεί διάφορα ένζυμα του καταρράκτη της πήξης (IIa, Xa, IXa, XIa, XIIa). Δεν είναι προβλέψιμη η βιοδιαθεσιμότητα και η ανταπόκρισή της. Στην θεραπευτική παρακολούθηση της ηπαρινοθεραπείας με UFH η δοκιμασία επιλογής είναι η μέτρηση του aPTT [36],[37].

#### **ΜΙΚΡΟΥ ΜΟΡΙΑΚΟΥ ΒΑΡΟΥΣ ΗΠΑΡΙΝΕΣ (LMWH-LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARIN)**

Είναι προϊόντα κλασματοποίησης της κλασικής ηπαρίνης. Όλες οι ηπαρίνες διαθέτουν τον απαραίτητο πεντασακχαρίτη, που είναι υπεύθυνος για την αντιθρομβωτική τους δράση. Όσο μικρότερος ο αριθμός των σακχάρων, τόσο μικρότερη η αντι-IIa δράση και μεγαλύτερη η αντι-Xa δράση. Η σχέση αντι-Xa δράση/ αντι-IIa δράση είναι 1/1 στην UFH, ενώ στις HMWHs είναι 2-4/1. Η ανάπτυξή τους για κλινική χρήση βασίστηκε σε τρεις

κύριες παρατηρήσεις: στην μικρότερη αντι-IIa ενεργότητα σχετικά με την αντι-Χα ενεργότητα σε σύγκριση με την κλασική ηπαρίνη, την πιο ευνοϊκή σχέση όφελους προς κίνδυνο σε πειραματικά μοντέλα και στην υπεροχή τους στις φαρμακοκινητικές ιδιότητες. Σε αυτές ανήκουν οι δελταπαρίνη, η ενοξαπαρίνη και η τινζαπαρίνη. Δεν συνιστάται εργαστηριακή παρακολούθηση με το APTT. Συνιστάται όμως η μέτρηση της αντι-Χα δράσης σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, στις εγκύους και σε άτομα με βάρος σώματος μεγαλύτερο από 90 κιλά ή μικρότερο από 55 κιλά. Η μέτρηση της αντι-Χα δραστηριότητας γίνεται 3-5 ώρες μετά την υποδόρια χορήγηση[37].

### 1.3.3 ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ANTI-Χα

Διακρίνονται στους άμεσους και έμμεσους αναστολείς. Οι άμεσοι αναστολείς συνδέονται απευθείας με τον παράγοντα Χα και αναστέλλουν τη δράση του με δοσοεξαρτώμενο τρόπο και παράλληλα αναστέλλουν και την δραστηριότητα της προθρομβινάσης[38]. Αυτοί οι παράγοντες είναι το rivaroxaban, το apixaban και το edoxaban με κύρια ένδειξη χορήγησή τους την πρόληψη θρομβωτικών επεισοδίων σε ασθενείς με μη βαλβιδική κοιλιακή μαρμαρυγή, την εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και την πνευμονική εμβολή. Επιπρόσθετα όσον αφορά την ριβαροξαμπάνη και έπειτα από τη μελέτη COMPASS φάνηκε πως οι υψηλού θρομβωτικού κινδύνου ασθενείς με σταθερή αθηροσκληρωτική αγγειακή νόσο επωφεληθήκαν από την χορήγηση χαμηλών δόσεων ριβαροξαμπάνης (5mg/ημερησίως) σε συνδυασμό με την ασπιρίνη. Ως υψηλού κινδύνου ορίστηκε η ταυτόχρονη αρτηριακή νόσος 2 συστημάτων, το ιστορικό καρδιακής ανεπάρκειας, η νεφρική νόσος με κάθαρση  $<60 \text{ ml/min/m}^2$  και ο σακχαρώδης διαβήτης [39].

### RIVAROXABAN

Το rivaroxaban είναι άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα, ο οποίος μετά την per os χορήγηση απορροφάται από το γαστρεντερικό σύστημα, πετυχαίνοντας μέγιστα επίπεδα στο πλάσμα εντός 2-4 ωρών. Το φάρμακο συνδέεται ισχυρά (>90%) με τις πρωτεΐνες του πλάσματος, ενώ ο χρόνος ημισείας ζωής του κυμαίνεται από 5-11 ώρες. Σε συγχορήγηση με τροφή, καθυστερεί η απορρόφηση του φαρμάκου. Αντίδοτο για το rivaroxaban είναι το Andexanet alfa, μια ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που δεσμεύει τους άμεσους από του στόματος αναστολείς του παράγοντα Χα, εξουδετερώνοντας το αντιπηκτικό τους αποτέλεσμα. Το rivaroxaban μεταβολίζεται κατά 66% από τα κυτοχρώματα CYP3A4 και CYP2J2 και αποβάλλεται κατά 34% από τους νεφρούς. Χορηγείται σε πλήρη δόση των 20mg/ημέρα σε  $\text{CrCl} > 50 \text{ ml/min}$  και σε ελαττωμένη των 15mg/ημέρα σε κάθαρση κρεατινίνης  $\text{CrCl} 30-50 \text{ ml/min}$ . Επιβάλλεται προσεκτική χορήγηση του σε ασθενείς με κάθαρση κρεατινίνης 15-30ml/min, ενώ η χορήγηση του φαρμάκου αντενδείκνυται σε  $\text{CrCl} < 15 \text{ ml/min}$  και σε σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια.



**APIXABAN**

Το αrixaban χορηγείται επίσης per os, είναι άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα και απορροφάται ταχύτατα από το γαστρεντερικό σύστημα επιτυγχάνοντας μέγιστα επίπεδα στο πλάσμα σε 3-4 ώρες. Το φάρμακο χορηγείται δυο φορές ημερησίως, χωρίς η τροφή να επηρεάζει την απορρόφησή του και ο χρόνος ημισείας ζωής του φτάνει τις 12-15 ώρες. Το αrixaban μεταβολίζεται στο ηπατικό κυτόχρωμα CYP3A4 κατά 75% και αποβάλλεται κατά 25% από τους νεφρούς. Η σύνδεσή του με τις πρωτεΐνες του πλάσματος είναι περίπου 87% και οι αλληλεπιδράσεις του με φάρμακα που χορηγούνται ταυτόχρονα είναι ελάχιστες. Χορηγείται στη δόση των 5mg x 2/ημέρα, ενώ η χαμηλή δόση των 2.5mgx2/ημέρα αφορά του ασθενείς που έχουν >2/3 κριτήρια : Cr>1.5mg/dl , βάρος σώματος <60kg και ηλικία >80 ετών. Η χρήση του δεν συστήνεται σε κάθαρση κρεατινίνης<15ml/min/m<sup>2</sup>.

**EDOXABAN**

Το Edoxaban χορηγείται μια φορά το 24ωρο και τα μέγιστα επίπεδα στο πλάσμα επιτυγχάνονται σε 1-2 ώρες. Ο χρόνος ημισείας ζωής του φαρμάκου είναι 9 με 10 ώρες. Το edoxaban αποβάλλεται από τους νεφρούς κατά 35-40%. Η σύνδεσή του με τις πρωτεΐνες του πλάσματος είναι από 40 έως 60% και οι αλληλεπιδράσεις του με φάρμακα που χορηγούνται ταυτόχρονα είναι ελάχιστες. Χορηγείται στη δόση των 60mg/ημέρα για κάθαρση κρεατινίνης>50ml/min/m<sup>2</sup> και στη δόση των 30mg/ημέρα για κάθαρση μεταξύ 30-50ml/min/m<sup>2</sup>.

**Andexanet alfa**

Το andexanet alfa αποτελεί ειδικό παράγοντα αναστροφής για τους αναστολείς του FXa. Ο κύριος μηχανισμός δράσης είναι η δέσμευση και η απομόνωση του αναστολέα του FXa. Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι το andexanet alfa δεσμεύεται στον αναστολέα της οδού του ιστικού παράγοντα (TFPI) και τον αναστέλλει. Η αναστολή της δραστηριότητας του TFPI μπορεί να αυξήσει την εκκινούμενη από τον ιστικό παράγοντα παραγωγή θρομβίνης, επάγοντας μια προπηκτική επίδραση. Όταν τα φάρμακα χορηγούνται σε συγκεκριμένη ανά ένδειξη δοσολογία, δεν απαιτείται εργαστηριακή παρακολούθηση των επιπέδων τους, αλλά αν αυτό απαιτηθεί, η μέτρηση της anti-Χα δραστηριότητας αποτελεί την εξέταση εκλογής.

Οι έμμεσοι αναστολείς, όπως το fondaparinux συνδέονται με την αντιθρομβίνη III και μέσω αυτής αναστέλλουν τη δράση του Χα παράγοντα χωρίς να επηρεάζουν καθόλου τη δράση του παράγοντα IIa. Γενικά σε θεραπευτικές δόσεις δεν επηρεάζουν το PT και το ΑΡΤΤ. Όμως σε υπερδόσολογία έχει παρατηρηθεί αύξηση του PT. Αν και η μέτρηση της αντι-Χα δραστηριότητας αρχικά σχεδιάστηκε και την παρακολούθηση των LMWHs εντούτοις μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της δράσης των

αναστολέων αντι-Χα [37].

#### 1.3.4 ΑΜΕΣΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ ΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (DTIs)

Είναι αναστολείς που δρούν μόνο στην θρομβίνη και προκαλούν αναστολή της δράσης της. Εκτός της νταμπιγκατράνης (dabigatran) η οποία χορηγείται από του στόματος, οι υπόλοιποι αναστολείς, αργκατρομπανη και μπιβαλιρουδινη (argatroban, bivalirudin) χορηγούνται παρεντερικώς[40].

##### **DABIGATRAN ETEXILATE**

Το dabigatran etexilate είναι ένα μικρομοριακό προφάρμακο, το οποίο δεν επιδεικνύει καμία φαρμακολογική δραστηριότητα. Με την από του στόματος χορήγηση, το dabigatran etexilate απορροφάται και μετατρέπεται σε dabigatran. Η μορφή του αυτή είναι ένας δραστικός άμεσος αναστολέας της θρομβίνης και είναι το κύριο δραστικό συστατικό του φαρμάκου στο πλάσμα. Απορροφάται στο όξινο περιβάλλον του στομάχου και η τροφή μπορεί να καθυστερεί λίγο την απορρόφηση. Συνδέεται ασθενώς με τις πρωτεΐνες του πλάσματος (35%) και αυτό του προσδίδει τη δυνατότητα απομάκρυνσης με πλασμαφαίρεση ή αιμοδιάλυση. Μετά την από του στόματος χορήγηση, τα μέγιστα επίπεδα του φαρμάκου επιτυγχάνονται σε 1,5 ώρα, ενώ ο χρόνος ημισείας ζωής κυμαίνεται από 14-17 ώρες. Υπάρχει διαθέσιμο αντίδοτο έναντι του φαρμάκου, το μονοκλωνικό αντίσωμα Idarucizumab. Το dabigatran αποβάλλεται κατά 80% στα ούρα και μεταβολίζεται κατά 20% από τα ήπαρ. Συνεπώς, αντενδείκνυται σε σοβαρή νεφρική ανεπάρκεια ( $CrCl < 30 \text{ ml/min}$ ), ενώ σε καθαρή κρεατινίνης 30-50ml/min χρειάζεται τροποποίηση της δόσης. Σε φυσιολογική νεφρική και ηπατική λειτουργία δεν χρειάζεται παρακολούθηση της δράσης του φαρμάκου. Έχει λάβει έγκριση για κλινική χρήση τόσο στις ΗΠΑ όσο και στην Ευρώπη για την ελάττωση του κινδύνου καρδιοεμβολικού ΑΕΕ σε ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή (ΚΜ) μη βαλβιδικής αιτιολογίας, εν τω βάθει φλεβοθρόμβωση και πνευμονική εμβολή. Χορηγείται, επίσης, για θρομβοπροφύλαξη σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αρθροπλαστική γόνατος ή ισχίου. Ο εργαστηριακός έλεγχος, εάν απαιτηθεί πραγματοποιείται με τη μέτρηση του χρόνου θρομβίνης (ΤΤ) ή του αραιωμένου χρόνου θρομβίνης (DΤΤ) και του χρόνου πήξης εκαρίνης (ECT). Όμως δεν είναι εφικτή η ευρεία χρήση τους και χρησιμοποιούνται μόνο σε επείγουσες καταστάσεις. Στην καθημερινή πρακτική ο χρόνος aPTT χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της δράσης των DTIs [41].

#### 1.3.5 ΙΝΩΔΟΓΟΝΟΛΥΤΙΚΑ

Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν η αλτεπλάση, ουροκινάση και ο ενεργοποιητής του ιστικού πλασμινογόνου (tPA- tissue plasminogen activator). Η δράση τους επιτυγχάνεται με την αναστολή της μετατροπής του ανενεργού πλασμινογόνου στην ενεργό μορφή του

ενζύμου την πλασμίνη[42]. Η χρήση τους έγκειται στη θεραπεία οξέων αγγειακών εγκεφαλικών συμβαμάτων, μυοκαρδιακών εμφραγμάτων, πνευμονικής εμβολής καθώς και λύση του θρόμβου σε θρομβωμένους καθετήρες. Κατά την χρήση τους παρατηρείται παράταση τόσο του PT όσο και του aPTT αλλά πτώση των επιπέδων του ινωδογόνου. Ωστόσο δεν υπάρχει εργαστηριακή μέθοδος που να ελέγχει ακριβώς το αντιπηκτικό αποτέλεσμα των ινωδογολυτικών [43].

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι η παρουσίαση των κυριότερων μεθόδων εργαστηριακής διερεύνησης της αντιθρομβωτικής αγωγής καθώς και η κλινική εφαρμογή αυτής.

Η αναζήτηση της βιβλιογραφίας έγινε σε μηχανές αναζήτησης κυρίως στο pubmed. Δόθηκε έμφαση σε άρθρα και ανασκοπήσεις της τελευταίας πενταετίας. Επιλέχθηκαν άρθρα με βάση την πληρότητα ανάλυσης και επεξήγησης των μηχανισμών εργαστηριακής διερεύνησης.

## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

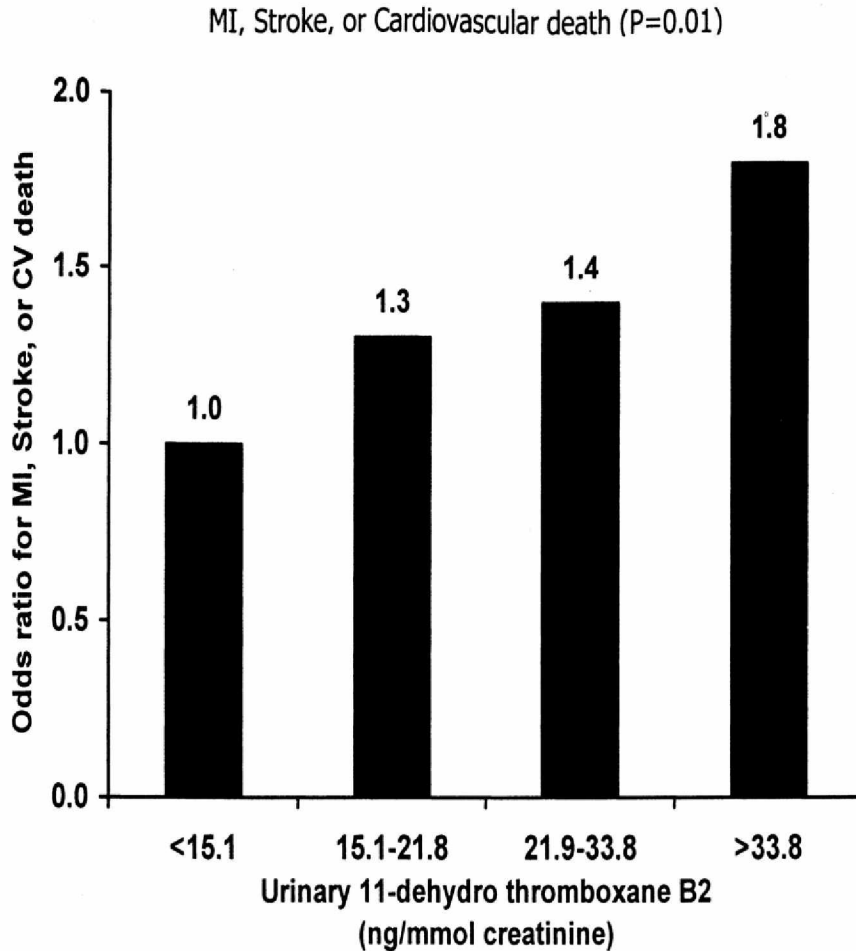
## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

### 3.1 ΜΕΤΡΗΣΗ ΘΡΟΜΒΟΞΑΝΗΣ B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>)

Η δράση της ασπιρίνης έγκειται στην τελική αναστολή σύνθεσης της θρομβοξάνης A<sub>2</sub> η οποία και προκαλεί σημαντικές βιολογικές δράσεις. Σταθερό προϊόν αποδόμησης της τελευταίας είναι η θρομβοξάνη B<sub>2</sub> (TXB<sub>2</sub>) που απεκκρίνεται μέσω των νεφρών στα ούρα [44].

Οι συγκεντρώσεις της TXB<sub>2</sub> στο πλάσμα και στα ούρα μπορούν να μετρηθούν μέσω της μεθόδου ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay - ανοσολογική μέθοδος ανίχνευσης της παρουσίας αντισώματος ή αντιγόνου σε ένα δείγμα) και να αποτελέσουν δείκτη της παραγωγής θρομβοξάνης A<sub>2</sub> από τα αιμοπετάλια και κατ' επέκταση δείκτη αντίστασης στη δράση της ασπιρίνης και της τριφλουζάλης, μιας και αφορά τους COX-1 αναστολείς γενικότερα [45],[46].

Υψηλές συγκεντρώσεις επομένως TXB<sub>2</sub> στο πλάσμα ή στα ούρα αποδεικνύουν αντίσταση στην ασπιρίνη [47]. Σημειώνεται δε πως αληθής σε μοριακό επίπεδο αντίσταση είναι εξαιρετικά σπάνια, ενώ αυτό που μπορεί να τεκμηριωθεί σε λίγες περιπτώσεις είναι μια μικρή διαφορά στις συγκεντρώσεις της TXB<sub>2</sub> μεταξύ των ασθενών, οι οποίες παρ' ότι μικρές μπορεί να καθορίσουν και την έκβαση όπως φαίνεται στη παρακάτω [εικόνα 4](#)[48].



Εικόνα 4: Συσχέτιση αντίστασης στην ασπιρίνη αναλόγως της απεκκρινόμενης στα ούρα TXB2 και κινδύνου καρδιαγγειακών συμβαμάτων σε ασθενείς υψηλού κινδύνου. (Circulation. 2002;105:1650–1655)

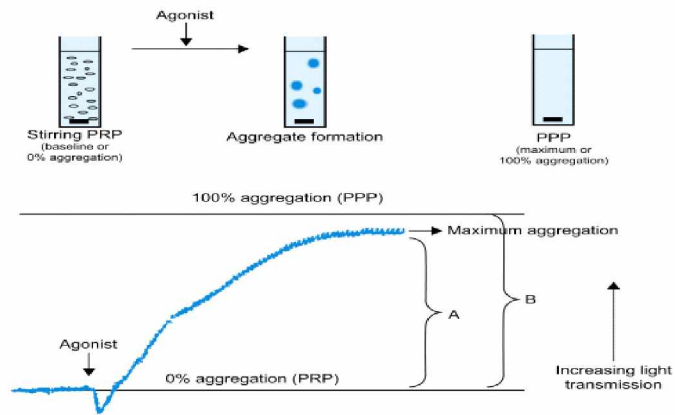
### 3.2 ΣΥΣΣΩΡΕΥΟΜΕΤΡΙΑ ΟΠΤΙΚΗΣ ΔΙΑΠΕΡΑΤΟΤΗΤΑΣ (LIGHT TRANSMISSION AGGREGOMETRY, LTA)

Αναπτύχθηκε το 1962 και ιστορικά θεωρείται ως η gold standard δοκιμασίας λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (εικόνα 5) [45]. Είναι η πλέον χρησιμοποιημένη, αξιόπιστη και με επαναληψιμότητα μέθοδος μελέτης ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων,

η οποία όμως απαιτεί ιδιαίτερη εμπειρία και υψηλή εξειδίκευση στη μελέτη των αιμοπεταλίων. Γι' αυτό περιορίζεται σε συγκεκριμένα μόνο εργαστήρια. Απαιτεί δύο στάδια φυγοκέντρησης με σκοπό να αποκτηθεί ένα πλούσιο σε αιμοπετάλια πλάσμα και ένα αντίστοιχο πτωχό. Το τελευταίο χρησιμοποιείται ως αναφορά (''αρνητικός μάρτυρας'') για μέτρηση βασικής οπτικής πυκνότητας. Στη συνέχεια στο φιαλίδιο με το πλάσμα που είναι πλούσιο σε αιμοπετάλια εισάγεται ο υπό μελέτη αγωνιστής (η δράση του οποίου είναι *in vitro*), όπως ADP ή επινεφρίνη (με ασθενή δράση) ή κολλαγόνο, θρομβίνη ή TxA<sub>2</sub> (με ισχυρή δράση) με τον οποίο τα αιμοπετάλια αρχίζουν να συσσωρεύονται, μειώνοντας τη θολερότητα του δείγματος και επιτρέποντας με αυτό τον τρόπο την διέλευση περισσότερης ποσότητας φωτός (εικόνα 6). Η μεταβολή αυτή εντοπίζεται με τη βοήθεια φωτομέτρου που καταγράφει την αύξηση της διέλευσης του φωτός αναλογικά της αιμοπεταλιακής συσσώρευσης.

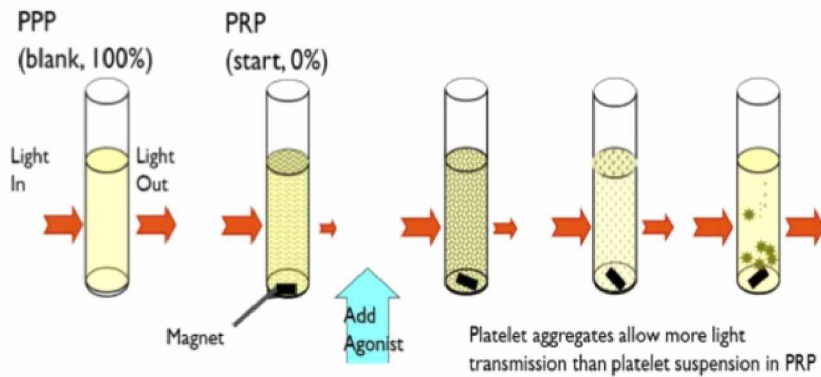
Στο τέλος προκύπτει το ποσοστό της μέγιστης αιμοπεταλιακής συσσώρευσης (MPA %, Maximal Platelet Aggregation), υψηλές τιμές της οποίας υποδηλώνουν και μεγάλη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων και το ποσοστό της αναστολής της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων (IPA%, Inhibition of Platelet Aggregation) υψηλές τιμές του οποίου δείχνουν μεγαλύτερη αντίσταση στο εκάστοτε αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα που μελετάται. Πιο συγκεκριμένα, κατά τη χρήση της τεχνικής LTA ο βέλτιστος ουδός για τον ορισμό της υψηλής υπολειμματικής αντιδραστικότητας αιμοπεταλίων ορίζεται ως ποσοστό αναστολής των αιμοπεταλίων κάτω από 20%(IPA) ή επαγόμενης μέγιστης συσσώρευσης αιμοπεταλίων μεγαλύτερης από 50%(MPA).

Παρότι η μέθοδος είναι ευρέως διαδεδομένη, εντούτοις πολλά από τα προαναλυτικά βήματα της εξέτασης είναι δύσκολο να τυποποιηθούν και επομένως τα αποτελέσματα να μην είναι συγκρίσιμα μεταξύ των εργαστηρίων. Στους περιορισμούς της εξέτασης ανήκει και το γεγονός ότι είναι αρκετά χρονοβόρα, αυξημένου κόστους καθώς επίσης και ότι η χρήση της απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό [49].

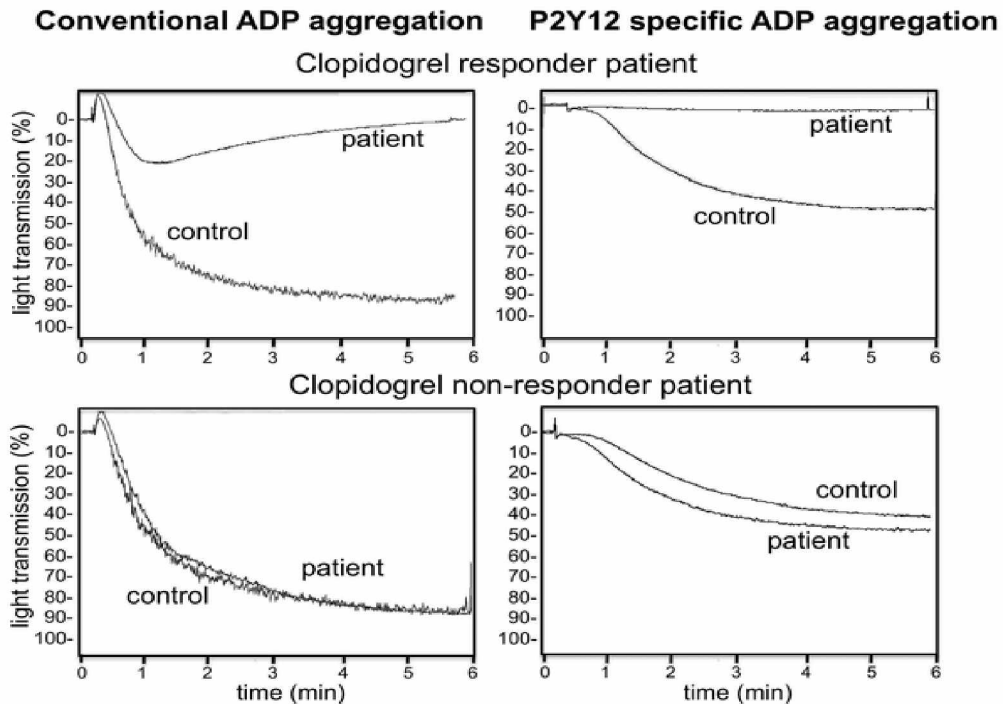


Εικόνα5: Εξαγωγή αποτελεσμάτων. Η συνεχόμενη καταγραφή της οπτικής πυκνότητας δίνει καμπύλες, το σχήμα των οποίων επηρεάζεται από την ενεργοποίηση ή όχι των αιμοπεταλίων.

### Principle of the platelet light transmission aggregation assay



Εικόνα6: Αρχή της μεθόδου. Η προσθήκη ενός αγωνιστή αιμοπεταλίων οδηγεί στην συσσώρευσή τους.



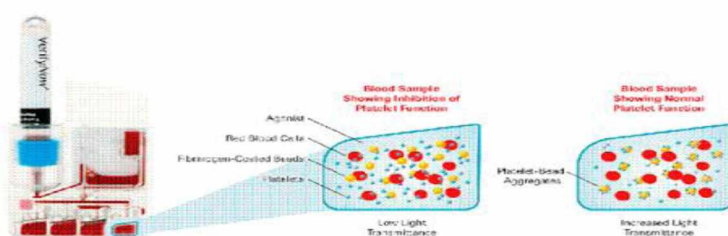
Εικόνα 7: Αντιπροσωπευτικές καμπύλες συσσώρευσης αιμοπεταλίων που αποδεικνύουν την επίδραση της θεραπείας με κλοπιδογρέλη. Στους ασθενείς των δεξιών γραφημάτων χορηγήθηκε PGE1, ενώ στους αντίστοιχους των αριστερών όχι.

Οι πάνω εικόνες παριστούν ασθενείς οι οποίοι ανταποκρίνονται στη θεραπεία με κλοπιδογρέλη, ενώ οι κάτω εικόνες στους ασθενείς που εμφανίζουν αντίσταση σε αυτή. Οι ασθενείς στις ομάδες ελέγχου δεν λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα (εικόνα 7).

### 3.3 VERIFYNOWASSAY

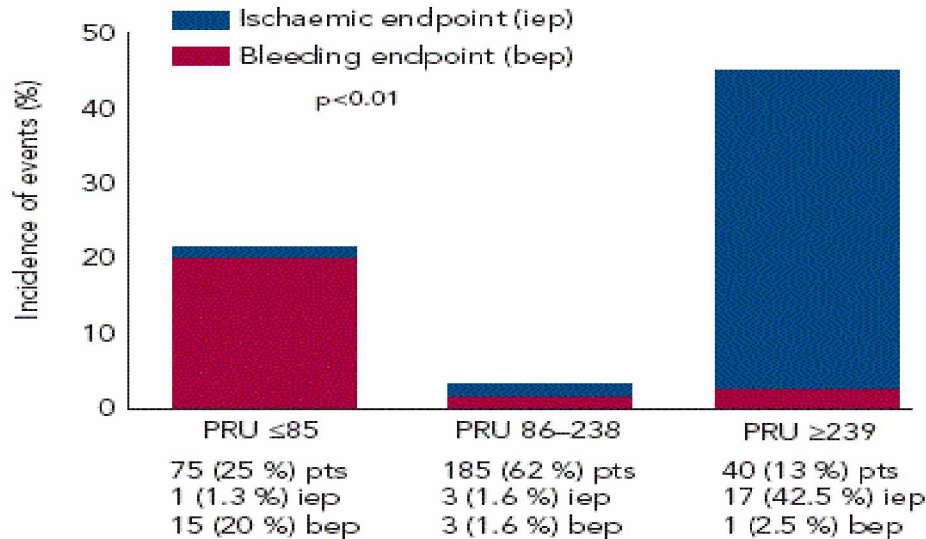


Είναι μια εξέταση αρκετά τυποποιημένη, ελάχιστου χρόνου διεκπεραίωσης που δίνει πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση των αιμοπεταλίων στην ασπιρίνη ή τους P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> αναστολείς. Έχει αρκετά αυτοματοποιημένη λειτουργία, οπότε δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό για την χρήση της. Έτσι πληροί όλα τα κριτήρια ώστε να θεωρείται point-of-care δοκιμασία. Χρησιμοποιείται ολικό αίμα, γεγονός που την καθιστά απλή δοκιμασία και μετρά με φωτόμετρο τη μετάδοση του φωτός μέσα από το δείγμα αίματος του ασθενούς στο οποίο έχει προστεθεί ο υπό μελέτη αγωνιστής (εικόνα 8). Χρησιμοποιείται αραχιδονικό οξύ (AA) στην περίπτωση της ασπιρίνης, ADP στην περίπτωση των αναστολέων των P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> υποδοχέων και ένα πεπτίδιο ενεργοποίησης του υποδοχέα της θρομβίνης για την ανάλυση των αναστολέων της γλυκοπρωτεΐνης GP IIb/IIIa (eptifibatide, abciximab). Σε περίπτωση ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων (αντίσταση στη δράση των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων) η μετάδοση του φωτός είναι και μεγαλύτερη. Τα αποτελέσματα εκφράζονται σε μονάδες αντιδραστικότητας αιμοπεταλίων είτε στην ασπιρίνη (ARU), είτε στους P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> αναστολείς (PRU), με τις υψηλότερες τιμές να αντικατοπτρίζουν και υψηλότερη δραστικότητα και τάση για θρόμβωση. Αξίζει να σημειωθεί πως αξιολογήσιμες δεν είναι μόνο οι υψηλές τιμές (τάση για θρόμβωση) αλλά και οι χαμηλές που υποδηλώνουν αιμορραγική διάθεση. Συγκεκριμένα PRU<85 υποδηλώνουν χαμηλή ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων συμβατή με κίνδυνο αιμορραγίας και PRU>208 υψηλή δραστικότητα αυτών και θρομβωτικές επιπλοκές σε μεγάλες σειρές ασθενών. Τιμές PRU μεταξύ 85 - 208 θεωρούνται εντός θεραπευτικού παραθύρου στο οποίο ελαχιστοποιούνται τόσο οι αιμορραγικές, όσο και οι θρομβωτικές επιπλοκές (εικόνα 9) [45],[49].



Εικόνα8 : VerifyNow δοκιμασία. Ολικό αίμα ασθενούς εισάγεται και μετράται η οπτική πυκνότητα του διαλύματος που προκύπτει μετά από την προσθήκη ενεργοποιητών των αιμοπεταλίων.

**Figure 3: Adverse Events and Response to Platelet Reactivity Testing**



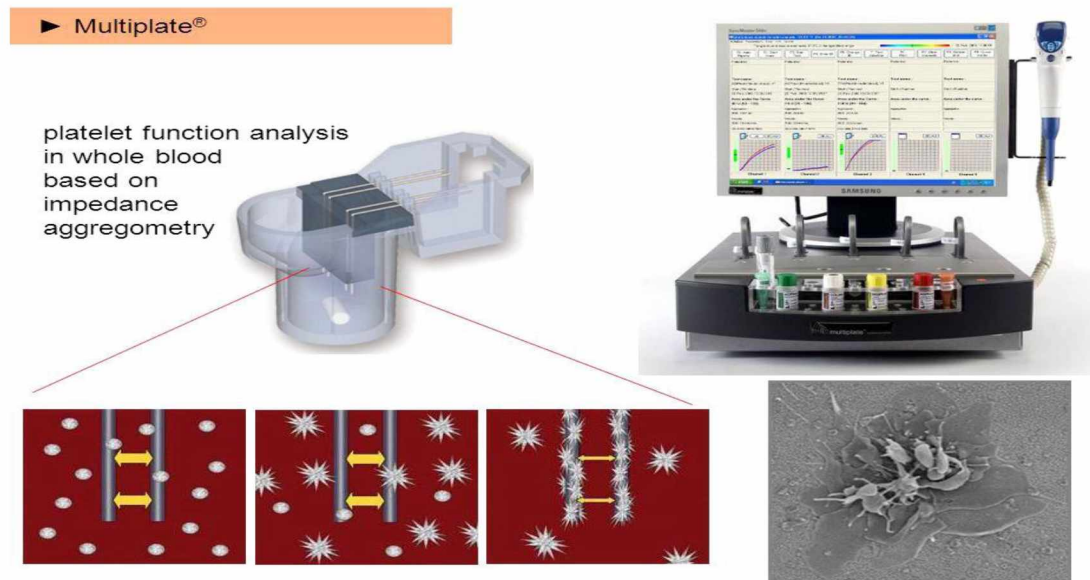
Patients were stratified into groups of enhanced responders (PRU  $\leq 85$ ), normal responders (PRU 86–238) and poor responders (PRU  $\geq 239$ ). PRU = P2Y<sub>12</sub> reactivity unit.  
Source: Adapted from Campo, et al., 2011.<sup>53</sup>

Εικόνα9 : Ανεπιθύμητα συμβάματα σε σχέση με την ανταπόκριση στη μελέτη δραστικότητας των αιμοπεταλίων, αναλόγως των τιμών PRU που εμφάνιζαν οι ασθενείς κατά τη μέθοδο VerifyNow. Οι ενδιαμέσες τιμές 86-238 αποτελούν και το θεραπευτικό παράθυρο στο οποίο ελαχιστοποιούνται τόσο τα θρομβωτικά, όσο και τα αιμορραγικά συμβάματα.

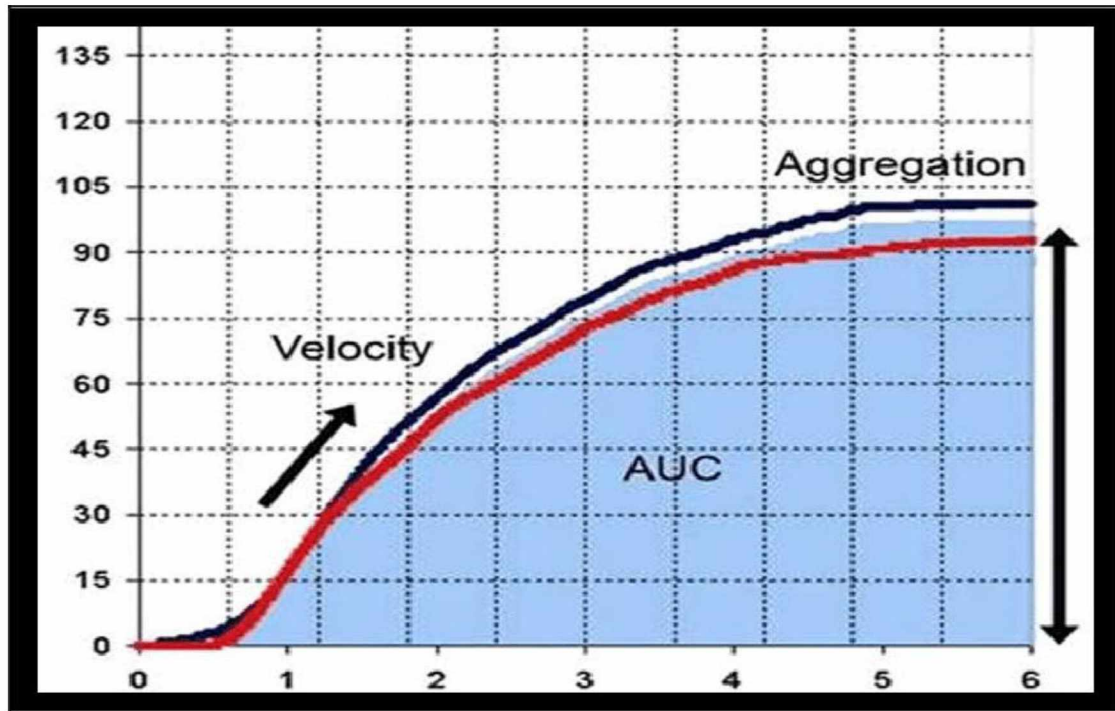
### 3.4 ΕΜΠΕΔΗΣΗΣΤΗΣΥΓΚΟΛΛΗΣΗ (IMPEDANCE PLATELET AGGREGOMETRY)

Μέθοδος με την οποία μετράται η αύξηση της ηλεκτρικής αντίστασης όταν συσσωματώνονται τα αιμοπετάλια παρουσία αγωνιστή πάνω σε επιφάνεια δύο ηλεκτροδίων που βυθίζεται στο υπό εξέταση δείγμα αίματος. Ο πιο συχνά χρησιμοποιούμενος αναλυτής είναι ο Multiplate® analyzer(εικόνα 10) ο οποίος εκτελεί την μέτρηση multiple electrode platelet aggregometry (MEA) σε πέντε διαφορετικά κανάλια επιτρέποντας έτσι την μέτρηση είτε σε πολλαπλά δείγματα ολικού αίματος, είτε την αξιολόγηση του ίδιου του δείγματος σε πολλαπλούς αγωνιστές αιμοπεταλίων. Στα

αποτελέσματα αξιολογούνται οι εξής παράγοντες: η συσσώρευση (από το ύψος της καμπύλης που δημιουργείται), η ταχύτητα (από την μέγιστη γωνία της καμπύλης) και την περιοχή κάτω από την καμπύλη (area under the curve- AUC) αντικατοπτρίζει το ποσοστό των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων (εικόνα 11). Λόγω του ότι σε ένα στάδιο της διαδικασίας γίνεται χρήση πιπιλέτας, δεν μπορεί να θεωρηθεί point-of-care μέθοδος [50].



Εικόνα10: Multiplate® Analyzer. Cardinal DC, Flower RJ. The Electronic Aggregometer: A novel device for assessing platelet behaviour in blood. Journal of Pharmacological Methods. 1980: 135-58

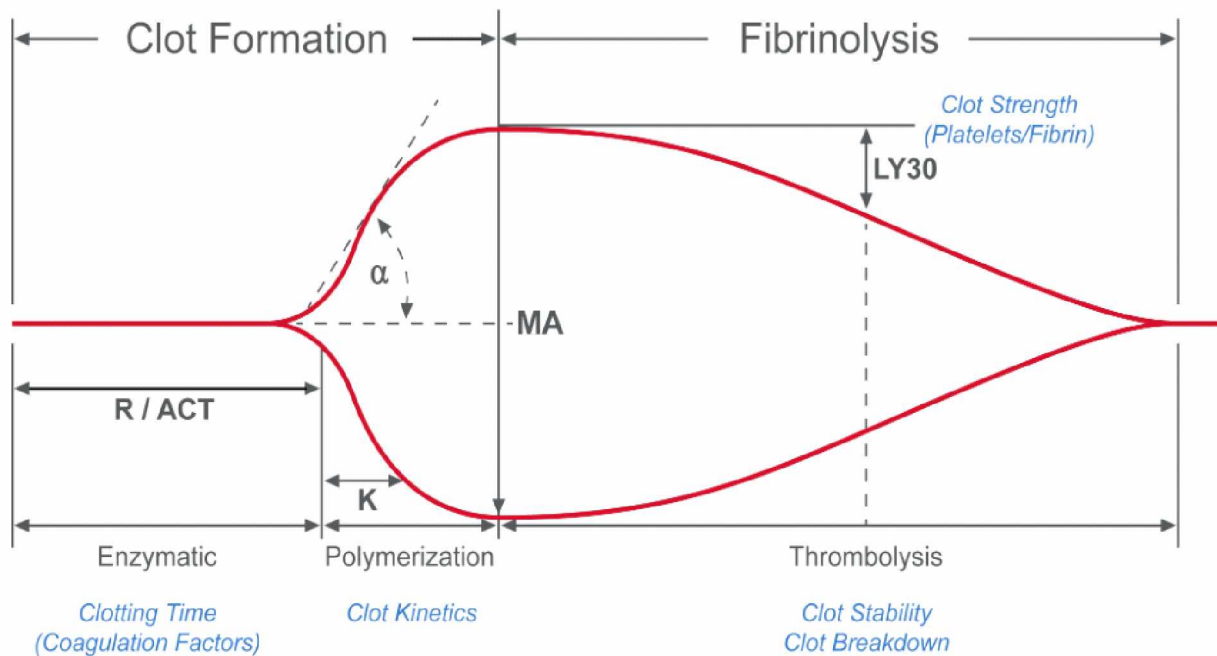


Εικόνα 11: Αποτελέσματα του αναλυτή. Συσσώρευση (aggregation), ταχύτητα συσσώρευσης (velocity), περιοχή κάτω από την καμπύλη (AUC). Wurtz M, Hvas AM, et al. Rapid evaluation of platelet function using the Multiplate(R) Analyzer. Platelets. 2014; 25: 628-33

### 3.5 ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ (THROMBOELASTOGRAPHY- TEG)

Ανήκει στις σφαιρικές δοκιμασίες της πήξης, δίνοντας πληροφορίες σε πραγματικό χρόνο για τη δημιουργία του θρόμβου. Ολικό αίμα τοποθετείται σε ειδική κυψελίδα μέσα στην οποία περιστρέφεται ένα έμβολο. Η ενεργοποίηση της πήξης και η δημιουργία θρόμβου εμποδίζει αυτήν την περιστροφή δίνοντας γραφικά και ποσοτικά παραμέτρους που αφορούν την κινητική, το μέγεθος του θρόμβου και τον βαθμό λύσης του. και αναπαράγοντας συνθήκες in vivo αιμόστασης (εικόνα 12). Δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα από την κλινική χρήση της μεθόδου. Ομοίως με την προηγούμενη μέθοδο (MEA) δεν θεωρείται point-of-care μέθοδος [51].

#### Measure all phases of hemostasis in whole blood

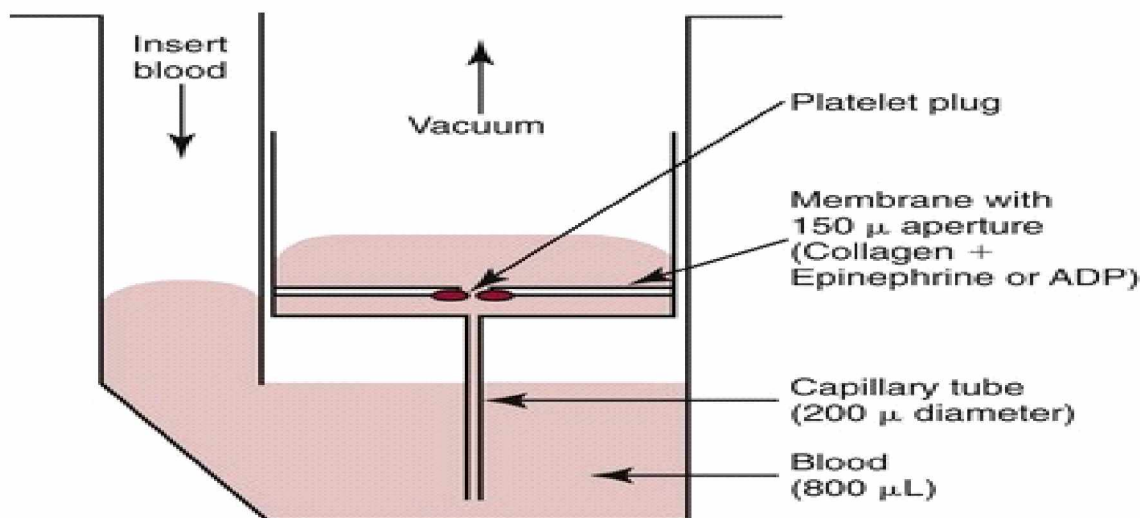


The TEG® hemostasis system continuously measures all phases of hemostasis as a net product of whole blood components.

Εικόνα 12 : Thromboelastography® (TEG®). Πληροφορίες που λαμβάνονται από τη μέθοδο και αφορούν τον χρόνο πήξης, τους παράγοντες πήξης (R/ACT), την κινητικότητα των θρόμβων (K,α), τη σταθερότητα του θρόμβου (LY30). WhitingP, AIM, WestwoodM, RamosIC, RyderS, ArmstrongN, MissoK, RossJ, SeverensJ, KleijnenJ. Viscoelastic point-of-care test in gtoassist with the diagnosis, management and monitoring of haemostasis: a systematic review and cost-effectiveness analysis. Health Technology Assessment. 2015;19(58):1-228, v-vi.

### 3.6 ΑΝΑΛΥΤΗΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ (PFA- 100)/ (PFA-200)

Η μέθοδος αφορά στον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και τείνει να αντικαταστήσει το χρόνο ροής. Θεωρείται point-of-care εξέταση. Χρειάζεται μικρούς όγκους δείγματος και δεν απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό για την λειτουργία του. Χρησιμοποιείται δείγμα ολικού αίματος, το οποίο αναρροφάται εντός τριχοειδούς που μιμείται την φυσιολογική μικροκυκλοφορία προς δύο φιαλίδια (εικόνα 13). Αυτά έχουν στην άκρη τους μία μεμβράνη με μία μικροσκοπική οπή της τάξης των 150μm, η οποία επικαλύπτεται με κολλαγόνο και ADP (CADP) ή με κολλαγόνο και επινεφρίνη (CEPI). Μελετάται ο χρόνος που χρειάζεται να κλείσει η οπή και ονομάζεται χρόνος σύγκλεισης (closure time-CT). Τα δύο φιαλίδια αποσκοπούν στη διαφοροποίηση των πιο σοβαρών ανωμαλιών (θρομβασθένεια Glanzmann, σύνδρομο Bernard-Soulier, νόσος von Willebrand), από τις διαταραχές που οφείλονται στα αντιαιμοπεταλιακά. Έχει χρησιμοποιηθεί ιδιαίτερα για την ανταπόκριση στη χρήση της ασπιρίνης, ενώ για την χρήση των αναστολέων P2Y12 μεγαλύτερη ευαισθησία έχει ο αναλυτής PFA-200, ο οποίος έχει παρόμοιο πρωτόκολλο με τον PFA- 100 με διαφορά την επικάλυψη της μεμβράνης (στον PFA-200 στη μεμβράνη έχουν προσρροφηθεί με ADP, προσταγλανδίνη E (PGE1) και χλωριούχο ασβέστιο.



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση της αρχής λειτουργίας ενός αναλυτή PFA-100. Jilma, B., Platelet function analyzer (PFA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. JLabClinMed, 2001. 138(3): p. 152-63

Στον ακόλουθο πίνακα φαίνεται επιγραμματικά η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του αναλυτή PFA-100.

*Πίνακας 1 : Αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του αναλυτή PFA-100.*

Favaloro, E.J., Clinical utility of the PFA-100. *Semin ThrombHemost*, 2008. 34(8): p. 709-33

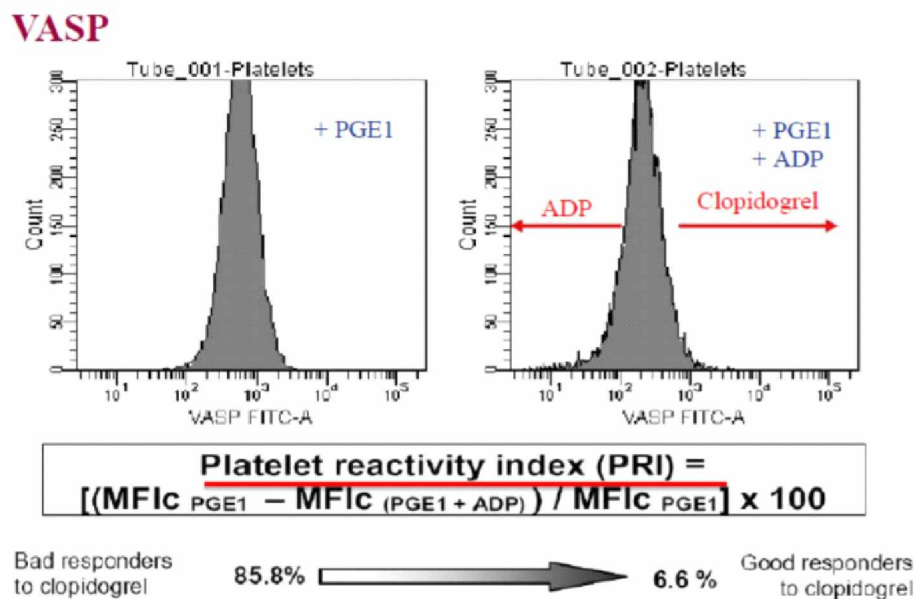
| Disorder  | CT Collagen-ADP                 | CT Collagen-EPI                 |
|---|---------------------------------|---------------------------------|
| Normal  | N                               | N                               |
| Aspirin and NSAIDs                                      | N                               | ↑                               |
| ADP receptor disorders including the use of Clopidogrel | N or ↑                          | N or ↑                          |
| BSS   | ↑                               | ↑                               |
| GTT   | ↑                               | ↑                               |
| VWD   | ↑                               | ↑                               |
| Platelet-Type VWD                                       | ↑                               | ↑                               |
| Dense Granule Deficiency                                | N or ↑                          | N or ↑                          |
| Primary Secretion Defects                               | N or ↑                          | N or ↑                          |
| Gray Platelet Syndrome                                  | ↑                               | ↑                               |
| MYH9-related Disorders                                  | N                               | ↑                               |
| Scott Syndrome  | N                               | N                               |
| MDS   | N or ↑                          | N or ↑                          |
| Liver Disease   | ↑ [possibly as a result of ↓Hb] | ↑ [possibly as a result of ↓Hb] |
| Uraemia   | ↑ [possibly as a result of ↓Hb] | ↑ [possibly as a result of ↓Hb] |
| Low Haematocrit   | N                               | ↑                               |

Οι αναλυτές PFA-100/200 είναι απλοί στη χρήση και ευαίσθητοι στις δυσλειτουργίες της πρωτογενούς αιμόστασης. Ωστόσο ένας μη φυσιολογικός χρόνος σύγκλεισης είναι πρωτίστως προγνωστικός παρά ενδεικτικός μιας συγκεκριμένης δυσλειτουργίας. Έχουν σχετική ευαισθησία σε ήπιες διαταραχές των αιμοπεταλίων οπότε υπάρχει ενός βαθμού περιορισμός στην χρήση του ως screening test γι' αυτές τις περιπτώσεις[52],[53].

### 3.7 ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ

#### 3.7.1 ΦΩΣΦΟΥΡΥΛΙΩΣΗ ΤΗΣ ΦΩΣΦΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ VASP (VASP ASSAY)

Βασίζεται στη κυτταρομετρία ροής προσδιορίζοντας την διεγερόμενη από αγγειοδιασταλτικά φωσφοπρωτεΐνη. Συγκεκριμένα δύο δείγματα αίματος του ασθενή σε φιαλίδια που έχουν κεντρωθεί με PGE<sub>1</sub> και στο ένα εξ' αυτών εγχύεται και ADP. 10 λεπτά αργότερα χορηγείται μονοκλωνικό αντίσωμα που δεσμεύει την σερίνη-239 της φωσφοπρωτεΐνης VASP. Μέσω της κυτταρομετρίας ροής μετριοούνται στη συνέχεια τα μονοκλωνικά αντισώματα και κατ' επέκταση ο λόγος της αποφωσφορυλιωμένης προς την φωσφορυλιωμένη VASP. Η αναλογία εκφράζεται ως δείκτης δραστηριότητας των αιμοπεταλίων (PRI) με τις χαμηλές τιμές του δείκτη να υποδεικνύουν καλή αναστολή τους, δεδομένου πως η φωσφορυλίωση αφορά τα μη ενεργοποιημένα αιμοπετάλια (εικόνα 14)[45],[49],[54].



Εικόνα 14 : Καμπύλες που προκύπτουν στην κυτταρομετρία ροής αναλόγως της φωσφορυλίωσης ή μη της δοκιμασίας VASP. Η ανίχνευση γίνεται με μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο δεσμεύει την φωσφορυλιωμένη μορφή. Η επιτυχής αναστολή των υποδοχέων P2Y<sub>12</sub> μετατοπίζει προς τα δεξιά την καμπύλη αφού αυξάνει την φωσφορυλιωμένη μορφή και ελαττώνει τον δείκτη αιμοπεταλιακής δραστηριότητας- PRI.



### 3.7.2 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ P- SELECTIN ΣΤΗΝ ΕΠΙΦΑΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Με την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων η p-σελεκτίνη μετατοπίζεται από τα α-κοκκία στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων, προσελκύνοντας λευκά αιμοσφαίρια. Από τη στιγμή που υφίσταται μόνο στην επιφάνεια των ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων αποτελεί δείκτη ενεργοποίησής τους. Μετρώντας την επαγόμενη από τον υπό μελέτη αγωνιστή p-σελεκτίνη μέσω της κυτταρομετρίας ροής ελέγχεται η ανταπόκριση στη θεραπεία[55],[56].

### 3.7.3 ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ GP IIb/IIIa

Η κυτταρομετρία ροής δίνει την δυνατότητα μέτρησης των ενεργοποιημένων υποδοχέων GP IIb/IIIa οι οποίοι δύνανται να συνδέσουν σε δίκτυο μέσω του ινωδογόνου τα αιμοπετάλια μεταξύ τους. Η μέτρηση γίνεται αφού δοθεί και πάλι ο κατάλληλος αγωνιστής, ανάλογα της θεραπείας που κάθε φορά ελέγχεται[56].

### 3.7.4 ΚΥΚΛΟΦΟΡΟΥΜΕΝΑ ΣΥΜΠΛΕΓΜΑΤΑ ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ- ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

Η κυτταρομετρία ροής μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στη μέτρηση των συμπλεγμάτων των αιμοπεταλίων με τα μονοκύτταρα, ένας δείκτης που είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στην απόδειξη ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Για την εν λόγω εξέταση χρησιμοποιείται κι εδώ αγωνιστής ανάλογα με ποιο αντιαιμοπεταλιακό εξετάζεται κάθε φορά[55],[57],[58].

## 3.8 ΓΕΝΕΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Γονοτυπικός έλεγχος των ηπατικών ισοενζύμων CYP P-450 επιτρέπει τον προσδιορισμό των πολυμορφισμών εκείνων που οδηγούν είτε σε απώλεια, είτε σε ενίσχυση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με κλοπιδογρέλη δεδομένου ότι η τελευταία αποτελεί προφάρμακο με εκτεταμένο μεταβολισμό προς ενεργό μεταβολίτη. Επιπλέον με γονότυπο μπορούν να τεκμηριωθούν πολυμορφισμοί του ABCB<sub>1</sub> γονιδίου που κωδικοποιεί διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη του εντερικού επιθηλίου, υπεύθυνη για τη μεταφορά της κλοπιδογρέλης και ενδεχομένως επαρκές αίτιο για την αντίσταση στη δράση τη[59],[60],[61],[62],[63].

## 3.9 PLATELETS MICRORNAs

Έχει αποδειχθεί πως ορισμένα απ' τα κυκλοφορούντα μικροσωματίδια αιμοπεταλίων (microparticles) με συγκεκριμένα κλάσματα mRNA εντός αυτών, συσχετίζονται θετικά με πολλαπλούς παράγοντες κινδύνου αθηροθρόμβωσης. Σχετίζονται επίσης αναλογικά με το βαθμό της αιμοπεταλιακής ενεργοποίησης και κατ' επέκταση ο προσδιορισμός τους, ο οποίος γίνεται με τη μέθοδο της PCR, θα μπορούσε να συσχετιστεί με την ανταπόκριση του ασθενούς στα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα [64],[65],[66].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

Οι δοκιμασίες της πήξης που γίνονται στο εργαστήριο αποτελούν μια προσπάθεια τέλεσης *in vitro* μιας διαδικασίας που φυσιολογικά συμβαίνει *in vivo*. Θέλει προσοχή διότι μπορεί να ληφθούν παραπλανητικά αποτελέσματα. Έτσι αποτελέσματα εντός των φυσιολογικών τιμών δεν συνεπάγονται εντελώς φυσιολογική αιμόσταση, αλλά και αποτελέσματα εκτός των φυσιολογικών τιμών δε σημαίνει πάντα μη φυσιολογική αιμόσταση.

### 4.1 ΧΡΟΝΟΣΠΡΟΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (PROTHROMBIN TIME,PT)

Αποτελεί την πιο συχνή εργαστηριακή δοκιμασία που χρησιμοποιείται παγκοσμίως. Μετρά τα επίπεδα δραστηριότητας των παραγόντων πήξης που συμμετέχουν στην εξωγενή αλλά και στην κοινή οδό της πήξης. Αυτοί οι παράγοντες περιλαμβάνουν το ινωδογόνο (παράγοντας I), την προθρομβίνη (παράγοντας II) και τους παράγοντες V, VII, και X. Ο χρόνος προθρομβίνης χρησιμοποιείται επίσης για την παρακολούθηση της αποτελεσματικότητας της αντιπηκτικής θεραπείας με βαρφαρίνη (κουμαρινικά αντιπηκτικά) αφού το φάρμακο παρεμβαίνει στην παραγωγή των παραγόντων πήξεως εξαρτώμενους από τη βιταμίνη K, όπως είναι η προθρομβίνη. Η εξέταση μπορεί να εκτελεστεί είτε σύμφωνα με τον Quick είτε σαν τροποποιημένος χρόνος σύμφωνα με τον Owren (η δοκιμασία αυτή καλείται θρομβοτεστ) [67]. Στον χρόνο Quick το αντιδραστήριο περιέχει ιστικό παράγοντα, πηγή φωσφολιπιδίων (επειδή το πλάσμα είναι φτωχό σε αιμοπετάλια και φωσφολιπίδια) και ιόντα ασβεστίου (επειδή το αντιπηκτικό του δειγματοληπτικού φιαλιδίου -κιτρικό νάτριο- δεσμεύει το ασβέστιο του πλάσματος που είναι απαραίτητο για τις αντιδράσεις της πήξης). Το αίμα που λαμβάνεται από τον ασθενή τοποθετείται σε φιαλίδια με κιτρικό νάτριο σε αναλογία αίματος:κιτρικού νατρίου που είναι 9:1. Το κιτρικό νάτριο δρα ως αντιπηκτικό δεσμεύοντας το ασβέστιο του πλάσματος. Έτσι, για να αναπληρωθεί το ασβέστιο που έχει δεσμευτεί από το αντιπηκτικό και να ξεκινήσει η διαδικασία σχηματισμού θρόμβου, η δοκιμασία απαιτεί την προσθήκη ασβεστίου. Η ύπαρξη αιμοπεταλίων στο πλάσμα είναι απαραίτητη γιατί βοηθούν στην πιο αποτελεσματική δράση της θρομβοπλαστίνης. Ο χρόνος που μεσολαβεί από τη στιγμή της προσθήκης του αντιδραστηρίου μέχρι την πήξη του πλάσματος καταγράφεται σε δευτερόλεπτα που κυμαίνονται φυσιολογικά από 10"-15". Είναι σημαντικό επίσης να γνωρίζουμε ότι η δοκιμασία του PT μπορεί να είναι φυσιολογική ακόμα και όταν τα επίπεδα των παραγόντων πήξης αγγίζουν το ~30% των φυσιολογικών (σε μεμονωμένη ανεπάρκεια παράγοντα) ή το ~50% (σε ταυτόχρονη ανεπάρκεια περισσότερων του ενός παραγόντων).

Στον χρόνο Owren's χρησιμοποιείται το ίδιο αντιδραστήριο όμως έχει προστεθεί ο παράγοντας V και ινωδογόνο. Αυτοί οι δύο παράγοντες δεν εξαρτώνται από την βιταμίνη K και έτσι σε χορήγηση VKAs δεν επηρεάζεται ο χρόνος προθρομβίνης. Ο PT εξαρτάται από την θρομβοπλασίνη (ιστικά εκχυλίσματα εγκεφάλου ή πνεύμονα κουνελιού – ιστικός παράγοντας και φωσφολιπίδια) που θα χρησιμοποιηθεί. Κάθε αντιδραστήριο θρομβοπλαστικής συνοδεύεται από τον διεθνή δείκτη ευαισθησίας - δίδεται από την κατασκευάστρια εταιρία - ( ISI- INTERNATIONAL SENSITIVITY INDEX) , ο οποίος δείχνει την σχέση της με την πρότυπη θρομβοπλαστική αναφοράς του Παγκόσμιου Οργανισμού υγείας ( WHO- WORLD HEALTH ORGANIZATION) που έχει εξορισμού δείκτη ISI 1.0. Αρχικά, η έλλειψη τυποποίησης των θρομβοπλαστικών (η θρομβοπλαστική που εμπορεύεται η κάθε εταιρεία εμφανίζει διαφορετική ευαισθησία στους παράγοντες πήξης) και των μεθόδων έκφρασης του PT οδήγησε σε μεγάλες αποκλίσεις στα αποτελέσματα. Η χρήση του ISI και του διεθνή δείκτη ομαλοποίησης - INR (INTERNATIONAL NORMALIZED RATIO) βοήθησε ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι διαφορές και να μπορούν να συγκριθούν τα αποτελέσματα που προκύπτουν από διαφορετικά εργαστήρια αλλά και τα αποτελέσματα του ίδιου εργαστηρίου σε κάθε αλλαγή παρτίδας αντιδραστηρίου. Ο διεθνής δείκτης ομαλοποίησης δείχνει τη σχέση του χρόνου προθρομβίνης του ασθενούς με τον χρόνο προθρομβίνης του μάρτυρα (ο χρόνος που προκύπτει με βάση την πρότυπη προθρομβίνη). Ο δείκτης INR προκύπτει με βάση τον τύπο:

$$\text{INR} = (\text{PT}_{\text{ασθενούς}} / \text{PT}_{\text{φυσιολογικού μάρτυρα}})^{\text{ISI}}$$

Η εξέταση PT μπορεί να δίνει φυσιολογικά αποτελέσματα ακόμα και στην περίπτωση που τα επίπεδα των παραγόντων πήξης είναι έως του 30% των φυσιολογικών επιπέδων (σε μεμονωμένη ανεπάρκεια παράγοντα) ή έως του 50% (στην περίπτωση που ανεπαρκούν περισσότεροι του ενός παράγοντες). Οι τιμές αναφοράς του INR κυμαίνονται από 0,85-1,15. Με το σύστημα INR/ISI το INR του πλάσματος ενός ασθενούς θα πρέπει να είναι το ίδιο σε όλα τα εργαστήρια ανεξάρτητα από την ευαισθησία της χρησιμοποιούμενης θρομβοπλαστικής. Η διατήρηση ενός INR μεταξύ 2,0 – 3,0 (ήπια αντιπηκτική αγωγή) συνιστάται για προφύλαξη και θεραπεία της φλεβικής θρόμβωσης και των θρομβοεμβολικών επιπλοκών που συνδέονται με κολπική μαρμαρυγή, στην πνευμονική εμβολή, για την προφύλαξη από συστηματικές εμβολές μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου καθώς και για βιοπροσθετικές καρδιακές βαλβίδες. Ένα υψηλότερο INR 2,5 – 3,5 (εντατική αντιπηκτική αγωγή) συνιστάται σε αντικατάσταση καρδιακής βαλβίδας με μηχανική βαλβίδα και στο αντιφωσφολιπιδαιμικό σύνδρομο. Η συχνότητα διενέργειας της εξέτασης για να επιτευχθεί και να διατηρηθεί το συνιστώμενο επίπεδο INR, βασίζεται στην κλινική κατάσταση του ασθενούς. Στην περίπτωση υπερδοσολογίας βαρφαρίνης με επακόλουθη αιμορραγία, το αντίδοτο είναι η βιταμίνη K, η οποία αντιστρέφει την δράση της βαρφαρίνης σε 12 έως 24 ώρες.

Το γεγονός ότι δεν υπάρχει goldstandard στην μέθοδο μέτρησης του PT οδηγεί να δίδεται η σύσταση στους ασθενείς που λαμβάνουν VKAs να ελέγχουν τον PT/INR στο ίδιο εργαστήριο με το ίδιο πρωτόκολλο, εφ' όσον είναι δυνατόν [68]. Οι έμμεσοι αναστολείς της θρομβίνης και του παράγοντα Χα (UFH, LMWH, fondaparinux) δεν επηρεάζουν το PT/INR. Αντιθέτως, από τους άμεσους αναστολείς της θρομβίνης οι bivalirudin, argatroban και dabigatran επιμηκύνουν μέτρια το PT, οπότε η εξέταση αυτή δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση της συγκέντρωσης αυτών των φαρμάκων. Το PT με φυσιολογικές τιμές δεν μπορεί από μόνο του να αποκλείσει την ύπαρξη άμεσων αναστολέων στην κυκλοφορία [69]. Οι υπόλοιποι άμεσοι αναστολείς, rivaroxaban και apixaban προκαλούν οριακή επιμήκυνση του PT [70],[71]. Ο χρόνος Owren's PT έχει μειωμένη ευαισθησία στους άμεσους αναστολείς του παράγοντα Χα συγκριτικά με τον χρόνο Quick [72]. Σε υπερδοσολογία rivaroxaban θα παρατηρηθεί παράταση του PT, παρ' όλα αυτά δεν προτείνεται ως μέθοδος εκλογής για την παρακολούθηση των επιπέδων αυτού του φαρμάκου στο πλάσμα διότι δεν υπάρχει γραμμικότητα στη σχέση τους [73]. Ομοίως, η χρήση του PT δεν μπορεί να αποτελέσει μέθοδο εκλογής στην παρακολούθηση των επιπέδων του apixaban [74].

#### **4.2 ΧΡΟΝΟΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΜΕΡΙΚΗΣ ΘΡΟΜΒΟΠΛΑΣΤΙΝΗΣ (ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME-APTT)**

Ο χρόνος ενεργοποιημένης μερικής θρομβοπλαστίνης μετρά τον χρόνο πήξης του πλάσματος μετά την ενεργοποίηση των παραγόντων του συστήματος επαφής με την προσθήκη στο πλάσμα ενεργοποιητών του συστήματος επαφής ( αρνητικά φορτισμένα σωματίδια καολίνης, διοξειδίου του πυριτίου, ελλαγικού οξέος), φωσφολιπιδίων και ασβεστίου. Η καολίνη ενεργοποιεί με σταθερό τρόπο την αντίδραση και γι' αυτό καλείται και χρόνος ενεργοποιημένης κεφαλίνης ή και χρόνος κεφαλίνης-καολίνης. Αντικατοπτρίζει την αποτελεσματικότητα της ενδογενούς οδού της πήξης, του συστήματος επαφής (HMVK, XI, XII), αλλά και της κοινής οδού (παράγοντες V, X, προθρομβίνης και ινωδογόνου). Είναι δοκιμασία ιδιαίτερα ευαίσθητη στην παρουσία κυκλοφορούντων αντιπηκτικών (αντιπηκτικό του λύκου, αναστολείς παραγόντων) και ηπαρίνης. Η χρησιμοποιούμενη θρομβοπλαστίνη κατα την εκτέλεση του χρόνου προθρομβίνης είναι υδατικό διάλυμα ιστικής θρομβοπλαστίνης και καλύπτει την εξωγενή οδό καθώς και τον παράγοντα VIII γι' αυτό και θεωρείται ως "πλήρη" θρομβοπλαστίνη. Όταν όμως γίνει επεξεργασία της με αιθέρα ή χλωροφόρμιο τότε παρουσιάζει ειδικότητα στην ενδογενή οδό και ιδιαίτερα στον παράγοντα VIII. Η επεξεργασμένη θρομβοπλαστίνη καλείται ατελής ή μερική θρομβοπλαστίνη και είναι η κεφαλίνη. Παρόμοια με τον χρόνο προθρομβίνης, το aPTT μπορεί να δίνει φυσιολογικά αποτελέσματα όταν τα επίπεδα των παραγόντων πήξης είναι έως του 30% των φυσιολογικών (σε μεμονωμένη ανεπάρκεια παράγοντα) ή είναι έως του 50% (στην

περίπτωση που ανεπαρκούν περισσότεροι του ενός παράγοντες). Το aPTT εκφράζεται σε sec και οι φυσιολογικές τιμές εξαρτώνται από τους μάρτυρες που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο (συνηθέστερα όρια: 26"-36"). Όταν γίνεται λήψη VKAs ή σε ανεπάρκεια βιταμίνης K εκτός από την παράταση του PT παρατηρούμε κάποιες φορές μια μέτρια παράταση του APTT. Αυτό εξηγείται διότι στην κοινή οδό συμμετέχει και ο παράγοντας IX (βιταμινο-K εξαρτώμενος). Αυτό το γεγονός συμβαίνει όμως μόνο όταν τα δραστικά επίπεδα του παράγοντα IX είναι κάτω από το 40%. Μεμονωμένη παράταση του APTT συχνά οφείλεται σε ανεπάρκεια παράγοντα XII χωρίς αυτό να συνεπάγεται και αιμορραγική διάθεση στον ασθενή. Εξαιτίας του γεγονότος όμως ότι η εξέταση δεν έχει τυποποιηθεί και κυκλοφορούν αντιδραστήρια με διαφορετικό αριθμό παρτίδας, έχει παρατηρηθεί ευρεία διακύμανση των αποτελεσμάτων του APTT στη χορηγούμενη δόση ηπαρίνης. Έτσι τιμές εντός του θεραπευτικού εύρους 1.5 έως 2.5 φορές τη φυσιολογική τιμή του APTT (APTT ratio) αντανakλά διαφορετικές δόσεις ηπαρίνης αλλά και διαφορετικές συγκεντρώσεις ηπαρίνης όταν χρησιμοποιούνται διαφορετικά αντιδραστήρια. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να επιλυθεί εάν το αντιδραστήριο τυποποιείται έναντι του αντι-Χα (0.30-0.70 IU/ml) ή του αντι-IIa (0.20-0.40 IU/ml). Η διαδικασία αυτή θα πρέπει να επαναλαμβάνεται κάθε φορά που το αντιδραστήριο αλλάζει αριθμό παρτίδας. Είναι όμως μια πρακτική που δεν είναι εύκολα εφικτή σε πολλά από τα εργαστήρια [69]. Ενώ η λήψη VKAs δεν επηρεάζει το APTT εκτός των παραπάνω περιπτώσεων, η παρακολούθηση της θεραπείας με ηπαρίνη γίνεται με τη χρήση του APTT καθότι είναι ευαίσθητο σε όλους του παράγοντες πήξης που αποτελούν στόχο της UFH. Επιπλέον η εξέταση μέτρησης του APTT είναι απλή, αυτοματοποιημένη και εύκολα αναπαραγώγιμη διαδικασία, σχετικά ελάχιστου κόστους τα αποτελέσματα της οποίας σχετίζονται γραμμικά με τα θεραπευτικά επίπεδα της UFH, δεδομένου ότι το μόριο της UFH συνδέεται με το σύμπλεγμα αντιθρομβίνης-AT III /παράγοντα Χα και με το σύμπλεγμα αντιθρομβίνης-AT III /θρομβίνης σε αναλογία 1:1 αυξάνοντας την αντιθρομβωτική δράση της έναντι της θρομβίνης και του παράγοντα Χα [70]. Λιγότερες από τις μισές αλυσούς των LMWH είναι αρκετά μακριές (μεγαλύτερες από 18 σακχαριτιδικών μονάδων-μαζί με τον πεντασακχαρίτη- που αντιστοιχεί σε MB περίπου 5400). Έτσι ο λόγος αντιΧα / αντι II a ποικίλει ανάλογα με την κατανομή του MB από 2:1 έως 4:1 και δεν μπορεί να γίνει παρακολούθηση, με την χρήση του APTT, της θεραπείας με τις LMWH. Αν και ο χρόνος APTT συχνά παρατείνεται στη θεραπεία με LMWH δεν αποτελεί αρκετά ευαίσθητη μέθοδο παρακολούθησης της θεραπείας. Το μέγεθος της επιμήκυνσης εξαρτάται από τον τύπο της LMWH και την δυνατότητα να αναστέλλει την θρομβίνη καθώς επίσης και την ευαισθησία του αντιδραστήριου. Ιδιαίτερη περίπτωση αποτελεί ο έμμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα, το fondaparinux καθώς αποτελείται μόνο από τον συνθετικό πεντασακχαρίτη που αρκεί για να συνδεθεί με την αντιθρομβίνη αλλά στερείται οποιασδήποτε αντι- II a

δραστηριότητας οπότε δεν επηρεάζει καθόλου το ΑΡΤΤ [71]. Οι άμεσοι αναστολείς του παράγοντα Χα δεν δύναται να ελεγχθούν με το ΑΡΤΤ γιατί ο τρόπος με τον οποίο επιδρούν επάνω του είναι μη γραμμικός. Επιπλέον παρατηρείται μηδενική παράταση του ακόμη και σε υψηλά επίπεδα αντί Χα δραστηριότητας. Οι άμεσοι αναστολείς της θρομβίνης που χορηγούνται παρεντερικώς προκαλούν παράταση του ΑΡΤΤ. Στην κλινική πράξη παρότι δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία που να τεκμηριώνουν τη χρήση αυτής της εξέτασης, γίνεται χρήση της για την παρακολούθηση της δράσης αυτών των φαρμάκων [74],[75]. Τέλος το dabigatran παρατείνει το ΑΡΤΤ σε χαμηλές συγκεντρώσεις του φαρμάκου, φτάνοντας σε πλατό στις μέγιστες θεραπευτικές του συγκεντρώσεις. Όμως η χρήση του ΑΡΤΤ δεν παρέχει στοιχεία σε υποθεραπευτικές δόσεις του dabigatran [49] [72].

### 4.3 ΧΡΟΝΟΣΘΡΟΜΒΙΝΗΣ (ΤΤ-THROMBIN TIME)

Μετρά τον σχηματισμό ινικής που προκαλείται από τη δράση της θρομβίνης – στο τελευταίο βήμα του καταρράκτη της πήξης. Η αρχή της εξέτασης έγκειται στην προσθήκη γνωστής συγκέντρωσης θρομβίνης σε πλάσμα ασθενούς και καταγραφή, σε δευτερόλεπτα, του χρόνου που χρειάζεται για τον σχηματισμό θρόμβου. Μελετά δηλαδή την αιμόσταση από την υδρόλυση του ινωδογόνου και μετά, μέχρι τη δημιουργία ινώδους και για το λόγο αυτό δεν επηρεάζεται από οποιαδήποτε ανεπάρκεια άλλων παραγόντων της πήξης πλην του ινωδογόνου. Επομένως η δοκιμασία επηρεάζεται είτε από διαταραχές του ινωδογόνου, είτε από παρουσία ανασταλτικών ουσιών. Ο χρόνος θρομβίνης είναι ο πιο ευαίσθητος δείκτης της δράσης της κλασικής ηπαρίνης αλλά και των υπόλοιπων αναστολέων της θρομβίνης όπως η λεπιρουδίνη, το Argatroban, το Danaparoid και το dabigatran. Αυτή η εξέταση δίνει πληροφορίες για τη αναστολή της θρομβίνης και οι τιμές αναφοράς είναι μεταξύ 10"- 19". Παρότι όμως η UFH προκαλεί σημαντική παράταση του ΤΤ, αυτή η εξέταση δεν χρησιμοποιείται ως ρουτίνα για την παρακολούθηση της θεραπείας με αυτό το φάρμακο. Είναι όμως χρήσιμη στη διαφοροδιάγνωση της δράσης της ηπαρίνης από τη δράση αντισωμάτων της πήξης που εξαρτώνται από φωσφολιπίδια όπως το αντιπηκτικό του λύκου (μπορεί να παρατείνεται το ΑΡΤΤ, αλλά ο χρόνος ΤΤ παραμένει φυσιολογικός). Τόσο τα VKAs όσο και οι LMWH, το fondaparinux αλλά και οι άμεσοι αναστολείς του παράγοντα Χα δεν προκαλούν καμία αλλαγή στον χρόνο ΤΤ. Οι άμεσοι αναστολείς της θρομβίνης παρατείνουν σημαντικά τον χρόνο ΤΤ. Η δράση τους όμως καθίσταται μη μετρήσιμη σε χαμηλές συγκεντρώσεις αυτών των φαρμάκων. Στην περίπτωση του dabigatran αυτό παρατηρείται σε συγκεντρώσεις από 40 έως 100 ng/mL. Έτσι η μέτρηση του χρόνου θρομβίνης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παρακολούθηση της δράσης των άμεσων αναστολέων. Βέβαια, τιμές εντός των φυσιολογικών αποκλείουν την παρουσία των DTIs στην κυκλοφορία του αίματος [76].

#### 4.4 ANTI-XA ASSAY

Για την εκτέλεση αυτής της εξέτασης χρησιμοποιούνται ποσότητα ολικού αίματος το οποίο φυγοκεντρείται ώστε να ληφθεί πλάσμα πτωχό σε αιμοπετάλια (PPP). Στη συνέχεια σε μια συγκεκριμένη ποσότητα αυτού του πλάσματος (PPP) του ασθενούς προστίθεται συγκεκριμένη ποσότητα εξωγενούς ενεργοποιημένου παράγοντα FX. Μια ποσότητα του εξωγενώς προστιθέμενου FXα θα ανασταλεί από το αντιπηκτικό φάρμακο που έχει χορηγηθεί στον ασθενή και υπάρχει στην κυκλοφορία και το υπόλοιπο θα παραμείνει ελεύθερο. Η ελεύθερη ποσότητα του FXα που θα παραμείνει θα υδrolύσει ένα χρωμογενές υπόστρωμα και από την υδρόλυση αυτή θα παραχθεί μια ουσία την οποία με τη χρήση φωτόμετρου ανιχνεύεται η ποσότητά της. Η παραχθείσα αυτή ποσότητα έχει συγκεντρώσεις που σχετίζονται γραμμικά με τη συγκέντρωση του μη δεσμευμένου FXα, οπότε είναι αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης του λαμβανόμενου αντιπηκτικού στο πλάσμα. Η παραπάνω μέθοδος αποτελεί σήμερα την εξέταση εκλογής για τον προσδιορισμό των επιπέδων των άμεσων per os anti-Xa αναστολέων στο πλάσμα, είναι εμπορικά διαθέσιμη και χρησιμοποιείται από πολλά μεγάλα εργαστήρια [77],[78],[79]. Το θεραπευτικό εύρος της εξέτασης για την UFH είναι 0.30-0.70 IU/ ml. Καθότι η κλασική ηπαρίνη δίδεται σε συνεχή ενδοφλέβια έγχυση η εκτέλεση της εξέτασης μπορεί να γίνει οποιαδήποτε στιγμή. Όμως δεν αποτελεί μια εξέταση που μπορεί να γίνει εύκολα συγκριτικά με την απλούστερη αλλά και φθηνότερη εξέταση της μέτρησης του APTT. Ωστόσο θα πρέπει να γίνει χρήση της στην περίπτωση παράτασης του APTT που οφείλεται σε ανεπάρκεια παραγόντων πήξης, παρουσία αντιπηκτικού του λύκου και σε υποψία αντίστασης στην ηπαρίνη. Στην τελευταία περίπτωση όταν η δοσολογία της κλασικής ηπαρίνης στηρίζεται στο APTT τότε μπορεί να οδηγηθούμε σε υπερδοσολογία. Η εξέταση της μέτρησης της αντι-Xa δραστηριότητας είναι μέθοδος εκλογής για την παρακολούθηση της δοσολογίας των LMWH τα επίπεδα των οποίων φθάνουν την μέγιστη τιμή τους τέσσερις ώρες μετά την υποδόριο έγχυση θεραπευτικής δόσης που χορηγείται δυο φορές το 24ωρο και 5 με 6 ώρες μετά την υποδόριο έγχυση όταν χορηγείται μια φορά το 24ωρο. Το θεραπευτικό εύρος των LMWH όταν χορηγούνται σε σχήμα 2 φορές το 24ωρο είναι μεταξύ 0.5 και 1.0 IU/ ml και για την μια δόση το 24ωρο είναι μεταξύ 1.0 και 2.0 IU/ml [80],[81],[82]. Όσον αφορά το fondaparinux είναι η μόνη εξέταση που δίνει την δυνατότητα να υπάρξει παρακολούθηση της δράσης του φαρμάκου. Πρωτίστως, όμως θα πρέπει να γίνει βαθμονόμηση της εξέτασης με γνωστές συγκεντρώσεις του fondaparinux. Οι μέγιστες του συγκεντρώσεις παρατηρούνται 2 ώρες μετά την υποδόριο έγχυση. Δεδομένου ότι το μόριο του fondaparinux έχει ανασταλτική δράση και δεσμεύεται σχεδόν εξολοκλήρου με την αντιθρομβίνη, δημιουργείται μια στενή συσχέτιση μεταξύ της χορηγούμενης δόσης και του αντιπηκτικού αποτελέσματος και αυτό μπορεί να περιγράψει σε συγκέντρωση μάζας (mg/L) παρά σε διεθνείς μονάδες ενεργότητας (IU/ml) [60] [80]. Το

θεραπευτικό εύρος του fondaparinux δεν είναι γνωστό. Σε σπάνιες δημοσιευμένες μελέτες δίδονται συγκεντρώσεις πλάσματος μεταξύ 0.05 και 0.35 mg/L όταν το φάρμακο δίδεται σε δόση 2.5mg άπαξ ημερησίως [84] και συγκεντρώσεις μεταξύ 0.6 και 1.5 mg/L όταν η δόση δίδεται άπαξ ημερησίως εξατομικευμένη με το βάρος σώματος του ασθενούς [85]. Οι συγκεντρώσεις του rivaroxaban στο πλάσμα μπορούν να υπολογιστούν μετά από βαθμονόμηση της εξέτασης με γνωστές συγκεντρώσεις του φαρμάκου. Η εξέταση αυτή έχει πολύ καλή συσχέτιση με τα αποτελέσματα της μεθόδου αναφοράς για το rivaroxaban (υγρή χρωματογραφία με διαδοχική φασματομετρία μάζας- liquid chromatography with tandem mass spectrometry-LC-MS/MS). Τα επίπεδα του rivaroxaban δίδονται σε ng/ml ή μg/L. Οι μέγιστες συγκεντρώσεις του φαρμάκου στο πλάσμα παρατηρούνται 2 ώρες μετά την από την κατάποσή του και κατά προσέγγιση οι τιμές του είναι 120 έως 375 ng/ml, ενώ ένα εύρος τιμών δε δίνεται [63]. [83]. Ωστόσο δίδεται η κατώτερη τιμή ποσοτικοποίησης (LoQ=lower limit of quantification), μια τιμή που αντιπροσωπεύει ουσιαστικά το κατώφλι ευαισθησίας του αναλυτή σε σχέση με το χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο. Κατά προσέγγιση αυτή η τιμή βρίσκεται στα 10 έως 30 ng/ml και βοηθά αρκετά για μια κλινική εκτίμηση. Καθότι η μέτρηση της αντι-Χα δραστηριότητας δεν μπορεί να διαφοροποιηθεί μεταξύ των αναστολέων του παράγοντα Χα, δεν υπάρχει όφελος να γίνεται σε συγχορήγηση φάρμακων αυτής της κατηγορίας, όπως για παράδειγμα κατά της διάρκειας της θεραπείας γεφύρωσης με LMWH σε rivaroxaban και το αντίστροφο. Αυτό μπορεί να ξεπεραστεί με τη χρήση της τροποποιημένης δοκιμασίας αντι-Χα όπου γίνεται η χρήση ενός αντιδραστηρίου που δεσμεύει τους έμμεσους αναστολείς του παράγοντα Χα επιτρέποντας την μέτρηση της δραστηριότητας μόνο του άμεσου αναστολέα [87]. Ως προς το arixaban ακολουθείται η ίδια λογική μόνο που το αντιδραστήριο βαθμονομείται με γνωστές συγκεντρώσεις του αυτού φαρμάκου. Σε ασθενείς που γίνεται χορήγηση arixaban 2.5-5 mg 2 φορές το 24ωρο, οι συγκεντρώσεις του στο πλάσμα κυμαίνονται μεταξύ 40 και 120 ng/ml. Παρομοίως ο δείκτης LoQ είναι περίπου στο 30 ng/ml [88].

#### 4.5 MODIFIED THROMBIN TIME-DILUTED THROMBIN TIME- DTT

Στους ασθενείς που λαμβάνουν dabigatran, η διενέργεια TT με τη συμβατική τεχνική είναι μη πρακτική, δεδομένου ότι ο TT εμφανίζεται παρατεταμένος (και συχνά μη μετρήσιμος), ακόμα και όταν η αιμοληψία διενεργείται αμέσως πριν τη λήψη της επόμενης δόσης του φαρμάκου.

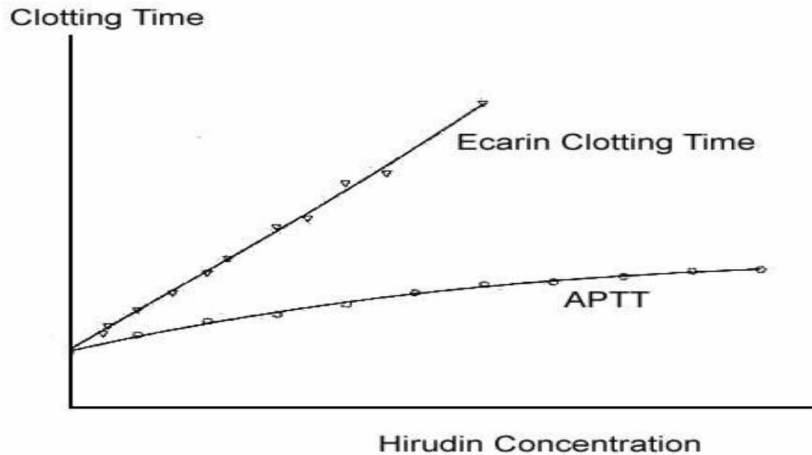
Για το λόγο αυτό, εφαρμόστηκε μια νέα τεχνική, ο αραιωμένος χρόνος θρομβίνης (diluted thrombin time, DTT), το αποτέλεσμα του οποίου είναι ευθέως ανάλογο με τις πλάσματικές συγκεντρώσεις του φαρμάκου. Ο τροποποιημένος χρόνος θρομβίνης ή αλλιώς αραιωμένος χρόνος θρομβίνης είναι μέθοδος προσδιορισμού στο πλάσμα της συγκέντρωσης του dabigatran. Η αρχή της μεθόδου είναι η ίδια με την κλασική εξέταση



του χρόνου θρομβίνης, με διαφορά την αρχική αραίωση του πλάσματος του ασθενούς (που περιέχει dabigatran) σε αναλογία 1:4 με φυσιολογικό ορό ή με δεξαμενή φυσιολογικού πλάσματος [89] Στη συνέχεια γίνεται βαθμονόμησή του με γνωστές συγκεντρώσεις του φαρμάκου και τα αποτελέσματα δίνονται σε συγκέντρωση μάζας. Υπάρχουν διαθέσιμα αντιδραστήρια σε εμπορική μορφή αλλά υπάρχει και η δυνατότητα τα εργαστήρια να χρησιμοποιούν "in house" τεχνικές [90]. Τα μέγιστα επίπεδα του dabigatran παρατηρούνται 2 ώρες μετά την λήψη του και είναι από 70 έως 275 ng/ ml. Εύρος διακύμανσης δε δίνεται αλλά μόνο το LoQ το οποίο είναι 8 ng/ ml. Στους υπόλοιπους άμεσους αναστολείς της θρομβίνης όπως η bivalirudin και argatroban, μπορεί να γίνει μέτρηση του τροποποιημένου χρόνου θρομβίνης αλλά σπανίως χρησιμοποιείται στην κλινική πράξη λόγω της περιορισμένης χρήσης αυτών των φαρμάκων [91].

#### 4.6 ECARIN CLOTTING TIME (ECHIS CLOTTING TIME)- ECARIN CHROMOGENIC ASSAY

Αποτελεί μέθοδο μέτρησης της δραστηριότητας των άμεσων αναστολέων της θρομβίνης και δεδομένου ότι η χρήση των argatroban, hirudin και bivalirudin είναι περιορισμένη, η μέθοδος εκτελείται κυρίως στη χρήση του dabigatran. Η ecarin είναι ένα ένζυμο που προέρχεται από το δηλητήριο της ινδικής οχιάς *Echiscarinatus*. Αποτελεί το κύριο αντιδραστήριο στη δοκιμή του χρόνου πήξης Ecarin clotting time. Ενεργοποιεί την προθρομβίνη μέσω τροποποίησής της σε meizothrombin. Η μορφή αυτή έχει το ίδιο μοριακό βάρος με την προθρομβίνη, αλλά το ενεργό σημείο της είναι δύσκολα προσβάσιμο σε φυσικούς αναστολείς, όπως το σύμπλεγμα αντιθρομβίνης (AT III)/ ηπαρίνης παρά μόνο στους DTIs. Η εξέταση δίνει αποτελέσματα σε γραμμική συσχέτιση με τη φαρμακευτική δοσολογία του dabigatran (εικόνα 15)[92]. Η μέθοδος ecarin chromogenic assay είναι παρόμοια με τον χρόνο πήξης εκαρίνης (ecarin clotting time) με τη διαφορά ότι στο διάλυμα της εκαρίνης περιέχεται ανθρώπινη προθρομβίνη και το παράγωγό της, meizothrombin και η χημική αντίδραση της οποίας φωτομετρείται χρησιμοποιώντας μια συγκεκριμένη χρωμογόνο ουσία. Αποτελεί εξέταση που χρησιμοποιεί της αρχή της σπεκτροφωτομετρίας ώστε να προσδιορίσει τα επίπεδα του dabigatran στο πλάσμα των ασθενών. Σαν δοκιμασία είναι ανεξάρτητη από τα επίπεδα του ινωδογόνου και της προθρομβίνης και δεν επηρεάζεται από την παρουσία ηπαρίνης ή VKAs στο προς εξέταση πλάσμα [93].



Εικόνα 15 : γράφημα στο οποίο φαίνονται τα αποτελέσματα του clotting time για την ιρουδίνη. Η σχέση είναι ίδια και στους υπόλοιπους DTIs. Ο χρόνος θρομβίνης έχει παρόμοια αντίδραση με το APTT στην παρακολούθηση των DTIs εμφανίζοντας μη γραμμική σχέση με τη δοσολογία.

#### 4.7 ROTATIONAL THROMBOELASTOMETRY (ROTEM)- ΘΡΟΜΒΟΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ

Η μέθοδος αυτή δίνει μια ταχεία και σφαιρική εκτίμηση του συστήματος πήξης-ινοδόλυσης χρησιμοποιώντας ολικό αίμα στο οποίο έχει προστεθεί κιτρικό αντιπηκτικό. Το δείγμα τοποθετείται σε ειδική για το σκοπό αυτό κυψελίδα, επωάζεται στους 37°C και στην συνέχεια γίνεται εισαγωγή ενός ειδικού εμβόλου το οποίο έχει τον ρόλο του οπτικού ανιχνευτή. Στη συνέχεια γίνεται η ενεργοποίηση του συστήματος πήξης με την προσθήκη ιόντων ασβεστίου και ταυτόχρονα το έμβολο-ανιχνευτής κινείται περιστροφικά με συγκεκριμένη γωνία σε σχέση με την κυψελίδα, εντός της οποίας αρχίζει να σχηματίζεται θρόμβος ινικής. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται αντίσταση στην περιστροφική κίνηση που καταγράφεται από τον οπτικό ανιχνευτή και μεταφράζεται σε ειδική καμπύλη, στην οποία εκτιμώνται ορισμένοι παράμετροι όπως ο χρόνος μέχρι την έναρξη της παραγωγής θρόμβου (CT), ο χρόνος σχηματισμού θρόμβου πλάτους 20mm (CFT), ο ρυθμός σχηματισμού θρόμβου, όπως εκφράζεται από τη γωνία α-angle, το μέγιστο πλάτος του θρόμβου (MCF), η μέγιστη λύση του θρόμβου (ML) και το ποσοστό του θρόμβου που παραμένει 1 ώρα μετά το σχηματισμό του (δείκτης ινοδόλυσης). Η εξέταση ROTEM αποτελεί point-of-care ανάλυση δημιουργίας και λύσης θρόμβου. Θεωρείται εξέταση που υπερέχει των δοκιμασιών PT και APTT στο κομμάτι της οξίας τραυματικής πήξης καθώς περιλαμβάνει τη συνεισφορά όλων των αιμοποιητικών κυττάρων και παρέχει πληροφορίες σχετικά με τη σταθερότητα του θρόμβου [94],[95].

Στην δοκιμασία ROTEM η πήξη μπορεί να προκληθεί με διαφορετικούς τρόπους. Οι πιο συχνοί είναι με τη χρήση ενός ενεργοποιητή επιφανείας και ιόντων ασβεστίου (INTEM

test) που παραπέμπει στο APTT ή με τη χρήση θρομβοπλαστίνης (EXTEM test) που παραπέμπει στο PT [96],[97]. Η κλασική ηπαρίνη παρατείνει το χρόνο πήξης (CT) και η παρουσία της επιβεβαιώνεται με την προσθήκη ηπαρινάσης (HEPTEM) οπότε η παράταση του χρόνου πήξης αναστέλλεται. Η επίδραση των LMWH μελετήθηκε με μια *in vitro* μελέτη στην οποία παρατηρήθηκε σημαντική παράταση του INTEM CT αλλά με μεγάλη μεταβλητότητα [98]. Σε χρήση VKAs παρατηρήθηκε παράταση του EXTEM CT αλλά μόνο στην περίπτωση που η δοσολογία ξεπερνούσε τα θεραπευτικά επίπεδα [99],[100]. Λίγα είναι γνωστά για τη μέθοδο ROTEM στη χρήση των DOACs. Σε μια μελέτη παρατηρήθηκε δόσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ του dabigatran και των INTEM, EXTEM CT σε ασθενείς με κοιλιακή μαρμαρυγή που λάμβαναν είτε 110 είτε 150 mg δυο φορές το 24ωρο. Επίσης έχει παρατηρηθεί στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ dabigatran και MCF αλλά δεν έχει δοθεί ακόμη εξήγηση [101].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΑΝΤΙΘΡΟΜΒΩΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

### 5.1.ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

Στην κλινική πράξη τα αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα δίδονται σε συγκεκριμένες δόσεις με βάση τα αποτελέσματα κλινικών μελετών χωρίς την εξατομίκευση της δόσης τους με τη βοήθεια εργαστηριακών εξετάσεων. Σε αρκετές μελέτες έχει φανεί ότι παρατηρείται μεγάλη μεταβλητότητα στην ανταπόκριση των αιμοπεταλίων στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και ιδιαίτερα στην κλοπιδογρέλη[102]. Το φαινόμενο αυτό περιγράφηκε ως "αντίσταση" στην θεραπεία, αν και η πραγματική της ύπαρξη ως κλινική οντότητα παραμένει αβέβαιη. Το γεγονός ότι κάποιοι ασθενείς δεν εμφανίζουν ανταπόκριση σε αυτά τα φάρμακα περιγράφηκε ως "πτωχά ανταποκρινόμενοι" ή "ανθεκτικοί στην θεραπεία". Λόγω του ότι η αγγειακή θρόμβωση σχετίζεται με πολυπαραγοντικά αίτια (τριάδα Virchow) ο καλύτερος ορισμός της αστοχίας της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής περιλαμβάνει τόσο την αποτυχία του φαρμάκου να αναστείλει την δραστηριότητα των φαρμακευτικών του στόχων (εργαστηριακό φαινόμενο) όσο και την αποτυχία στην πρόληψη των θρομβώσεων (κλινικό φαινόμενο) [103]. Οι δοκιμασίες λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (PFTs) χρησιμοποιήθηκαν κυρίως για την παρακολούθηση της ανταπόκρισης στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή των ασθενών με καρδιαγγειακή νόσο. Δεδομένου ότι η ισχυρή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή μειώνει τον κίνδυνο θρόμβωσης, αυξάνει όμως τον αιμορραγικό κίνδυνο δημιουργήθηκε η ανάγκη για εξατομίκευση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής με τη βοήθεια των δοκιμασιών λειτουργικότητας των

αιμοπεταλίων. Οι δοκιμασίες αυτές χρησιμοποιήθηκαν για να καθοδηγήσουν την κλινική πρακτική στην εύρεση των ασθενών που κινδυνεύουν από αιμορραγία ή θρόμβωση και την παρακολούθηση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Ωστόσο οι περισσότερες τεχνικές που αναπτύχθηκαν χρειάζονται εξειδικευμένο προσωπικό για την ανάλυση των αποτελεσμάτων τους και δεν αναπαράγουν τις φυσιολογικές συνθήκες που χαρακτηρίζουν τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων *in vivo* [104]. Επίσης εκτιμάται η ανταπόκριση των αιμοπεταλίων μόνο σε έναν αγωνιστή αγνοώντας την πολυπλοκότητα της θρομβογένεσης. Αποτυγχάνουν δηλαδή να εκτιμήσουν την πραγματική συμβολή της θρομβίνης, λόγω της χρήσης κιτρικού αντιπηκτικού στο δείγμα του ολικού αίματος [105]. Ένας ακόμη περιορισμός στις δοκιμασίες λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων είναι η έλλειψη τυποποίησης της διαδικασίας και έτσι τα αποτελέσματα που λαμβάνονται από διάφορα εργαστήρια είναι μη συγκρίσιμα. Για παράδειγμα η σύγκριση τριών PFTs (LTA, VASP και VerifyNow) ως προς την αντίσταση στην κλοπιδογρέλη, έδειξαν διαφορετικά ποσοστά [106]. Ο προσδιορισμός της καλύτερης δοκιμασίας δεν είναι εύκολος διότι η κάθε δοκιμασία έχει περιορισμούς στη χρήση της. Η ιδανική δοκιμασία θα πρέπει να είναι εύκολη στην χρήση, να είναι ικανή να ανιχνεύει την δραστικότητα των αιμοπεταλίων αλλά και άλλα προθρομβωτικά χαρακτηριστικά τόσο σε υγιή πληθυσμό όσο και σε ασθενείς, να προσδιορίζει τον κίνδυνο αιμορραγίας γενικά αλλά και περιεπεμβατικά και να είναι οικονομικά αποδοτική [107]. Για την βελτίωση των υπάρχουσών δοκιμασιών θα πρέπει να γίνεται χρήση αίματος χωρίς προσθήκη συντηρητικού μέσου, να χρησιμοποιείται ένας καθολικός διεγέρτης αντί μεμονωμένων αγωνιστών, να γίνεται παράλληλα έλεγχος της θρομβίνης του ασθενούς που παράγεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια αλλά και τέλος να αξιολογείται ταυτόχρονα και η ικανότητα του ινωδολυτικού συστήματος [108]. Μεγάλες κλινικές μελέτες απέτυχαν να αποδείξουν ότι η εξατομίκευση της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής βάση PFTs μπορεί να βοηθήσει για το καλύτερο κλινικό αποτέλεσμα μετά από PCI.

## **ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΟΥ ΑΜΦΙΣΒΗΤΟΥΝ ΤΗΝ ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ**

### **GRAVITAS (Gauging Responsiveness with a VerifyNow Assay-Impact on Thrombosis and Safety)**

Η μελέτη GRAVITAS (Gauging Responsiveness with a VerifyNow Assay-Impact on Thrombosis and Safety) μετρήσε τη λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων 12 έως 24 ώρες

μετά από μη επείγουσα, επιτυχή PCI σε 5500 ασθενείς. Αυτοί είχαν λάβει φόρτιση με ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη. Ο πληθυσμός με υψηλή δραστικότητα αιμοπεταλίων (HTPR), οριζόμενο ως PRU>230 (με τη χρήση του VerifyNow), τυχαιοποιήθηκε περαιτέρω σε κλοπιδογρέλη 75 mg ή σε κλοπιδογρέλη 150 mg. Η παρακολούθηση διήρκησε 6 μήνες και έδειξε ότι η χρήση υψηλότερων δόσεων κλοπιδογρέλης δεν μείωσε τον κίνδυνο θανάτου ή συμβαμάτων από καρδιαγγειακά αίτια. Σημειώνεται βέβαια ότι στους ασθενείς με HTPR υπό κλοπιδογρέλη δε δόθηκε ισχυρότερος αναστολέας υποδοχέων P2Y12, αλλά διπλασιάστηκε η δόση της [109].

#### **TRIGGER-PCI (Testing platelet Reactivity In patients under Going elective stent placement ob clopidogrel to Guide alternative thErapy with pRasugrel)**

Η μελέτη TRIGGER-PCI (Testing platelet Reactivity In patients under Going elective stent placement ob clopidogrel to Guide alternative thErapy with pRasugrel) μελέτη σε ασθενείς χαμηλού κινδύνου που υποβλήθηκαν σε PCI και έλαβαν φόρτιση με ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη. Στη συνέχεια αναλόγως της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων βάση του VerifyNow, χρησιμοποιώντας cut-off την τιμή των 208 PRU, δόθηκε τυχαιοποιημένα πρασουγρέλη 10 mg ή κλοπιδογρέλη 75 mg για 6 μήνες σε αυτούς με την υψηλή αντιδραστικότητα αιμοπεταλίων (PRU > 208). Η μελέτη τερματίστηκε πρόωρα και δεν κατέληξε σε συμπεράσματα λόγω της χαμηλής επίπτωσης πρωτεύοντος τελικού σημείου. Πιθανότατα ο χαμηλός θρομβωτικός κίνδυνος των ασθενών έπαιξε ρόλο, ενώ ένα μόνο σύμβαμα που καταγράφηκε υπήρξε στην ομάδα των ασθενών με PRU>208 που έλαβε κλοπιδογρέλη [110].

#### **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)**

Στο ίδιο μήκος κύματος κινήθηκε η μελέτη ARCTIC η οποία τυχαιοποίησε 2440 ασθενείς που ήταν προγραμματισμένοι για μη επείγουσα αγγειοπλαστική σε δύο ομάδες. Από τη μία αυτή της συμβατικής στρατηγικής και από την άλλη αυτή της προσαρμοσμένης θεραπευτικής ανάλογα της δραστικότητας των αιμοπεταλίων. Η εργαστηριακή μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η VerifyNow και το όριο στο οποίο θεωρήθηκε κριτική η δραστικότητα των αιμοπεταλίων οι τιμές PRU>235. Στην υπό μελέτη ομάδα αυξημένες τιμές δραστικότητας των αιμοπεταλίων κατά τη διάρκεια της αγγειοπλαστικής οδήγησαν στην χορήγηση μίας επιπλέον δόσης εφόδου κλοπιδογρέλης, ασπιρίνης, πρασουγρέλης, μαζί με τη χορήγηση αναστολέων των υποδοχέων της γλυκοπρωτεΐνης IIb/ IIIa . Επιπλέον στις 14 μέρες γινόταν ανάλογη προσέγγιση με έλεγχο λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και τροποποίηση της αγωγής αναλόγως των τιμών PRU. Στους 12 μήνες η προσαρμογή της θεραπείας με βάση τις εργαστηριακές μεθόδους ελέγχου απέτυχε να δείξει όφελος και να μειώσει το πρωτογενές καταληκτικό σημείο- θάνατο, έμφραγμα, επείγουσα επαναγγείωση και θρόμβωση του stent. Οι αιμορραγίες δεν διέφεραν

ανάμεσα στις δύο ομάδες [111].

Όπως ήταν αναμενόμενο η κριτική που δέχτηκε η μελέτη ARCTIC ήταν έντονη λόγω των περιστατικών που παρακολούθησε τα οποία κατά κύριο λόγο ήταν χαμηλού θρομβωτικού κινδύνου και στα οποία χρησιμοποιήθηκε κυρίως η κλοπιδογρέλη.

#### **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)**

Έτσι σχεδιάστηκε η ANTARCTIC με 877 ασθενείς ηλικίας άνω των 77, με ΟΣΣ που υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική. Στην πρώτη ομάδα δόθηκε συμβατικά πρασουγρέλη 5mg (άνω των 75 ετών) και στη δεύτερη ξεκίνησε πρασουγρέλη, ενώ ακολούθησε ο πρώτος έλεγχος λειτουργικότητας αιμοπεταλίων στις 14 ημέρες. Όρια στις τιμές PRU τέθηκαν στα 85 και 208. Συγκεκριμένα σε τιμές ικανοποιητικής αναστολής της συσσώρευσης ( $85 < PRU < 208$ ), συνεχίστηκε η πρασουγρέλη των 5mg. Για τιμές πολύ χαμηλής δραστηριότητας ( $PRU < 85$ ), έγινε αλλαγή σε κλοπιδογρέλη 75mg/ ημέρα και σε ενδεχόμενη φαρμακευτική αντοχή με  $PRU > 208$ , δόθηκε η υψηλότερη δόση της πρασουγρέλης των 10mg/ ημέρα. Δεύτερη μέτρηση της λειτουργικότητας έγινε στις 14 επόμενες ημέρες. Τα συμπεράσματα στα οποία κατέληξε η μελέτη ήταν πως ο έλεγχος των αιμοπεταλίων βοηθά στη διαστρωμάτωση θρομβωτικού και αιμορραγικού κινδύνου ενός ηλικιωμένου ασθενούς, χωρίς όμως να αποδεικνύεται κλινικό όφελος από την τροποποίηση της αγωγής βάση αυτών των εργαστηριακών ευρημάτων [112].

#### **ISAR-ASPI (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen—Aspirin and Platelet Inhibition)**

Έλλειψη αποδείξεων για την πρόβλεψη αιμορραγικών επεισοδίων σε ασθενείς υψηλού κινδύνου προκύπτει στη μελέτη ISAR-ASPI (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen—ASpirin and Platelet Inhibition), η οποία μελέτησε 7090 ασθενείς που υποβλήθηκαν σε PCI. Η μέτρηση της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων στην ασπιρίνη έγινε στον αναλυτή **Multiplate** πριν την διενέργεια της PCI. Δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στην επίπτωση της αιμορραγίας μεταξύ της ομάδας υψηλής αντιδραστικότητας στην ασπιρίνη (high on-aspirin treatment platelet reactivity, HTPR) και της ομάδας της χαμηλής αντιδραστικότητας (low on-aspirin treatment platelet reactivity, LTPR). Όμως οι ασθενείς που ανήκαν στην ομάδα HTPR είχαν μεγαλύτερο ρίσκο θανάτου ή θρόμβωσης του stent ένα χρόνο μετά την PCI. Έτσι η γνώση αυτού μπορεί να θεωρηθεί ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας ισχαιμικού κινδύνου [113].

Γενικά οι μελέτες αυτές χρησιμοποίησαν σταθερούς ασθενείς, χαμηλού θρομβωτικού κινδύνου, με αποτέλεσμα να μην καταλήξουν σε συμπεράσματα υπέρ της χρήσης των δοκιμασιών ελέγχου της δραστηριότητας των αιμοπεταλίων.

## ΜΕΛΕΤΕΣ ΥΠΕΡ ΤΗΣ ΧΡΗΣΗΣ ΤΩΝ ΔΟΚΙΜΑΣΙΩΝ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΩΝ

### EFFICIENT (The EFFect of high dose Clopidogrel treatmENT)

Στο ίδιο μοτίβο κινήθηκε η μελέτη EFFICIENT (The EFFect of high dose Clopidogrel treatmENT), με λιγότερους όμως ασθενείς (192) η οποία τυχαιοποίησε την ομάδα των ασθενών με κακή απόκριση στην κλοπιδογρέλη στο να λάβουν τη συμβατική (75mg), ή την αυξημένη δόση της κλοπιδογρέλης (150mg). Η μελέτη απέδειξε όφελος από τον έλεγχο της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων (με τη χρήση του VerifyNow) καθώς αυτοί που έλαβαν την διπλάσια δόση του φαρμάκου είχαν παρόμοια επιβίωση με τους ασθενείς της ομάδας ελέγχου οι οποίοι δεν είχαν αντοχή στην κλοπιδογρέλη. Η αυξημένη δόση δεν συνοδεύτηκε από μείζονες αιμορραγίες [114].

### ADAPT-DES (Assessment of Dual AntiPlatelet Therapy With Drug Eluting Stents)

Η μελέτη ADAPT-DES (Assessment of Dual AntiPlatelet Therapy With Drug Eluting Stents) μελέτησε 8.575 ασθενείς και εξέτασε τη συσχέτιση μεταξύ υψηλής αντιδραστικότητας αιμοπεταλίων και θρομβώσεων των stent στις πρώτες 30 μέρες και στο έτος μετά από αγγειοπλαστική. Συσχέτισε την υψηλή αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων στην προσθήκη ADP (PRU>208) με την εμφάνιση θρόμβωσης της ενδοστεφανιαίας πρόθεσης. Τιμές PRU >230 εμφάνισαν μεγαλύτερη ειδικότητα. Σημειώνεται δε πως δεν υπήρξε συσχέτιση μεταξύ θρομβώσεων και ανταπόκριση στην ασπιρίνη (ARU) [115].

Χωρίς την ύπαρξη δημοσιευμένων μελετών που να εντοπίζουν στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα από την εξατομίκευση της δόσης της ασπιρίνης βασιζόμενη σε εργαστηριακό εύρημα "αντίστασης της ασπιρίνης" η χρήση PFTs δεν έχει κλινικό όφελος. Σε αυτό συνηγορεί επίσης το γεγονός ότι αύξηση της δοσολογίας της ασπιρίνης αυξάνει τον αιμορραγικό κίνδυνο από το γαστρεντερικό σύστημα χωρίς κλινικό αντιθρομβωτικό όφελος [116].

Το γεγονός αυτό αντικατοπτρίστηκε και στις κατευθυντήριες οδηγίες για την διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή εκ μέρους της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας το 2017 (DAPT 2017) στις οποίες ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και κατ' επέκταση της δραστηριότητας των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων έλαβε ένδειξη σύστασης III, σύμφωνα με την οποία δεν συστήνεται η διενέργειά του.

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

Τα ανωτέρω αποτελέσματα των μελετών που αποθάρρυναν την χρήση των PFTs

ανατράπηκαν έπειτα από τη δημοσίευση της TROPICAL-ACS (Testing Responsiveness To Platelet Inhibition On Chronic Antiplatelet Treatment For Acute Coronary Syndromes), μίας προοπτικής, τυχαιοποιημένης, πολυκεντρικής μελέτης η οποία χρησιμοποίησε την καινοτόμο ιδέα της απολιμάκωσης της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής βάση του ελέγχου λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων σε ασθενείς υψηλού θρομβωτικού κινδύνου. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν ασθενείς μεταξύ 18-80 ετών με οξεία στεφανιαία συμβάματα, θετική τροπονίνη, επιτυχή αγγειοπλαστική και απουσία προηγούμενου ΑΕΕ ή ανάγκης για αντιπηκτική αγωγή. Οι ασθενείς χωρίστηκαν σε δύο ομάδες, με την μία να λαμβάνει τη συμβατική θεραπεία ΑΣΟ+ πρασουγρέλη (ομάδα ελέγχου) και την άλλη (ομάδα υπό εξέταση) να λαμβάνει για μία εβδομάδα μετά το εξιτήριο ΑΣΟ+ πρασουγρέλη, ακολουθούμενη από μία εβδομάδα ΑΣΟ+ κλοπιδογρέλη. Στη συνέχεια και αφού είχαν λάβει 7 μέρες ΑΣΟ+ κλοπιδογρέλη, γινόταν έλεγχος λειτουργικότητας αιμοπεταλίων, βάση του οποίου κατευθυνόταν η αγωγή. Συγκεκριμένα αυτοί που εμφάνιζαν ικανοποιητική αναστολή των αιμοπεταλίων παρέμεναν στην κλοπιδογρέλη, ενώ αυτοί που εμφάνιζαν αυξημένη συσσώρευση αιμοπεταλίων μεταπηδούσαν στο γκρουπ της ΑΣΟ+ πρασουγρέλης. Η δόση της πρασουγρέλης καθορίστηκε από τον θεράπων ιατρό βάση του ασθενούς αλλά και των οδηγιών χρήσης του φαρμάκου [117]. Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων έγινε με αναλυτή Multiplate® της Roche, ενώ βάση χαρακτηριστικών των ασθενών σημειώνεται πως η παχυσαρκία (BMI >30kg/m<sup>2</sup>) και η ενεργή καπνιστική συνήθεια ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες αντίστασης στην πρασουγρέλη, ενώ η ηλικία, η παχυσαρκία, ο ΣΔ, η ενεργή καπνιστική συνήθεια και το stemi ήταν ανεξάρτητοι προγνωστικοί δείκτες αντίστασης στην κλοπιδογρέλη [118]. Τα κυριότερα αποτελέσματα της μελέτης μπορούν να συνοψισθούν στα εξής :

1. Οι ασθενείς με οξεία στεφανιαία συμβάματα και επιτυχή αναστολή των αιμοπεταλίων, είχαν παρόμοιο κίνδυνο θρομβωτικών συμβαμάτων, ανεξάρτητα της αγωγής με κλοπιδογρέλη ή πρασουγρέλη.
2. Παρά την χαμηλή επίπτωση της αντίστασης στην πρασουγρέλη, η παρουσία της ήταν προγνωστικός δείκτης ισχαιμικών συμβαμάτων. Επιπρόσθετα, η αλλαγή της κλοπιδογρέλης σε πρασουγρέλη στους ασθενείς με HTPR ελάττωσε τον κίνδυνο σε αυτούς που ελαττώθηκε και η δραστικότητα των αιμοπεταλίων. Αυτό οδηγεί στο συμπέρασμα πως η υψηλή δραστικότητα των αιμοπεταλίων μπορεί να θεωρηθεί ως ένας τροποποιήσιμος παράγοντας κινδύνου στα ΟΣΣ με θετικούς βιοδείκτες.
3. Η χαμηλή δραστικότητα των αιμοπεταλίων (LPR) ήταν ισχυρός και ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας αιμορραγίας, ποικίλης εντόπισης, ανεξαρτήτως θεραπείας με κλοπιδογρέλη ή πρασουγρέλη [119].



Δεδομένου ότι η μελέτη των αιμοπεταλίων έγινε και στην ομάδα ελέγχου, χωρίς αυτό να επηρεάζει τη θεραπεία, έδωσε τη δυνατότητα να αξιολογηθεί η δραστηριότητα των αιμοπεταλίων και σε αυτήν την περίπτωση με ενδιαφέροντα κλινικά συμπεράσματα. Συγκεκριμένα η αντίσταση στην κλοπιδογρέλη ήταν συχνό φαινόμενο, καθώς έφτανε το 40% των ασθενών και σχετιζόταν με κλινικούς παράγοντες κινδύνου όπως η ηλικία, ο ΣΔ, STEMI και η παχυσαρκία. Σημαντικό ήταν πως η αλλαγή θεραπείας σε πρασουγρέλη στη περίπτωση υψηλής δραστηριότητας αιμοπεταλίων, ελάττωσε τα ισχαιμικά συμβάματα στο επίπεδο της κλοπιδογρέλης επί μη αντίστασης. Αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα πως η ανεπαρκής αναστολή των αιμοπεταλίων οφείλεται σε ανεπαρκή αναστολή των υποδοχέων P2Y<sub>12</sub>, γεγονός που το καθιστά δυνητικά αναστρέψιμο παράγοντα κινδύνου. Επιπρόσθετα αποτελεσματικότερη θεωρείται η αλλαγή σε ισχυρότερο αντιαιμοπεταλιακό παράγοντα, παρά η αύξηση της δόσης της κλοπιδογρέλης. Αντίσταση στην πρασουγρέλη εμφάνισε το 15% των ασθενών της ομάδας ελέγχου και αυτοί είχαν αυξημένη επίπτωση αγγειακών συμβαμάτων σε σχέση με όλους τους άλλους ασθενείς. Προγνωστικοί παράγοντες αυτής της αντίστασης ήταν το κάπνισμα και η παχυσαρκία. Παρά το ότι δεν αποδεικνύεται όφελος από την τροποποίηση της αγωγής στους ασθενείς αυτούς, αλλαγή σε τικαγρελόρη ιδιαίτερα στους διαβητικούς ασθενείς δείχνει βελτίωση/ελάττωση στη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων των ασθενών αυτών [120]. Η μελέτη κατέρριψε και το καπνιστικό παράδοξο από τη χρήση του VerifyNow, σύμφωνα με το οποίο ασθενείς οι οποίοι κάπνιζαν είχαν και αυξημένη αναστολή των υποδοχέων P2Y<sub>12</sub> από την κλοπιδογρέλη. Κάτι τέτοιο δεν αποδείχθηκε στην TROPICAL-ACS και αποδόθηκε στη σημαντική αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ VerifyNow PRU και τιμών αιμοσφαιρίνης, ως εργαστηριακό σφάλμα της τεχνικής. Η μελέτη TROPICAL-ACS ήρθε να καλύψει το κενό στη χρήση των PFTs σε ασθενείς υψηλού θρομβωτικού κινδύνου, ιδιαίτερα σε αυτούς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (ΟΣΣ). Τα συμπεράσματά της οδήγησαν στην αναβάθμιση της θέσης του εργαστηριακού ελέγχου της δραστηριότητας των αιμοπεταλίων σε ένδειξη IIb στις τελευταίες οδηγίες της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρείας για την επαναιμάτωση του μυοκαρδίου [121] καθώς και στις οδηγίες για τους ασθενείς με ΟΣΣ χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST σε περίπτωση που χρειάζεται αποκλιμάκωση της αντιαιμοπεταλικής αγωγής σε λιγότερο ισχυρούς παράγοντες [122]. Συμπερασματικά η TROPICAL-ACS απέδειξε πως η αλλαγή της αντιαιμοπεταλικής αγωγής, από κλοπιδογρέλη σε πρασουγρέλη, όταν αποδεικνύεται αυξημένη δραστηριότητα των αιμοπεταλίων (HTPR), ελαττώνει την επίπτωση συμβαμάτων σε επίπεδα αντίστοιχα των ασθενών χωρίς HTPR. Η χαμηλή δραστηριότητα των αιμοπεταλίων ορίζει και την ομάδα αυξημένου αιμορραγικού κινδύνου. Επιπλέον οι ασθενείς υπό πρασουγρέλη και HTPR (αν και λίγοι), είναι σαφέστατα εκτεθειμένοι σε θρομβωτικά επεισόδια. Γι' αυτή την ομάδα ασθενών παρά το θεραπευτικό δίλημμα, υπάρχουν ενδείξεις πως η αλλαγή σε τικαγρελόρη ελαττώνει την δραστηριότητα των αιμοπεταλίων, παρ' όλα αυτά αποτελεί πεδίο προς

έρευνα [123].

### **SWITCH POBA (Predictor of Bleeding with Antiplatelet drugs)**

Η προσαρμογή της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής θα μπορούσε να μειώσει τα αιμορραγικά επεισόδια μετά από PCI σε ασθενείς που παρουσιάζουν LTPR [124]. Χαρακτηριστικά στη μελέτη SWITCH POBA για τους ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομα και χαμηλή δραστικότητα αιμοπεταλίων, η οποία προσδιορίστηκε με την τεχνική VASP (PRI VASP <10%), αναπροσαρμόστηκε η θεραπεία από πρασουγρέλη 10 mg σε κλοπιδογρέλη 75 mg με αποτέλεσμα τη μείωση των αιμορραγικών επεισοδίων στη διάρκεια του ενός μηνός παρακολούθησης [125]. Ο έλεγχος της λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και γενικότερα η συμβολή του εργαστηρίου στην καθημέρα κλινική πρακτική των ασθενών έχει αποδείξει οφέλη και πέραν του στενού πλαισίου σκέψης που ορίζει το τραπέζι ενός αιμοδυναμικού εργαστηρίου. Ασθενείς που πρόκειται να υποβληθούν σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη (CABG), ή χειρουργείο καρδιάς γενικότερα είναι αυτοί που σε ένα μεγάλο ποσοστό θα απασχολήσουν την αιμοδοσία, με την αιμορραγία να σχετίζεται σημαντικά με την νοσηρότητα και θνητότητα αυτών των ασθενών. Οι μελέτες των αιμοπεταλίων σε τέτοιους ασθενείς μπορεί να προβλέψουν τον αιμορραγικό κίνδυνο και κατ' επέκταση τις απαιτήσεις σε μονάδες αίματος περιεπεμβατικά. Επίσης μην λησμονούμε τον κίνδυνο στον οποίο υποβάλλονται τέτοιοι ασθενείς εν αναμονή της περιόδου κάθαρσης του φαρμάκου αναλόγως των ημιπεριόδων ζωής αυτών [126].

### **TARGET-CABG (Ticagrel or Antiplatelet Therapy to Reduce Graft Events and Thrombosis)**

Η καθυστέρηση για το χειρουργείο σε τέτοιες περιπτώσεις ακολουθεί εμπειρικούς κανόνες φαρμακοδυναμικής που αφορούν τον γενικό πληθυσμό και σε καμία περίπτωση δεν εξατομικεύουν τις δυνατότητες του κάθε ασθενή. Συγκεκριμένα στη μελέτη TARGET-CABG η μελέτη των αιμοπεταλίων στους ασθενείς που λάμβαναν κλοπιδογρέλη οδήγησε στην μείωση κατά 50% της αναμονής για χειρουργείο (2,7 μέρες σε αντίθεση με τις 5 που απαιτούν οι οδηγίες), χωρίς παράλληλα να αυξηθούν και οι αιμορραγίες [127]. Συνέπεια όλων αυτών ήταν και η αποτύπωσή τους στις κατευθυντήριες οδηγίες της Αμερικάνικης Εταιρείας Χειρουργών Θώρακος το 2012 οι οποίες αναφέρουν χαρακτηριστικά πως ο έλεγχος λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων εξαιτίας της ισχυρής αρνητικής προγνωστικής αξίας μπορεί να προκαθορίσει τους ασθενείς που έχουν ικανή λειτουργικότητα αιμοπεταλίων και άρα θα χειρουργηθούν με μικρές απώλειες αίματος. Επίσης η χρήση τους θα μπορούσε να γίνει ως point of care μέθοδος για την εύρεση της κατάλληλης χρονικής στιγμής χειρουργείου, περιορίζοντας τόσο τις απώλειες σε αίμα, όσο και τον χρόνο αναμονής για χειρουργείο. Όλα τα ανωτέρω έχουν λάβει ένδειξη IIb για τη χρήση τους. Βάση των ανωτέρω εύκολα εξάγεται το συμπέρασμα πως η εφαρμογή

των δοκιμασιών λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων θα μπορούσε να ωφελήσει κάθε χειρουργικό ασθενή ο οποίος προηγουμένως ελάμβανε αντισταθμιστική αγωγή αφού δύναται να συρρικνώσει, ή να παρατείνει την αναμονή προς την επέμβαση. Παράλληλα κατευθύνει και την θεραπευτική προσέγγιση για τον ασθενή καθώς πολλές φορές μεταγγίζεται αδίκως πλάσμα (FFP), τη στιγμή που στην πραγματικότητα απαιτούνται αιμοπετάλια. Συμπερασματικά οι δοκιμασίες λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων μπορούν να προβλέψουν θρομβωτικά και αιμορραγικά συμβάματα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική, παρά το γεγονός πως δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για την διενέργεια τους ως εξέταση ρουτίνας, η οποία θα κατευθύνει την θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών. Τέλος στο χειρουργικό τραπέζι ο εργαστηριακός έλεγχος των αιμοπεταλίων βοηθά πολύπλευρα, όπως στην επιλογή του κατάλληλου χρόνου επέμβασης αλλά και η θεραπευτική προσέγγιση σε περίπτωση αιμορραγίας.

## 5.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗΣ ΑΝΤΙΠΗΚΤΙΚΗΣ ΑΓΩΓΗΣ

Η αντιπηκτική αγωγή ευεργέτησε αμέτρητους ασθενείς από την πρώτη κιόλας στιγμή της ανακάλυψης των εμμέσως δρώντων κουμαρινικών αντιπηκτικών, έως και τα αμέσως δρώντα από του στόματος τα οποία ευεργέτησαν μετέπειτα πολλαπλώς, τόσο με την καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών, όσο και στην αποτελεσματικότητά τους συνδυαστικά με το ευνοϊκότερο προφίλ ασφαλείας. Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες αλλά και μετά την εμπειρία πολλών ετών από τη χρήση τους, τα κουμαρινικά αντιπηκτικά-ανταγωνιστές της βιταμίνηςΚ (VKAs) πρέπει να ελέγχονται με τη χρήση του PT/INR και η αγωγή να εξατομικεύεται ανάλογα με τη νόσο και βάση των εργαστηριακών ευρημάτων. Χαρακτηριστικά αναφέρεται πως στην κοιλιακή μαρμαρυγή αλλά και στην πρόληψη θρομβοεμβολής επίπεδα INR 2-2,5 είναι θεραπευτικά, ενώ σε μηχανικές βαλβίδες απαιτούνται σαφέστατα υψηλότερες τιμές αναλόγως την βαλβίδα, αλλά και τον θρομβωτικό κίνδυνο του ασθενούς [128]. Ως προς την παρακολούθηση της θεραπείας με κλασσική ηπαρίνη (UFH), η χρήση του APTT είναι ευρέως διαδεδομένη. Τιμές εντός του θεραπευτικού εύρους 1.5 έως 2.5 φορές την ανώτερη φυσιολογική τιμή του APTT θεωρούνται αποδεκτές. Η δράση της κλασσικής ηπαρίνης μπορεί να ελεγχθεί επίσης με την αντί-Χα δραστηριότητα στην περίπτωση που άλλοι λόγοι πέραν της αντιπηκτικής αγωγής επηρεάζουν το χρόνο APTT [129]. Η χορήγηση LMWH χρήζει παρακολούθησης στην περίπτωση που το βάρος σώματος είναι μικρότερο από 50 κιλά ή μεγαλύτερο από 90 κιλά, σε μειωμένη νεφρική κάθαρση, στην εγκυμοσύνη αλλά και σε παρατεταμένες περιόδους θεραπείας. Επίσης η θεραπεία με LMWH πρέπει να παρακολουθείται σε νεογέννητα και μικρά παιδιά αλλά και όταν παρά την θεραπεία δεν παρατηρείται το αναμενόμενο αντιπηκτικό αποτέλεσμα. Η παρακολούθηση γίνεται με την χρήση της αντί-Χα δραστηριότητας. Έτσι, για θεραπευτικό αποτέλεσμα απαιτούνται

τιμές 0,6-1,2 IU/ml antiFXa, ενώ όταν χορηγούνται για θρομβοπροφύλαξη 0,2-0,4 IU/ml antiFXa [130]. Στους από του στόματος αμέσως δρώντες αναστολείς του παράγοντα X (που αναστέλλουν τόσο τον ελεύθερο, όσο και το συνδεδεμένο FX) ανήκουν τα Rivaroxaban, Apixaban και Edoxaban. Όταν τα φάρμακα χορηγούνται σε συγκεκριμένη ανά ένδειξη δοσολογία, δεν απαιτείται εργαστηριακή παρακολούθηση των επιπέδων τους, αλλά αν αυτό απαιτηθεί, η μέτρηση της αντί-Χα δραστικότητας αποτελεί την εξέταση εκλογής [131]. Αξίζει βέβαια να αναφερθεί πως η ηπατική και νεφρική λειτουργία θα πρέπει να ελέγχεται σε τακτικά επίπεδα αναλόγως και των συννοσηροτήτων του εκάστοτε ασθενή [132]. Στους αναστολείς της θρομβίνης (που αναστέλλουν τόσο την ελεύθερη όσο και τη συνδεδεμένη θρομβίνη), ανήκει το Dabigatran Etexilate. Ο εργαστηριακός έλεγχος, εάν απαιτηθεί πραγματοποιείται με τη μέτρηση του χρόνου θρομβίνης (ΤΤ) ή του αραιωμένου χρόνου θρομβίνης (DΤΤ) και του χρόνου πήξης εκαρίνης (ECT). Ωστόσο δεν είναι εφικτή και καθιερωμένη η ευρεία χρήση τους, πόσο μάλλον σε επείγουσες καταστάσεις. Στην καθημερινή πρακτική ο χρόνος aPTT χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση της δράσης του [133]. Ο εργαστηριακός έλεγχος αν και μοναδική λύση, δεν αποτελεί πανάκεια αφού δεν υπάρχουν εγκεκριμένα τεστ για αυτόν τον σκοπό, δεν υπάρχει ιδανική συσχέτιση μεταξύ επιπέδων φαρμάκου και εργαστηριακών αποτελεσμάτων, η χρονική στιγμή που διενεργείται σε σχέση με την λήψη φαρμάκου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο και το εύρος των φυσιολογικών τιμών δεν έχει τεκμηριωθεί [134]. Τα κουμαρινικά αντιπηκτικά χρησιμοποιούνται από το 1954 στη θρομβοπροφύλαξη ασθενών. Η ιατρική κοινότητα είναι εξοικειωμένη στην χορήγησή τους αλλά και με τον εργαστηριακό έλεγχο της αποτελεσματικότητάς τους, η οποία είναι τεκμηριωμένη και δεδομένη. Βασικό πλεονέκτημα αποτελεί η χορήγησή της από το στόμα και η επαρκής αντιπηξία του ασθενούς. Ελάττωμα αποτελεί ο συχνός εργαστηριακός έλεγχος του INR, οι αλληλεπιδράσεις με φάρμακα και τροφές καθώς και το περιορισμένο θεραπευτικό εύρος. Η χρήση της κλασσικής ηπαρίνης από την άλλη απαιτεί συνήθως συνεχή ενδοφλέβια έγχυση, αποκλειστική ενδοσοκομειακή χρήση και τακτικούς ελέγχους του αρτηρικού έλεγχου της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας του φαρμάκου, ενώ οι ηπαρίνες χαμηλού μοριακού βάρους την διαδικασία της υποδόριας ένεσης μία ή δύο φορές την ημέρα, αλλά και τους ελέγχους των επιπέδων των σε περιπτώσεις ακραίου σωματικού βάρους, εγκυμοσύνης ή νεφρικής δυσλειτουργίας [135]. Τα αμέσως δρώντα από του στόματος αντιπηκτικά (DOACs) προέκυψαν από την ανάγκη να καλυφθούν τα κενά των παραδοσιακά χρησιμοποιούμενων αντιπηκτικών φαρμάκων. Η χορήγηση από του στόματος σε συνδυασμό με το ευρύ θεραπευτικό παράθυρο τα κατέστησαν εύχρηστα στην κλινικά πράξη. Αργότερα όμως στην κλινική εφαρμογή φάνηκε πως και αυτά δεν στερούνται μειονεκτημάτων και περιορισμών στη χρήση τους [136].

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα των DOACs ήταν η πεποίθηση πως μία δόση του παράγοντα θα ήταν ικανή να προφυλάξει επαρκώς χωρίς να χρειάζεται συχνός εργαστηριακός έλεγχος. Έτσι λοιπόν η θέση τους στο θεραπευτικό “οπλοστάσιο” επεκτάθηκε γρήγορα και η μελέτη τους σε διαφορετικούς πληθυσμούς ασθενών κατέστη εφικτή. Η αναγκαιότητα ή μη εργαστηριακής παρακολούθησης του αντιπηκτικού τους αποτελέσματος υπήρξε αρχικά τουλάχιστον αμφιλεγόμενη. Οι μελέτες αρχικά έδωσαν έμφαση στην απόδειξη της μη κατωτερότητας τους σε σύγκριση με τα κουμαρινικά αντιπηκτικά, ενώ λιγότερα ήταν τα δεδομένα σε πληθυσμούς περισσότερο ευάλωτων ασθενών. Αργότερα στον έλεγχο των επιπέδων τους στο αίμα κατά την διάρκεια της θεραπείας παρατηρήθηκε μεγάλη διακύμανση αυτών, με τις σταθερά αυξημένες τιμές να αυξάνουν τα αιμορραγικά συμβάματα [137].

Συγκεκριμένα σε υπο μελέτη της RE-LY συγκρίθηκαν οι δύο δόσεις dabigatran για τη θεραπεία της κοιλιακής μαρμαρυγής και συσχετίστηκαν τα αιμορραγικά συμβάματα με τα σταθερά αυξημένα επίπεδα του παράγοντα. Παράλληλα εντύπωση προκάλεσε η μεγάλη διακύμανση των επιπέδων της δαβιγατράνης στο αίμα η οποία ανιχνεύθηκε μέχρι και σε πενταπλάσια της αναμενόμενης τιμής δεδομένης της δόσης πρόσληψης της. Επιπλέον αυτού και αφού η βιοδιαθεσιμότητα της δαβιγατράνης επηρεάζεται από την ηλικία και την κάθαρση της κρεατινίνης, ισχυροποιείται η ανάγκη για εξατομίκευση της δοσολογίας της. Δεν υφίσταται λοιπόν ιδανική δόση που να ταιριάζει σε όλους και είναι μονόδρομος να βρεθούν οι ασθενείς εκείνοι που θα έχουν όφελος από την εξατομίκευση της δόσης. Ως απόδειξη των ανωτέρω η ελάττωση της δαβιγατράνης από 150mg σε 110mg μια εβδομάδα μετά την χορήγηση και εφόσον σε εργαστηριακό έλεγχο τα επίπεδα του παράγοντα ήταν μεγαλύτερα από 90 ng/ml, έδειξε κλινικό όφελος (υπό ανάλυση της RE-LY). Αντιθέτως η εξατομίκευση της δόσης της δαβιγατράνης δεν έδειξε όφελος στον ισχαιμικό κίνδυνο, ακόμα και σε ανεύρεση ακραίων τιμών του (<40 ng/ml, >200 ng/ml). Συμπερασματικά όφελος στον αιμορραγικό κίνδυνο προκύπτει εάν τιτλοποιείται η δόση του dabigatran σε ανεύρεση τιμών >200 ng/ml ή όταν ο χρόνος ΑΡΤΤ ανευρίσκεται > χ2 των ανώτερων φυσιολογικών τιμών (ΑΦΤ) του εργαστηρίου. Επίσης δεν συσχετίζεται ο αιμορραγικός κίνδυνος με αιχμές (peak) συγκεντρώσεών του, αλλά με τα συνεχώς αυξημένα επίπεδά του (plateau) [138].

Η ριβαροξαμπάνη παρότι διαθέτει αρκετά σταθερή βιοδιαθεσιμότητα, έλεγχος των επιπέδων της ανέδειξε μεγάλο εύρος απόκλισης, ενώ έχουν ανευρεθεί τιμές έως και εξήντα φορές υψηλότερες του αναμενόμενου. Ασθενείς των μελετών που αιμορράγησαν υπό ριβαροξαμπάνη, εργαστηριακά απέδειξαν ακραίες τιμές του αντιπηκτικού παράγοντα, τιμές που δεν αφορούσαν αιχμές επιπέδων, αλλά σταθερά αυξημένα επίπεδα. Αξίζει να αναφερθεί ότι σε μελέτη των Woodguff και συνεργατών συσχετίστηκαν τα επίπεδα PT και του αιμορραγικού κινδύνου στην οποία τιμές PT>30

sec ή >χ2 των ΑΦΤ είχαν τρεις φορές υψηλότερο κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών συγκριτικά με τους ασθενείς στους οποίους οι τιμές του PT ήταν <30 sec. Βάση αυτού θα μπορούσε ο χρόνος PT να θεωρηθεί ανεξάρτητος προγνωστικός παράγοντας αιμορραγικού κινδύνου [139].

Η απιξαμπάνη εμφανίζει ποικιλία έκφρασης στην βιοδιαθεσιμότητά της, αλλά λόγω φαρμακοκινητικών χαρακτηριστικών έχει πιο μικρή απόκλιση στα επίπεδά της σε σχέση με την δαβιγατράνη και τηριβαροξαμπάνη. Στις δόσεις που χορηγείται παρατηρούνται επίπεδα του παράγοντα στο πλάσμα έως τέσσερις ή έξι φορές υψηλότερα από το αναμενόμενο, αν και έχει παρατηρηθεί έως και 50 φορές υψηλότερη τιμή. Δεδομένα της μελέτης AVERROES δείχνουν συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων του παράγοντα με ελάσσονες αιμορραγίες, αλλά και τη συσχέτιση υποθεραπευτικών επιπέδων με αυξημένο κίνδυνο ισχαιμικών συμβαμάτων. Συγκεκριμένα διπλάσια επίπεδα των ανώτερων θεραπευτικών τιμών αυξάνουν τον αιμορραγικό κίνδυνο έως και 70% [140].

Η εντοξαμπάνη παρουσιάζει κι αυτή ποικίλη βιοδιαθεσιμότητα, ενώ τα επίπεδά της σχετίζονται τόσο με τη νεφρική λειτουργία, όσο και με τον αιμορραγικό κίνδυνο. Σημειώνεται πως διπλάσια αύξηση των ελάχιστων τιμών της διπλασιάζει τις αιμορραγίες. Σε υποανάλυση της μελέτης ENGAGE η οποία συνέκρινε την εντοξαμπάνη με τη βαρφαρίνη, φάνηκε ότι υπάρχει παρόμοια ασφάλεια όταν εξατομικεύεται η δόση της εντοξαμπάνης. Έγινε έτσι αντιληπτό ότι υψηλά επίπεδα του εντοξαμπάνης σχετίζονται με αύξηση του αιμορραγικού κινδύνου, ενώ χαμηλά επίπεδα αυξάνουν τον θρομβοεμβολικό κίνδυνο [141].

Γενικά τα νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά δεν απαιτούν συνεχή έλεγχο πηκτικότητας, έχουν γρήγορη έναρξη δράσης, προβλέψιμη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική, μεγάλο θεραπευτικό εύρος, σταθερές δόσεις και μεγάλες μελέτες που αποδεικνύουν πως δεν απαιτείται monitoring [142]. Από την άλλη μερικές φορές χρειάζεται εργαστηριακός έλεγχος ακόμη κι αυτών των αντιπηκτικών, όπως σε καταστάσεις αιμορραγίας ή θρομβωτικού συμβάματος υπό αγωγή, σε ενδεχόμενο υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας, σε προγραμματισμένο ή επείγον χειρουργείο, σε υποψία υπερδοσολογίας, σε νεφρική ή ηπατική δυσλειτουργία, σε ανάγκη ελέγχου συμμόρφωσης στην αγωγή, σε λήψη από ελλιποβαρείς ή παχύσαρκους ασθενείς και σε συγχορήγηση με φάρμακα που δυνητικώς αλληλεπιδρούν με αυτά [143],[144],[145].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι είναι η αδιαμφισβήτητη παρακαταθήκη των αντιθρομβωτικών φαρμάκων

στη ποιότητα ζωής των ανθρώπων και στην αλλαγή του ρου στο προσδόκιμο της επιβίωσής μας. Τεκμηριωμένα με μελέτες συντελούν σε λιγότερα αγγειακά συμβάματα, αλλά και στην παραμονή της βατότητας των αγγειακών ενδοπροθέσεων αρκεί βέβαια να δίδονται βάση ενδείξεων και σε αυτούς που θα επωφεληθούν από αυτά.

Η διερεύνηση της απόκρισης στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή μπορεί να προβλέψει θρομβωτικά και αιμορραγικά συμβάματα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική, παρά το γεγονός πως δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για την διενέργεια τους ως εξέταση ρουτίνας, η οποία θα κατευθύνει την θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών. Επίσης, ο εργαστηριακός έλεγχος των αιμοπεταλίων βοηθά στην επιλογή του κατάλληλου χρόνου επέμβασης σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, αλλά και στη θεραπευτική προσέγγιση σε περίπτωση αιμορραγίας. Η χορήγηση LMWH χρήζει παρακολούθησης σε λιποβαρείς ή υπέρβαρους ασθενείς, σε μειωμένη νεφρική κάθαρση, στην εγκυμοσύνη, σε παρατεταμένες περιόδους θεραπείας, σε νεογέννητα και μικρά παιδιά, αλλά και όταν παρά την θεραπεία δεν παρατηρείται το αναμενόμενο αντιπηκτικό αποτέλεσμα.

Γενικά τα νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά δεν απαιτούν συνεχή έλεγχο πήκτικότητας. Υπάρχει, όμως, πιθανό όφελος από την εργαστηριακή παρακολούθηση των DOAC σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών, προκειμένου να βελτιωθεί η ασφάλεια και αποτελεσματικότητά τους, αλλά απαιτούνται τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες για να προσδιορισθεί το θεραπευτικό εύρος αυτών των φαρμάκων και να αξιολογηθεί εάν η παρακολούθηση των DOAC μπορεί να βελτιώσει τη έκβαση σε ένα κλινικό περιβάλλον.

Η εργαστηριακή διερεύνηση σαφώς και έχει θέση στο να διαχωρίσει υποομάδες των ασθενών και να προβλέψει ποιος θα έχει το μέγιστο όφελος, αλλά και από ποιον ακριβώς αντιθρομβωτικό παράγοντα. Άλλωστε ζούμε στην εποχή της εξατομικευμένης αγωγής, στη λογική της οποίας ο εργαστηριακός έλεγχος βοηθά, αλλά και απ' την άλλη στην εποχή των αποδείξεων βάση μελετών, γι' αυτό και χρειάζονται μελέτες που να το αποδεικνύουν. Όταν λοιπόν αυτές οι μελέτες υπάρξουν, ο εργαστηριακός έλεγχος θα λάβει εν τέλει τη θέση που του αρμόζει.

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΥΝΟΨΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

Θρόμβωση είναι η διαδικασία σχηματισμού θρόμβου στο αρτηριακό ή φλεβικό δίκτυο, ενώ η σύνθεσή του διαφέρει μεταξύ αρτηριακού και φλεβικού αγγειακού συστήματος.

Εφαλτήριο θρομβογένεσης στο αρτηριακό δίκτυο είναι η ρήξη της αθηρωματικής πλάκας με το υπενδοθηλιακό μέχρι τότε λιπιδικό πυρήνα να εκτίθεται στον αυλό του αγγείου.

Στα πρωταρχικά στάδια τα αιμοπετάλια συσσωρεύονται, ενώ στη συνέχεια και με τη μεσολάβηση δραστικών παραγόντων/ ουσιών συσσωματώνονται στα πλαίσια τάχιστης δημιουργίας θρόμβου, ο οποίος αποφράσσει πλήρως ή μερικώς τον αγγειακό αυλό. Περιφερική αρτηριακή νόσος και ισχαιμική καρδιακή νόσος αποτελούν τους κυριότερους εκπροσώπους της αρτηριακής αγγειακής νόσου.

Ο θρόμβος στο φλεβικό δίκτυο περιέχει πρωτίστως ινική, ενώ πυροδοτές θεωρούνται οι διαταραχές του καταρράκτη της πήξης που ευνοούν τη θρόμβωση, η ελάττωση της αιματικής ροής και οι αλλαγές στη λειτουργικότητα του ενδοθηλίου λόγω υποβόσκουσας φλεγμονής. Γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο φλεβικής θρομβοεμβολικής νόσου.

Η αρτηριακή και φλεβική θρόμβωση παρά την διαφορετική τους παθογένεση έχουν μηχανισμούς περίπλοκα συνδεδεμένους και αλληλοεξαρτώμενους, όπως φαίνεται από τη δράση της θρομβίνης, η οποία αποτελεί ακρογωνιαίο λίθο της πήξης, αλλά και της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Ο εργαστηριακός έλεγχος των αιμοπεταλίων βοηθά στην επιλογή του κατάλληλου χρόνου επέμβασης σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, αλλά και στη θεραπευτική προσέγγιση σε περίπτωση αιμορραγίας.

Η ανάπτυξη των αντιθρομβωτικών παραγόντων, τόσο των αντιαιμοπεταλιακών όσο και των αντιπηκτικών, άλλαξε την αντιμετώπιση της θρόμβωσης, βελτιώνοντας τόσο την ποιότητα της ζωής όσο και την επιβίωση των ασθενών αυτών.

Οι δοκιμασίες λειτουργικότητας των αιμοπεταλίων και επομένως η διερεύνηση της απόκρισης στην αντιαιμοπεταλιακή αγωγή μπορούν να προβλέψουν θρομβωτικά και αιμορραγικά συμβάματα σε ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική, παρά το γεγονός πως δεν υπάρχουν επαρκείς αποδείξεις για την διενέργεια τους ως εξέταση ρουτίνας, η οποία θα κατευθύνει την θεραπευτική προσέγγιση των ασθενών. Επίσης, ο εργαστηριακός έλεγχος των αιμοπεταλίων βοηθά στην επιλογή του κατάλληλου χρόνου επέμβασης σε ασθενείς που λαμβάνουν αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, αλλά και στη θεραπευτική προσέγγιση σε περίπτωση αιμορραγίας.

Τα κουμαρινικά αντιπηκτικά πρέπει να ελέγχονται με τη χρήση του PT/ INR και η αγωγή να εξατομικεύεται ανάλογα με τη νόσο και βάση των εργαστηριακών ευρημάτων. Η θεραπεία με κλασική ηπαρίνη ελέγχεται με τη χρήση του APTT. Η δράση της κλασικής ηπαρίνης μπορεί να ελεγχθεί επίσης με την αντί-Χα δραστικότητα στην περίπτωση που άλλοι λόγοι πέραν της αντιπηκτικής αγωγής επηρεάζουν το χρόνο APTT. Η χορήγηση LMWH χρήζει παρακολούθησης σε λιποβαρείς ή υπέρβαρους ασθενείς, σε μειωμένη



νεφρική κάθαρση, στην εγκυμοσύνη, σε παρατεταμένες περιόδους θεραπείας, σε νεογέννητα και μικρά παιδιά, αλλά και όταν παρά την θεραπεία δεν παρατηρείται το αναμενόμενο αντιπηκτικό αποτέλεσμα.

Τα απευθείας δρώντα από του στόματος αντιπηκτικά εμφανίζουν σαφή πλεονεκτήματα όταν συγκριθούν με τα εμμέσως δρώντα από του στόματος κουμαρινικά αντιπηκτικά. Στα κυριότερα προτερήματα συγκαταλέγονται το καλύτερο προφίλ ασφαλείας με τις λιγότερες αιμορραγίες και το μεγαλύτερο θεραπευτικό εύρος, η αποτελεσματικότητά τους και η καλύτερη συμμόρφωση των ασθενών-

Έτσι τα νεότερα από του στόματος αντιπηκτικά δεν απαιτούν συνεχή έλεγχο πηκτικότητας, έχουν γρήγορη έναρξη δράσης, προβλέψιμη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική, μεγάλο θεραπευτικό εύρος, σταθερές δόσεις και μεγάλες μελέτες που αποδεικνύουν πως δεν απαιτείται monitoring. Από την άλλη μερικές φορές χρειάζεται εργαστηριακός έλεγχος ακόμη κι αυτών των αντιπηκτικών σε καταστάσεις αιμορραγίας ή θρομβωτικού συμβάματος υπό αγωγή, σε ενδεχόμενο υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας, σε προγραμματισμένο ή επείγον χειρουργείο, σε υποψία υπερδοσολογίας, σε νεφρική ή ηπατική δυσλειτουργία, σε ανάγκη ελέγχου συμμόρφωσης στην αγωγή, σε λήψη από λιποβαρείς ή παχύσαρκους ασθενείς και σε συγχορήγηση με φάρμακα που δυνητικώς αλληλεπιδρούν με αυτά.

## Βιβλιογραφία

[1] Γεωργούλης Ι.Ε. Αιμόσταση, διαγνωστικές και θεραπευτικές προσεγγίσεις. Θεσσαλονίκη, 2004

[2] Amaral A, Opal SM, Vincent JL Coagulation in sepsis. Intensive Care Med 2004, 30:1032-40

[3] Opal SM Phylogenetic and functional relationship between coagulation and the innate immune response. Crit Care Med 2000 23: S77-S80

[4] Watanabe R, Wada H, Watanabe Y, Sakakura M, Nakasaki T, Mori Y. Activity and antigen levels of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor in plasma of patients with disseminated intravascular coagulation Thromb Res 2001 104: 1-6

[5] Coluci M, Paramo GA, Collen D Generation in plasma of a fast-acting inhibitor of plasminogen activator. In response to endotoxin stimulation. J Clin Invest 1985 75: 818-24

[6] Lorente JA, Garcia-Frade LJ, Landin L, De Pablo R, Torrado C, Renes E, Garcia-Avello A, Time

course of hemostatic abnormalities in sepsis and its relation to outcome. *Chest* 1993, 103: 1536-42

[7] Mavrommatis AC, Theodoridis T, Economou M, Kotanidou A, El Ali M, ChristopoulouKokkinou B, Zakyntinos SG. Activation of the fibrinolytic system and utilization of the coagulation inhibitors in sepsis: comparison with severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2001 27: 1853-59

[8] Kalantzi KI, Tsoumani ME, Goudevenos IA, Tselepis AD. Pharmacodynamic properties of antiplatelet agents: current knowledge and future perspectives. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2012; 5: 319-36.

[9] Gachet C. Antiplatelet drugs: which targets for which treatments? *J ThrombHaemost* 2015; 13 Suppl 1: S313-22.

[10] Giannarelli C, Zafar MU, Badimon JJ. Prostanoid and TP-receptors in atherothrombosis: is there a role for their antagonism? *ThrombHaemost* 2010; 104: 949-54.

[11] Sikka P, Bindra VK. Newer antithrombotic drugs. *Indian J Crit Care Med* 2010; 14: 188-95.

[12] Huang ES, Strate LL, Ho WW, Lee SS, Chan AT. Long-term use of aspirin and the risk of gastrointestinal bleeding. *Am J Med* 2011; 124: 426-33.

[13] DeFilippis AP, Rai SN, Cambon A, et al. Fatty acids and TxA(2) generation, in the absence of platelet-COX-1 activity. *NutrMetab Cardiovasc Dis* 2014; 24: 428-33.

[14] Halvorsen S, Andreotti F, ten Berg JM, et al. Aspirin therapy in primary cardiovascular disease prevention: a position paper of the European Society of Cardiology working group on thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2014; 64: 319-27.

[15] Alvarez-Sabin J, Quintana M, Santamarina E, Maisterra O. Triflusal and aspirin in the secondary prevention of atherothrombotic ischemic stroke: a very long-term follow-up. *Cerebrovasc Dis* 2014; 37: 181-7.

[16] Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. *ThrombHaemost* 2009; 102: 248-57.

[17] Wijeyeratne YD, Heptinstall S. Anti-platelet therapy: ADP receptor antagonists. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72: 647-57.

[18] Gachet C. Molecular mechanisms of platelet activation. *Bull Acad Natl Med* 2013; 197: 361-73.

[19] Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 1999; 100: 1667-72

[20] Gillette M, Morneau K, Hoang V, Virani S, Jneid H. Antiplatelet Management for Coronary Heart Disease: Advances and Challenges. *CurrAtheroscler Rep* 2016; 18: 35

- [21] Tsoumani ME, Kalantzi KI, Goudevenos IA, Tselepis AD. Clopidogrel generic formulations in the era of new antiplatelets: a systematic review. *CurrVascPharmacol* 2014; 12: 766-77.
- [22] Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *Vasc Health Risk Manag* 2015; 11: 133-48.
- [23] Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009; 361: 1045-57
- [24] Angiolillo DJ, Bhatt DL, Gurbel PA, Jennings LK. Advances in antiplatelet therapy: agents in clinical development. *Am J Cardiol* 2009; 103: 40A-51A
- [25] Teng R. Ticagrelor: pharmacokinetic, pharmacodynamic and pharmacogenetic profile: an update. *Clin Pharmacokinet* 2015; 54: 1125-38.
- [26] King S, Short M, Harmon C. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors: The resurgence of tirofiban. *VasculPharmacol* 2016; 78: 10-6.
- [27] Goudevenos JA, Tselepis AD. Basic and clinical aspects of platelet integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 receptor antagonists in acute coronary syndromes. *Curr Opin Investig Drugs* 2001; 2: 244-9.
- [28] Rondina MT, Weyrich AS. Targeting phosphodiesterases in antiplatelet therapy. *Handb Exp Pharmacol* 2012: 225-38.
- [29] Molina-Arcas M, Casado FJ, Pastor-Anglada M. Nucleoside transporter proteins. *CurrVascPharmacol* 2009; 7: 426-34.
- [30] Chen JF, Eltzschig HK, Fredholm BB. Adenosine receptors as drug targets--what are the challenges? *Nat Rev Drug Discov* 2013; 12: 265-86.
- [31] Gurbel PA, Tantry US. Combination antithrombotic therapies. *Circulation* 2010; 121: 569-83.
- [32] Gresele P, Momi S, Falcinelli E. Anti-platelet therapy: phosphodiesterase inhibitors. *Br J Clin Pharmacol* 2011; 72: 634-46.
- [33] Ishii H, Kumada Y, Toriyama T, et al. Cilostazol improves longterm patency after percutaneous transluminal angioplasty in hemodialysis patients with peripheral artery disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1034-40.
- [34] Niu PP, Guo ZN, Jin H, Xing YQ, Yang Y. Antiplatelet regimens in the long-term secondary prevention of transient ischaemic attack and ischaemic stroke: an updated network meta-analysis. *BMJ Open* 2016; 6: e009013.
- [35] Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, et. al. Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest*. 2012;141suppl:e44S-e88S

- [36] Weitz JI. Blood coagulation and anticoagulant, fibrinolytic, and antiplatelet drugs. In: Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. Brunton LL (Ed). 12th edition. McGraw Hill Medical. New York. 211;848-76.
- [37] Gresham C, Levine M, Ruha AM. Case files of the medical toxicology fellowship at Banner Good Samaritan Medical Center in Phoenix, AZ: a non-warfarin anticoagulant overdose. *J Med Toxicol.* 2009;5:242-49
- [38] Kubitzka D, Becka M, Roth A, et al. Dose-escalation study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban in healthy elderly subjects. *Curr Med Res Opin.* 2008;24:2757-65.
- [39] Weitz JI, Eikelboom JW, Samama MM. Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2012;141suppl:e102s-51s
- [40] Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, et. al. Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest.* 2012;141suppl:e44S-e88S.
- [41] Ganetsky M, Babu KM, Salhanick SD, et. al. Dabigatran: review of pharmacology and management of bleeding complications of this novel oral anticoagulant. *J Med Toxicol.* 2011;7:281-7.
- [42] Simpson D, Siddiqui MA, Scott LJ, et. al. Reteplase: a review of its use in the management of thrombotic occlusive disorders. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2006;6:265-85.
- [43] Nordt TK, Bode C. Thrombolysis: newer thrombolytic agents and their role in clinical medicine. *Heart.* 2003;89:1358-62.
- [44] Patrono C, Ciabattini G, Davi G. Thromboxane biosynthesis in cardiovascular diseases. *Stroke* 1990;21(12 Suppl):IV130-3.
- [45] Michelson AD. Methods for the measurement of platelet function. *Am J Cardiol* 2009;103(3 Suppl):20A-26A.
- [46] Cattaneo M. Laboratory detection of "aspirin resistance": what test should we use (if any)? *Eur Heart J* 2007;28(14):1673-5.
- [47] Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet* 2006;367 (9510):606-17.
- [48] Grosser T, Fries S, Lawson JA, Kapoor SC, Grant GR, FitzGerald GA. Drug resistance and pseudo-resistance: an unintended consequence of enteric coating aspirin. *Circulation* 2013;127(3):377-85.
- [49] Harrison P, Frelinger 3rd AL, Furman MI, Michelson AD. Measuring antiplatelet drug effects

in the laboratory. *Thromb Res* 2007;120(3):323–36.

[50] Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *ThrombHaemost* 2006;96(6):781–8.

[51] Gurbel PA, Bliden KP, Navickas IA, Mahla E, Dichiara J, Suarez TA, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet-fibrin clot strength: a new thrombelastographic indicator of long-term poststenting ischemic events. *Am Heart J* 2010;160(2):346–54

[52] Cattaneo M. Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection. *J ThrombHaemost* 2007;5(Suppl 1):230–7.

[53] Koessler J, Kobsar AL, Rajkovic MS, Schafer A, Flierl U, Pfoertsch S, et al. The new INNOVANCE(R) PFA P2Y cartridge is sensitive to the detection of the P2Y<sub>1</sub>(2) receptor inhibition. *Platelets* 2011;22(1):20–7.

[54] Siller-Matula JM, Panzer S, Jilma B. Reproducibility and standardized reporting of the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay. *Platelets* 2008;19(7):551–4.

[55] Gremmel T, Koppensteiner R, Kaider A, Eichelberger B, Mannhalter C, Panzer S. Impact of variables of the P-selectin-Pselectin glycoprotein ligand-1 axis on leukocyte-platelet interactions in cardiovascular disease. *ThrombHaemost* 2015;113 (4):806–12.

[56] Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood* 1996;87(12):4925–36.

[57] Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Valeri CR, Furman MI. Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction. *Circulation* 2001;104(13):1533–7.

[58] Furman MI, Barnard MR, Krueger LA, Fox ML, Shilale EA, Lessard DM, et al. Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2001;38(4):1002–6.

[59] Gremmel T, Kopp CW, Moertl D, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, et al. Influence of cytochrome 2C19 allelic variants on on-treatment platelet reactivity evaluated by five different platelet function tests. *Thromb Res* 2012;129(5):616–22.

[60] Gremmel T, Kopp CW, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, Sunder-Plassmann R, et al. Differential impact of cytochrome 2C9 allelic variants on clopidogrel-mediated platelet inhibition determined by five different platelet function tests. *Int J Cardiol* 2013;166(1):126–31.

[61] Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Meneveau N, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009;360(4):363–75.

- [62] Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009;360(4):354–62.
- [63] Sibbing D, Koch W, Gebhard D, Schuster T, Braun S, Stegherr J, et al. Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* 2010;121(4):512–8.
- [64] Willeit P, Zampetaki A, Dudek K, Kaudewitz D, King A, Kirkby NS, et al. Circulating microRNAs as novel biomarkers for platelet activation. *Circ Res* 2013;112(4):595–600.
- [65] Carino A, De Rosa S, Sorrentino S, Polimeni A, Sabatino J, Caiazza G, et al. Modulation of circulating MicroRNAs levels during the switch from clopidogrel to ticagrelor. *Biomed Res Int* 2016;2016:3968206.
- [66] Kaudewitz D, Skroblin P, Bender LH, Barwari T, Willeit P, Pechlaner R, et al. Association of MicroRNAs and YRNAs with platelet function. *Circ Res* 2016;118(3):420–32
- [67] P.A. Owren, Thrombotest: a new method for controlling anticoagulant therapy, *Lancet* 274 (1959) 754–758.
- [68] W.E.C.o.B. Standardization, Requirements for Biological Substances No. 30, revised, World Health Organization, Geneva, 1982. 1983.
- [69] P. Brill-Edwards, J.S. Ginsberg, M. Johnston, J. Hirsh, Establishing a therapeutic range for heparin therapy, *Ann. Intern. Med.* 119 (1993) 104–109.
- [70] S.P. Bajaj, J.H. Joist, New insights into how blood clots: implications for the use of APTT and PT as coagulation screening tests and in monitoring of anticoagulant therapy, *Semin. Thromb. Hemost.* 25 (1999) 407–418.
- [71] J. Douxfils, A. Tamigniau, B. Chatelain, C. Goffinet, J.M. Dogne, F. Mullier, Measurement of non-VKA oral anticoagulants versus classic ones: the appropriate use of hemostasis assays, *Thromb. J.* 12 (2014) 24.
- [72] T. Baglin, A. Hillarp, A. Tripodi, I. Elalamy, H. Buller, W. Ageno, Measuring oral direct inhibitors (ODIs) of thrombin and factor Xa: a recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardisation Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis, *J. Thromb. Haemost.* 11 (2013) 756–760.
- [73] K. Ikeda, H. Tachibana, Clinical implication of monitoring rivaroxaban and apixaban by using anti-factor Xa assay in patients with non-valvular atrial fibrillation, *J. Arrhythm.* 32 (2016) 42–50.
- [74] R.C. Gosselin, J.H. King, K.A. Janatpour, W.E. Dager, E.C. Larkin, J.T. Owings, Comparing direct thrombin inhibitors using aPTT, ecarin clotting times, and thrombin inhibitor management testing, *Ann. Pharmacother.* 38 (2004) 1383–1388.

[75] S.E. Lind, M.E. Boyle, S. Fisher, J. Ishimoto, T.C. Trujillo, T.H. Kiser, Comparison of the aPTT with alternative tests for monitoring direct thrombin inhibitors in patient samples, *Am. J. Clin. Pathol.* 141 (2014) 665–67.

[76] E.M. Van Cott, A.J. Roberts, W.E. Dager, Laboratory monitoring of parenteral direct thrombin inhibitors, *Semin. Thromb. Hemost.* 43 (2017) 270–276.

[77] Dale BJ, Chan NC, Eikelboom JW. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants. *Br J Haematol* 2016;172:315-36.

[78] Douxfils J, Tamigniau A, Chatelain B, Chatelain C, Wallemacq P, Dogné JM, Mullier F. Comparison of calibrated chromogenic anti-Xa assay and PT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with rivaroxaban. *ThrombHaemost* 2013;110:723-31.

[79] Douxfils J, Tamigniau A, Chatelain B, Chatelain C, Wallemacq P, Dogné JM, Mullier F. Comparison of calibrated chromogenic anti-Xa assay and PT tests with LC-MS/MS for the therapeutic monitoring of patients treated with rivaroxaban. *ThrombHaemost* 2013;110:723-31.

[80] P. Peternel, M. Terbizan, G. Tratar, M. Bozic, D. Horvat, B. Salobir, M. Stegnar, Markers of hemostatis system activation during treatment of deep vein thrombosis with subcutaneous unfractionated or low-molecular weight heparin, *Thromb. Res.* 105 (2002) 241–245.

[81] A. Siegbahn, S.Y. Hassan, J. Boberg, H. Bylund, H.S. Neerstrand, P. Ostergaard, U. Hedner, Subcutaneous treatment of deep venous thrombosis with low molecular weight heparin: a dose finding study with LMWH-Novo, *Thromb. Res.* 55 (1989) 767–778.

[82] W. Lim, M. Crowther, L.Q. Wang, J.D. Douketis, T. Schnurr, C. Moreau, C. Clase, M. Rodger, E. Yeo, M. Leblanc, P. McFarlane, C.M. Ribic, Serial trough anti-Xa levels to assess low molecular weight heparin accumulation in patients with chronic kidney disease: analysis of CrCl<sub>< 30</sub> ml/min from the trivet study, *Blood* 128 (2016) 90.

[83] K.A. Bauer, D.W. Hawkins, P.C. Peters, M. Petitou, J.M. Herbert, C.A.A. van Boeckel, D.G. Meuleman, Fondaparinux, a synthetic pentasaccharide: the first in a new class of antithrombotic agents—the selective factor Xa inhibitors, *Cardiovasc. Drug Rev.* 20 (2002) 37–52.

[84] Y. Yukizawa, S. Yajima, C. Hyonmin, Y. Inaba, N. Kobayashi, M. Nakamura, S.-i. Watanabe, T. Ishida, T. Saito, S. Nagalla, Plasma accumulation of fondaparinux 2.5 mg in patients after total hip arthroplasty, *J. Thromb. Thrombolysis* 34 (2012) 526–532.

[85] M.A. Smythe, J. Priziola, P.P. Dobesh, D. Wirth, A. Cuker, A.K. Wittkowsky, Guidance for the practical management of the heparin anticoagulants in the treatment of venous thromboembolism, *J. Thromb. Thrombolysis* 41 (2016) 165–186.

[86] F. Al-Aieshy, R.E. Malmstrom, J. Antovic, A. Pohanka, Y. Ronquist-Nii, M. Berndtsson, F. Al-Khalili, M. Skeppholm, Clinical evaluation of laboratory methods to monitor exposure of

rivaroxaban at trough and peak in patients with atrial fibrillation. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 72 (2016) 671–679, [https://doi.org/10.1007/s00228-016-2060-y\(2016\)](https://doi.org/10.1007/s00228-016-2060-y(2016)).

[87] M.M. Samama, J. Amiral, C. Guinet, E. Perzborn, F. Depasse, Anoptimised, rapid chromogenic assay, specific for measuring direct factor Xa inhibitors (rivaroxaban) in plasma, *Thromb. Haemost.* 104 (2010) 1078–1079.

[88] M. Skeppholm, F. Al-Aieshy, M. Berndtsson, F. Al-Khalili, Y. Ronquist-Nii, L. Soderblom, A.Y. Ostlund, A. Pohanka, J. Antovic, R.E. Malmstrom, Clinical evaluation of laboratory methods to monitor apixaban treatment in patients with atrial fibrillation, *Thromb. Res.* 136 (2015) 148–153

[89] M. Bozic-Mijovski, R.E. Malmstrom, P. Malovrh, J.P. Antovic, N. Vene, P. Sinigoj, A. Mavri, Diluted thrombin time reliably measures low to intermediate plasma dabigatran concentrations, *Ann. Clin. Biochem.* 53 (2015) 446–451.

[90] E.M.H. Schmitz, D. van den Heuvel, K. Boonen, J.L.J. van Dongen, L. Brunsveld, D. van de Kerkhor, Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban using UPLC-MS/MS and comparison with coagulation assays for therapy monitoring, *Ned. Tijdschr. Klin. Chem. Labgeneesk* 38 (2013) 142–144.

[91] P. Sinigoj, R.E. Malmstrom, N. Vene, Y. Ronquist-Nii, M. Bozic-Mijovski, A. Pohanka, J.P. Antovic, A. Mavri, Dabigatran concentration: variability and potential bleeding prediction in real-life patients with atrial fibrillation, *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 117 (2015) 323–329.

[92] G. Nowak, Theecarin clotting time, a universal method to quantify direct thrombin inhibitors, *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 33 (2003) 173–183.

[93] E.M. Van Cott, A.J. Roberts, W.E. Dager, Laboratory monitoring of parenteral direct thrombin inhibitors, *Semin. Thromb. Hemost.* 43 (2017) 270–276.

[94] T. Eller, J. Busse, M. Dittrich, T. Flieder, S. Alban, C. Knabbe, I. Birschmann, Dabigatran, rivaroxaban, apixaban, argatroban and fondaparinux and their effects on coagulation POC and platelet function tests, *Clin. Chem. Lab. Med.* 52 (2014) 835–844.

[95] O. Thomas, A. Larsson, N. Tynngard, U. Schott, Thromboelastometry versus freeoscillationrheometry and enoxaparin versus tinzaparin: an in-vitro study comparing two viscoelastic haemostatic tests' dose-responses to two low molecular weight heparins at the time of withdrawing epidural catheters from ten patients after major surgery, *BMC Anesthesiol.* 15 (2015) 170.

[96] R. Davenport, J. Manson, H. De'Ath, S. Platton, A. Coates, S. Allard, D. Hart, R. Pearse, K.J. Pasi, P. MacCallum, S. Stanworth, K. Brohi, Functional definition and characterization of acute traumatic coagulopathy, *Crit. Care Med.* 39 (2011) 2652–2658.

[97] S.A. Kozek-Langenecker, A. Afshari, P. Albaladejo, C.A. Santullano, E. De Robertis, D.C.



Filipescu, D. Fries, K. Gorlinger, T. Haas, G. Imberger, M. Jacob, M. Lance, J. Llau, S. Mallett, J. Meier, N. Rahe-Meyer, C.M. Samama, A. Smith, C. Solomon, P. Van der Linden, A.J. Wikkello, P. Wouters, P. Wyffels, Management of severe perioperative bleeding: guidelines from the European society of anaesthesiology, *Eur. J. Anaesthesiol.* 30 (2013) 270–382.

[98] R.C. Gosselin, D. Adcock, E.M. Hawes, S.J. Francart, R.P. Grant, S. Moll, Evaluating the use of commercial drug-specific calibrators for determining PT and APTT reagent sensitivity to dabigatran and rivaroxaban, *Thromb. Haemost.* 113 (2015) 77–84.

[99] D.E. Schmidt, M. Holmstrom, A. Majeed, D. Naslin, H. Wallen, A. Agren, Detection of elevated INR by thromboelastometry and thromboelastography in warfarin treated patients and healthy controls, *Thromb. Res.* 135 (2015) 1007–1011.

[100] L. Spiezia, D. Bertini, L. Salmaso, P. Simioni, Whole blood rotation thrombelastometry in subjects undergoing vitamin K antagonist treatment: hypo- or hypercoagulable profiles? *Thromb. Res.* 122 (2008) 568–569.

[101] M. Božić-Mijovski, N. Vene, N. Snoj, P. Gradisček, A. Mavri, Rotational thromboelastometry in ex vivo samples from routine clinical practice patients receiving dabigatran, *Clin. Chim. Acta* 466 (2017) 20–21.

[102] Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(2):246–51

[103] Krishna V, Diamond GA, Kaul S. Do platelet function testing and genotyping improve outcome in patients treated with antithrombotic agents?: the role of platelet reactivity and genotype testing in the prevention of atherothrombotic cardiovascular events remains unproven. *Circulation.* 2012;125(10):1288–303; discussion 303

[104] Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med.* 2002;8(11):1227–34.

[105] Gorog DA, Sweeny JM, Fuster V. Antiplatelet drug 'resistance'. Part 2: laboratory resistance to antiplatelet drugs—fact or artifact? *Nat Rev Cardiol.* 2009;6(5):365–73.

[106] Paniccia R, Priora R, Liotta AA, Abbate R. Platelet function tests: a comparative review. *VascHealth Risk Manag.* 2015;11:133–48

[107] Gorog DA, Jeong YH. Platelet function tests: why they fail to guide personalized antithrombotic medication. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(5).

[108] Gorog DA, Jeong YH. Platelet function tests: why they fail to guide personalized antithrombotic medication. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(5)

[109] Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, Tanguay JF, Angiolillo DJ, Spriggs D, et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA.* 2011;305(11):1097–105.

[110] Trenk D, Stone GW, Gawaz M, Kastrati A, Angiolillo DJ, Müller U, et al. 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: results of the TRIGGER-PCI (Testing Platelet Reactivity In Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy With Prasugrel) study. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(24):2159-64.

[111] Collet JP, Cuisset T, Rangé G, Cayla G, Elhadad S, Pouillot C, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med.* 2012;367(22):2100-9.

[112] Collet JP, Cuisset T, Rangé G, Cayla G, Elhadad S, Pouillot C, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med.* 2012;367(22):2100-9.

[113] *Journal of the American College of Cardiology* Volume 64, Issue 9, 2 September 2014, Pages 863-871

[114] Ari H, Ozkan H, Karacinar A, Ari S, Koca V, Bozat T. The Effect of high-dose Clopidogrel treatment in patients with clopidogrel resistance (the EFFICIENT trial). *Int J Cardiol.* 2012;157(3):374-80.

[115] Paniccia R, Antonucci E, Maggini N, Romano E, Gori AM, Marcucci R, et al. Assessment of platelet function on whole blood by multiple electrode aggregometry in high-risk patients with coronary artery disease receiving antiplatelet therapy. *Am J Clin Pathol.* 2009;131(6):834-42.

[116] Tantry US, Bonello L, Aradi D, Price MJ, Jeong YH, Angiolillo DJ, et al. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62(24):2261-73.

[117] Sibbing D, Aradi D, Jacobshagen C, Gross L, Trenk D, Geisler T, Orban M, Hadamitzky M, Merkely B, Kiss RG, Komócsi A, Dézsi CA, Holdt L, Felix SB, Parma R, Klopotoski M, Schwinger RHG, Rieber J, Huber K, Neumann FJ, Koltowski L, Mehilli J, Huczek Z, Massberg S; TROPICAL-ACS Investigators. Guided de-escalation of antiplatelet treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention (TROPICAL-ACS): a randomised, open-label, multicentre trial. *Lancet.* 2017 Oct 14;390(10104):1747-1757.

[118] Koltai K, Kesmarky G, Feher G, Tibold A, Toth K. Platelet Aggregometry Testing: Molecular Mechanisms, Techniques and Clinical Implications. *Int J Mol Sci.* 2017 Aug 18;18(8):1803.

[119] Zhou Y, Wang Y, Wu Y, Huang C, Yan H, Zhu W, Xu W, Zhang L, Zhu J. Individualized dual antiplatelet therapy based on platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc Disord.* 2017 Jun 15;17(1):157

[120] Aradi D, Gross L, Trenk D, Geisler T, Merkely B, Kiss RG, Komócsi A, Dézsi CA, Ruzsa Z, Ungi I, Rizas KD, May AE, Mügge A, Zeiher AM, Holdt L, Huber K, Neumann FJ, Koltowski L, Huczek Z, Hadamitzky M, Massberg S, Sibbing D Platelet reactivity and clinical outcomes in acute coronary syndrome patients treated with prasugrel and clopidogrel: a pre-specified exploratory analysis from the TROPICAL-ACS trial. *Eur Heart J*. 2019 Jun 21;40(24):1942-1951.

[121] (2018 ESC/ EACTS guidelines on myocardial revascularization).

[122] *European Heart Journal* (2021) 42, 1289\_1367.

[123] Aradi D, Komócsi A, Vorobcsuk A, Serebruany VL. Impact of clopidogrel and potent P2Y<sub>12</sub> - inhibitors on mortality and stroke in patients with acute coronary syndrome or undergoing percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis. *Thromb Haemost*. 2013 Jan;109(1):93-101

[124] Kerneis M, Silvain J, Abtan J, Cayla G, O'Connor SA, Barthélémy O, et al. Switching acute coronary syndrome patients from prasugrel to clopidogrel. *JACC Cardiovasc Interv*. 2013;6(2):158--65.

[125] Deharo P, Pons C, Pankert M, Bonnet G, Quilici J, Grosdidier C, et al. Effectiveness of switching 'hyper responders' from Prasugrel to Clopidogrel after acute coronary syndrome: the POBA (Predictor of Bleeding with Antiplatelet drugs) SWITCH study. *Int J Cardiol*. 2013;168(5):5004--5.

[126] Mokhtar OA, Lemesle G, Armero S, Mancini J, Bonello C, Tahirou I, et al. Relationship between platelet reactivity inhibition and non-CABG related major bleeding in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Thromb Res*. 2010;126(2):e147--9

[127] Petricevic M, Biocina B. Letter by Petricevic and Biocina regarding article, "Platelet function measurement-based strategy to reduce bleeding and waiting time in clopidogrel-treated patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: the Timing Based on Platelet Function Strategy to Reduce Clopidogrel-Associated Bleeding Related to CABG (TARGET-CABG) Study". *Circ Cardiovasc Interv*. 2012 Jun;5(3):e47; author reply e48

[128] Satger B, Blaise S, Fontaine M, Yver J, Allenet B, Baudrant M, Pernod G, Bosson JL. [Therapy education for patients receiving oral anti-coagulants vitamin K antagonists]. *Presse Med*. 2009 Dec;38(12):1780-7

[129] Hansen JB, Sandset PM. Differential effects of low molecular weight heparin and unfractionated heparin on circulating levels of antithrombin and tissue factor pathway inhibitor (TFPI): a possible mechanism for difference in therapeutic efficacy. *Thromb Res*. 1998 Aug 15;91(4):177-81

[130] Francesca Solari, Matthew Varacallo Low Molecular Weight Heparin (LMWH) In: *StatPearls [Internet]*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan. 2021 Jul 25

- [131]. Douxfils J, Ageno W, Samama C-M, et al. Laboratory testing in patients treated with direct oral anticoagulants: a practical guide for clinicians. *J ThrombHaemost* 2018;16(02):209–219
- [132] Güler E, Babur Güler G, Demir GG, Hatipoğlu S. A review of the fixed dose use of new oral anticoagulants in obese patients: Is it really enough? *Anatol J Cardiol* 2015;15(12):1020–1029
- [133] Liesenfeld KH, Lehr T, Dansirikul C, et al. Population pharmacokinetic analysis of the oral thrombin inhibitor dabigatran etexilate in patients with non-valvular atrial fibrillation from the RELY trial. *J ThrombHaemost* 2011;9(11):2168–2175
- [134] Stangier J, Clemens A. Pharmacology, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of dabigatran etexilate, an oral direct thrombin inhibitor. *Clin Appl ThrombHemost* 2009;15(Suppl 1): 9S–16S
- [135] Chang SH, Chou IJ, Yeh YH, et al. Association between use of nonvitamin K oral anticoagulants with and without concurrent medications and risk of major bleeding in nonvalvular atrial fibrillation. *JAMA* 2017;318(13):1250–1259
- [136] Mismetti P, Laporte S. New oral antithrombotics: a need for laboratory monitoring. *For. J ThrombHaemost* 2010;8(04): 621–626
- [137] Powell JR. Are new oral anticoagulant dosing recommendations optimal for all patients? *JAMA* 2015;313(10):1013–1014
- [138] Reilly PA, Lehr T, Haertter S, et al. RE-LY Investigators. The effect of dabigatran plasma concentrations and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY Trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). *J Am Coll Cardiol* 2014;63 (04):321–328
- [139] Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al. ROCKET AF Investigators. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365(10):883–891
- [140] Granger CB, Alexander JH, McMurray JJV, et al. ARISTOTLE Committees and Investigators. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2011;365(11):981–992
- [141] Giugliano RP, Ruff CT, Braunwald E, et al. ENGAGE AF-TIMI 48 Investigators. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2013;369(22):2093–2104
- [142] Kanuri SH, Kreutz RP. Pharmacogenomics of novel direct oral anticoagulants: newly identified genes and genetic variants. *J Pers Med* 2019;9(01):E7
- [143] Becattini C, Giustozzi M, Ranalli MG, et al. Variation of renal function over time is associated with major bleeding in patients treated with direct oral anticoagulants for atrial fibrillation. *J ThrombHaemost* 2018;16(05):833–841

[144] Min M, Sibicky S. Concerns for bleeding in the elderly with the use of direct oral anticoagulants. *Consult Pharm* 2018;33(05):262–267

[145] Ruff CT, Giugliano RP, Braunwald E, et al. Comparison of the efficacy and safety of new oral anticoagulants with warfarin in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis of randomised trials. *Lancet* 2014;383(9921):955–962