

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

2. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Oddělení klinické hematologie ve FN Motol

Jiřina Hadravová

Nová antitrombotika a laboratorní testy
ke sledování jejich účinku

Bakalářská práce

Praha 2014

Autor práce: Jiřina Hadravová

Vedoucí práce: RNDr. Iva Bártů, PhD.

Oponent práce: RNDr. Jana Neupauerová

Datum obhajoby: 28.5.2014

Anotace

Tato práce se zabývá porovnáním nových antitrombotik se stávajícími běžně užívanými léky. Teoretická část popisuje jednotlivé léky, jejich vlastnosti, indikace, výhody a nevýhody. Práce se zabývá také porovnáním nutnosti rutinního laboratorního monitorování jednotlivých léků.

Praktická část této práce popisuje metody pro stanovení stávajících i nových léků a vzájemně je porovnává. Práce obsahuje také výsledky měření nových antitrombotik jednotlivými metodami stanovení. Porovnala jsem naměřené výsledky běžně užívaných metod s metodami určenými přímo pro stanovení nových antitrombotik a vyhodnotila, které běžné metody lze pro orientační hodnocení nových přípravků použít. Vzorčky pacientů užívajících antikoagulační léčbu i zdravých osob poskytlo Oddělení klinické hematologie fakultní nemocnice Motol v Praze.

Klíčová slova

Antikoagulační léčba, nová antitrombotika, dabigatran, rivaroxaban, laboratorní testování, monitorace

Annotation

This bachelor work follows up the comparison of new antithrombotics with the existing commonly used drugs. The theoretical part describes the individual drugs, their characteristics, indications, advantages and disadvantages. The work presents a comparison of the need for routine laboratory monitoring of individual drugs.

The practical part of this work describes methods for the determination of the existing and new drugs and compare them. The work contains the results of measurements of new antithrombotics by the individual methods of determination. I compared the measured results of the commonly used methods with methods designed directly for the determination of new antithrombotics and I evaluate which routine methods can be used to approximate assessment of new preparations. The samples from patients treated with anticoagulant therapy and healthy persons provided the Department of Clinical Hematology, University Hospital Motol in Prague.

Keywords

Anticoagulant therapy, new antithrombotics, dabigatran, rivaroxaban, laboratory testing, monitoring

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně pod vedením RNDr. Ivy Bártů, PhD., uvedla všechny použité literární a odborné zdroje a dodržovala zásady vědecké etiky. Dále prohlašuji, že stejná práce nebyla použita pro získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze

Jiřina Hadravová

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své vedoucí bakalářské práce RNDr. Ivě Bártů. PhD. za její trpělivost, ochotu a vstřícnost při konzultacích a cenné rady při zpracovávání této práce.

Obsah

OBSAH

SEZNAM ZKRATEK	9
ÚVOD.....	10
1. TEORETICKÁ ČÁST	12
1.1 ANTITROMBOTIKA	12
1.1.1 Antikoagulační léčba.....	12
1.1.2 Antiagregační léčba.....	14
1.1.3 Trombolytická léčba	15
1.2 WARFARIN.....	16
1.2.1 Indikace.....	17
1.2.2 Interakce s jinými přípravky	17
1.2.3 Kontraindikace	18
1.2.4 Dávkování	18
1.2.5 Nežádoucí účinky.....	19
1.2.6 Kontrola léčby.....	19
1.3 HEPARIN	20
1.3.1 Indikace.....	21
1.3.2 Interakce s jinými přípravky	21
1.3.3 Kontraindikace	21
1.3.4 Dávkování	22
1.3.5 Nežádoucí účinky.....	22
1.3.6 Kontrola léčby.....	23
1.3.7 Heparinem indukovaná trombocytopenie	23
1.4 NÍZKOMOLEKULÁRNÍ HEPARINY	23
1.4.1 Indikace.....	24
1.4.2 Interakce s jinými přípravky	25
1.4.3 Kontraindikace	25
1.4.4 Dávkování	25
1.4.5 Nežádoucí účinky.....	26
1.4.6 Kontrola léčby.....	26
1.5 PENTASACHARIDY	26
1.6 DABIGATRAN ETEXILÁT.....	27
1.6.1 Mechanismus účinku.....	28
1.6.2 Indikace.....	28
1.6.3 Interakce s jinými přípravky	28
1.6.4 Kontraindikace	29
1.6.5 Dávkování	30
1.6.6 Nežádoucí účinky.....	31
1.6.7 Kontrola léčby.....	32
1.7 RIVAROXABAN	33
1.7.1 Mechanismus účinku.....	34
1.7.2 Indikace.....	34
1.7.3 Interakce s jinými přípravky	34
1.7.4 Kontraindikace	35
1.7.5 Dávkování	35
1.7.6 Nežádoucí účinky.....	37
1.7.7 Kontrola léčby.....	37
1.8 APIXABAN	38
2. CÍLE PRÁCE	40
3. METODIKA	41
3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	41
3.1.1 Sysmex CA 7000	41
3.2 POUŽITÉ VZORKY PACIENTŮ	41

3.3	POUŽITÉ REAGENCIE	41
3.4	POUŽITÉ METODY	41
3.4.1	Protrombinový čas	41
3.4.1.1	Reagencie	42
3.4.1.2	Metoda	42
3.4.1.3	Interpretace výsledků	42
3.4.2	Aktivovaný parciální tromboplastinový čas	43
3.4.2.1	Reagencie	43
3.4.2.2	Metoda	43
3.4.2.3	Interpretace výsledků	43
3.4.3	Trombinový čas	44
3.4.3.1	Reagencie	44
3.4.3.2	Metoda	44
3.4.3.3	Interpretace výsledků	44
3.4.4	Hemoclot	44
3.4.4.1	Reagencie	44
3.4.4.2	Metoda	45
3.4.4.3	Interpretace výsledků	45
3.4.4.4	Postup měření dabigatranu	45
3.4.5	DiXa	45
3.4.5.1	Reagencie	46
3.4.5.2	Metoda	46
3.4.5.3	Interpretace výsledků	46
3.4.5.4	Postup měření rivaroxabanu	46
3.4.6	Biophen heparin	47
3.4.6.1	Reagencie	47
3.4.6.2	Metoda	47
3.4.6.3	Interpretace výsledků	47
4.	VÝSLEDKY	48
4.1	STANOVENÍ DABIGATRANU	48
4.2	STANOVENÍ RIVAROXABANU	50
4.3	DENNÍ BILANCE	52
5.	DISKUZE	54
	ZÁVĚR	57
	REFERENČNÍ SEZNAM	58
	SEZNAM PŘÍLOH	62
	PŘÍLOHY	63

SEZNAM ZKRATEK

ALT	alaninaminotrasferáza
aPTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
AST	aspartátaminotrasferáza
ASA	kyselina acetylsalicylová
AT III	antitrombin III
BCRP	breast cancer resistance protein
EF LK	ejekční frakce levé srdeční komory
FXa.	aktivovaný faktor X
GMT	gama-glutamyltrasferáza
HC	hemoclot
HC II	heparin kofaktor II
HIT	heparinem indukovaná trombocytopenie
INR	international normalised ratio
ISI	international sensitivity index
IU	international unit
LMWH	nízkomolekulární heparin
NSAID	non-steroidal anti-inflammatory drug
NYHA	New York Heart Association
PF4	destičkový faktor 4
PIVKA	protein induced by vitamin K absence
pNA	para-Nitroanilin
tPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
TT	trombinový čas
UFH	nefrakciováný heparin
VKA	antagonista vitamínu K

ÚVOD

Lidský organismus je vybaven autoregulačními systémy, které udržují stálost vnitřního prostředí. Jedním z nejdůležitějších je hemostáza. Hemostáza je soubor mechanismů, které vedou k zástavě krvácení při poranění cévní stěny a zabraňují spontánním krvácivým projevům. Aby nedošlo k nadměrnému srážení krve, které by mohlo způsobit komplikace, spouští se zároveň s hemostázou i systém fibrinolytický. Pro správné fungování organismu je velice důležité, aby mezi koagulačním a fibrinolytickým systémem vládla rovnováha. Narušení této rovnováhy může vyústit v krvácivý stav, nebo naopak ve stav trombofilní.

U jedinců, kteří mají vrozený či získaný sklon ke krvácení (pacienti s hemofilií A nebo B, von Willebrandovou chorobou, trombocytopenií, trombocytopatií a dalšími onemocněními), je obvykle nutný farmakologický zásah. Při problémech s nadměrnou krvácivostí se nejčastěji využívá substituční léčba (doplnění chybějícího koagulačního faktoru či krevních destiček) nebo se podávají antifibrinolytika.

U trombofilních stavů, ať už vrozených (Leidenská mutace, deficit antitrombinu III, proteinů C a S) či získaných (pooperační období, těhotenství, dlouhodobé znehybnění a další), je také obvykle nutný zásah, a to pomocí antikoagulačních přípravků. Po mnoho let byl lékem první volby nefrakcionovaný heparin (UFH). Pomocí něj dochází k aktivaci antitrombinu III, který pak inaktivuje trombin. Heparin ale vyžaduje parenterální podání a vykazuje velkou interindividuální variabilitu účinku. Z těchto důvodů je nutné jeho pravidelné laboratorní monitorování pomocí aPTT (aktivovaný parciální tromboplastinový čas). Druhým dlouho používaným lékem je warfarin, antagonist vitamínu K, který inhibuje aktivitu vitamín K dependentních koagulačních faktorů. Výhodou warfarinu je možnost perorálního podání. Nevýhodou, vzhledem k velkým rozdílům v senzitivitě na tento lék a četným lékovým interakcím, je nutnost pravidelné laboratorní kontroly pomocí Quickova testu (protrombinový čas). Později byly uvedeny na trh nízkomolekulární hepariny (LMWH) vzniklé frakcionací řetězce heparinu. Jejich mechanismus účinku je podobný jako u UFH, podávají se také parenterálně, jsou však bezpečnější a s menším počtem nežádoucích účinků. Díky výhodným vlastnostem LMWH odpadá nutnost jejich pravidelného laboratorního monitorování.

Z důvodu snahy prohloubit účinnost a bezpečnost a komfort pro pacienta (perorální podání bez nutnosti laboratorního monitorování) jsou stále hledány nové

preparáty. Výsledkem této snahy jsou nové léky pro klinické užívání – dabigatran etexilát, rivaroxaban a apixaban. Tyto léky mají rozdílný mechanismus působení. Dabigatran je přímým inhibitorem trombinu. Rivaroxaban a apixaban, tzv. xabany, jsou přímými inhibitory faktoru Xa. Mezi hlavní výhody těchto léků patří perorální podání, malý počet lékových interakcí, vysoká bezpečnost (široké terapeutické okno) a předvídatelná farmakokinetika. Tyto léky nevyžadují rutinní laboratorní monitorování pro sledování účinnosti a bezpečnosti. Nevýhodou těchto antitrombotik je neznalost specifického antidota.

1. Teoretická část

1.1 Antitrombotika

Základním smyslem antitrombotické léčby je inhibice tvorby trombinu a zabránění dalšímu šíření trombotických změn, prevence cévní mozkové příhody, plicní i systémové embolie a opakovaných žilních trombóz. [1] V dnešní době je snaha vyvinout nové léky, které by splňovaly kritéria tzv. ideálního antikoagulans. Takový lék by měl mít následující vlastnosti: rychlý a spolehlivý účinek, široká terapeutická šíře (účinný a přitom bezpečný s nízkým výskytem krvácivých příhod), možnost parenterální i perorální aplikace, bez nutnosti pravidelného monitorování, bez lékových či potravinových interakcí, možnost rychlého ukončení účinku (přítomnost antidota), vysoká specifita účinku v koagulační kaskádě, nízká interindividuální variabilita léčebné odpovědi, fixní dávka bez nutnosti složité titrace a také ekonomická dostupnost. [2, 3, 4] Tato kritéria však žádný ze známých léků nespĺňuje.

Antitrombotika můžeme rozdělit do několika skupin podle mechanismu působení:

1.1.1 Antikoagulační léčba

Jedná se v první řadě o inhibitory trombinu, které svým působením brání přeměně fibrinogenu na fibrin. Inhibitory trombinu dále dělíme na přímé, které působí na trombin přímo, a nepřímé, které ke svému antikoagulačnímu účinku vyžadují kofaktor. Nepřímé inhibitory aktivují antitrombin, takže se výrazně zvýší jeho afinita k trombinu a vytváří se komplexy antitrombin-trombin. Vzniklé komplexy jsou reverzibilní a inhibitor může být opět uvolněn a celá reakce se může opakovat. Mezi nepřímé inhibitory patří například hepariny. Kromě trombinu inhibují hepariny i další serinové proteázy koagulační kaskády, například faktor Xa. Dále mezi nepřímé inhibitory trombinu řadíme kumariny (antagonisté vitamínu K), které způsobují tvorbu neúčinných koagulačních faktorů (PIVKA – protein induced by vitamin K absence). Asi nejznámějším zástupcem kumarinových preparátů je warfarin.

Nevýhodou nepřímé inhibice trombinu je neschopnost inaktivace trombinu již navázaného na fibrin. To může mít nežádoucí následky v případě uvolnění trombinu z této vazby s následným hyperkoagulačním stavem. Z tohoto pohledu jsou tedy výhodnější přímé inhibitory trombinu, které jsou schopny inaktivovat i trombin

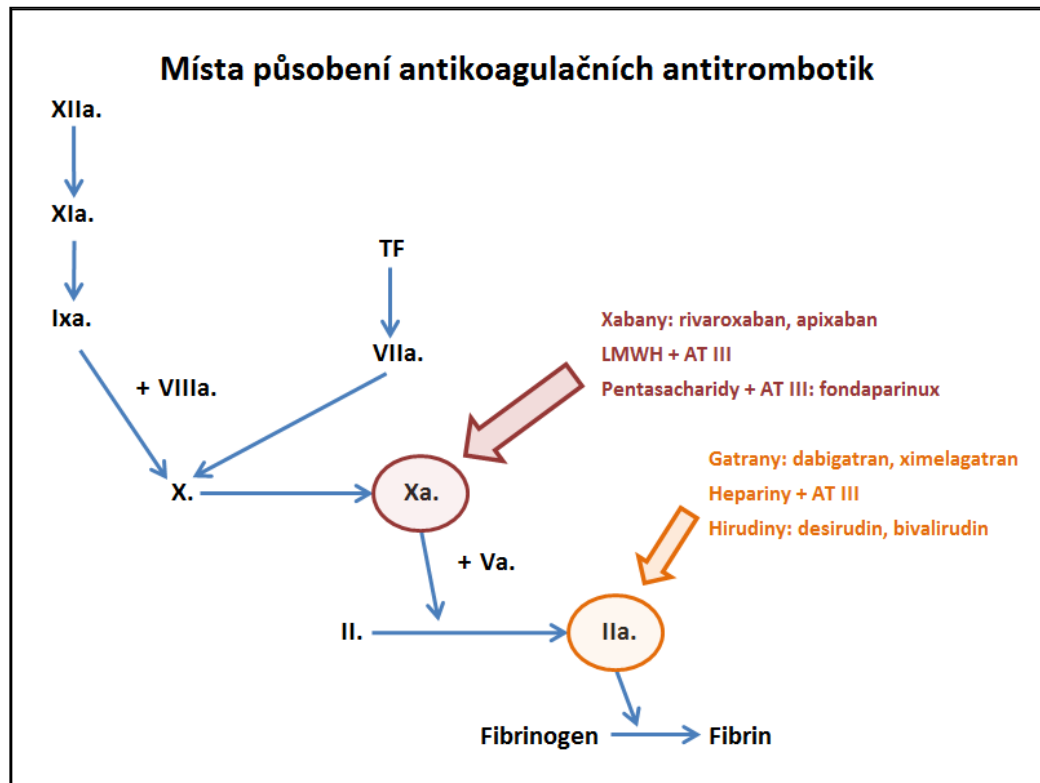
navázaný na fibrin. Mezi přímé inhibitory řadíme dlouho používaný hirudin a také novou skupinu gatranů. [3, 4, 5, 6, 7, 8]

Druhou podskupinou antikoagulačních antitrombotik jsou inhibitory aktivovaného faktoru X. Tyto léky brání účinku faktoru Xa., jehož působením by došlo k přeměně protrombinu na trombin. Jedna molekula FXa. aktivuje asi tisíc molekul trombinu. Z tohoto důvodu se jeví inhibice faktoru Xa. jako výhodnější, protože zablokováním jedné molekuly FXa. můžeme zamezit aktivaci tisíce molekul trombinu. Faktor Xa. je významným bodem spojujícím vnitřní a vnější cestu koagulační kaskády. Další výhodou blokování faktoru Xa. je skutečnost, že tento faktor má pouze prokoagulační funkci, na rozdíl od trombinu, který má navíc i funkci antitrombotickou a aktivuje antikoagulační proteiny C a S. Zablokovaný faktor Xa. tedy inhibuje aktivaci trombinu, jehož antitrombotická funkce ale zůstává zachována.

Inhibitory faktoru Xa. také dělíme na přímé a nepřímé. Přímé se vážou na FXa. přímo a díky malé molekule umožňují inhibici FXa. již navázaného v protrombinázovém komplexu, nepřímé, podobně jako nepřímé inhibitory trombinu, vyžadují vazbu na antitrombin.

Nevýhodou přímých inhibitorů FXa. je neznalost specifického antidota, nevýhodou nepřímých je nekompletní inhibice efektu protaminem (antidotum heparinu). Do skupiny nepřímých inhibitorů řadíme nízkomolekulární hepariny a pentasacharidy, mezi přímé patří skupina xabanů. Nezbytné je zdůraznit možnost selhání léčby nepřímými inhibitory trombinu nebo FXa. u osob s vrozenou či získanou deficiencí antitrombinu. [3, 4, 5, 7, 8]

Na obrázku 1 jsou znázorněna místa v koagulační kaskádě, kde jednotlivá antikoagulační antitrombotika působí.



Obrázek 1. Obrázek ukazuje místa působení antikoagulačních antitrombotik v koagulační kaskádě.

1.1.2 Antiagregační léčba

Antiagregační přípravky účinkují proti shlukování trombocytů a uvolňování vazokonstrikčních substancí. Vzhledem k alternativním cestám aktivace krevních destiček však dochází k omezení klinické účinnosti antiagregačních přípravků. [5, 9, 10] Protideštičkové léky lze také dělit podle mechanismu účinku do několika skupin. [6]

První skupinou jsou inhibitory fosfodiesterázy, kam patří dipyridamol, který se však často používá v kombinaci s acetylsalicylovou kyselinou (ASA).

Druhou skupinu tvoří inhibitory cyklooxygenáz, které jsou nejrozšířenějšími antiagregačními léky. Zástupci této skupiny jsou kyselina acetylsalicylová s ireverzibilním účinkem a indobufen s reverzibilním účinkem, který je v profylaxi trombózy účinnější než ASA, ale také mnohem dražší, a proto se využívá pouze ve zvláštních případech. Výhodou indobufenu je jeho krátké působení a rychlé vymizení účinku, kterého se využívá při plánovaných operacích. Je třeba zmínit interakci ASA s nesteroidními antirevmatiky (NSAID), jako je ibuprofen nebo naproxen, které lze ale správným načasováním podávání obou léků předejít. [6, 11, 12]

Během léčby ASA se může narazit na komplikaci v podobě tzv. aspirinové rezistence. Tak označujeme stav, kdy aspirin již není schopen zabránit tvorbě destičkových trombů, nedochází k prodloužení doby krvácivosti a ochraně pacientů před trombotickými komplikacemi. Tato rezistence může být dána geneticky nebo se může vyvinout během léčby. [13]

Třetí skupinu představují inhibitory receptorů pro ADP – thienopyridiny, ke kterým řadíme tiklopidin, klopidogrel a prasugrel. Thienopyridiny se využívají v případech nesnášenlivosti pacienta na léky na bázi kyseliny acetylsalicylové nebo při aspirinové rezistenci. Tiklopidin se většinou užívá pouze krátkodobě kvůli indukci leukopenie a hypercholesterolemie. Naproti tomu klopidogrel představuje bezpečnější variantu díky absenci negativního účinku na krvetvorbu. Ačkoliv má klopidogrel účinek srovnatelný s ASA, často je užíván v kombinaci s ní a dosahuje se tak nejlepších výsledků terapie. [6, 11]

Čtvrtou skupinou jsou inhibitory GP II_b III_a, které inhibují glykoproteiny GP II_b III_a, které po navázání fibrinogenu nebo von Willebrandova faktoru způsobují agregaci destiček. Dělí se na intravenózní a perorální. [6]

1.1.3 Trombolytická léčba

Cílem je obnova krevního zásobení a rozpuštění trombu po aktivaci fibrinolýzy. K tomu se využívají přímé a nepřímé aktivátory plazminogenu. Po aktivaci plazminogenu dochází k jeho přeměně na plazmin, který poté štěpí fibrin vázaný v trombech na degradační produkty fibrinu. [6, 14]

Mezi přímé aktivátory plazminogenu patří urokináza a tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA). Urokináza za normálního stavu vzniká v ledvinách a vylučuje se z těla močí. Vzhledem k tomu, že je tato látka tělu vlastní, nevyvolává alergické reakce jako jiná trombolytika. V praxi se ale běžně příliš nepoužívá. Kvůli své vysoké ceně je indikována pouze při nesnášenlivosti streptokinázy.

Dalším přímým aktivátorem je tkáňový aktivátor plazminogenu, který se získává rekombinantními technikami nebo z tkáňových kultur. Jeho výhodou je možnost opakovaného užívání, protože nehrozí riziko alergické reakce. Užívá se proto často v případech, kdy potřebujeme opakovanou trombolýzu, ke které však již nemůžeme použít streptokinázu. Jistou nevýhodou tPA je jeho velmi krátký poločas 5 minut. Proto je nutná kontinuální infúze po dobu 90 minut. [1, 6, 14]

Nepřímé aktivátory plazminogenu představuje již zmíněná streptokináza. Tato látka se získává z betahemolytických streptokoků izolací a následnou purifikací. Vzhledem k jejímu původu hrozí riziko alergických reakcí u pacientů. Tento protein je tělu cizí a indukuje u lidí produkci protilátek. Druhým problémem je skutečnost, že většina lidí již prodělala nějakou streptokokovou infekci a vytvořila si protilátky. To může způsobit jistou odolnost vůči terapii streptokinázou. Během léčby se doporučuje počkat 2 roky než je streptokináza opět podána. [1, 6, 14]

Ve výčtu antitrombotik je nutno zmínit i léčbu substituční. V tomto případě pacientovi dodáváme koncentráty antitrombinu nebo proteinu C. Tyto koncentráty získáváme frakcionací z lidské plazmy, nebo můžeme pacientovi podat přímo čerstvou zmraženou plazmu. [6]

1.2 Warfarin

Warfarin je antikoagulační látka, která brání syntéze vitamin K dependentních koagulačních faktorů. Jedná se o faktory II, VII, IX a X [6,15]. Warfarin inhibuje klíčové enzymy cyklu vitaminu K a tím je limitována karboxylace inaktivních koagulačních faktorů [16]. Karboxylace je důležitá pro vazbu vápníku koagulačními faktory, které využívají vápenaté ionty jako kofaktor. V terapeutických dávkách warfarin blokuje syntézu těchto faktorů o 30 až 50 % [15].

Po perorálním podání dosahuje warfarin maximální koncentrace v plazmě za 90 minut, nástup plného účinku pak nastává po 72-96 hodinách [3, 5, 15]. Biologická dostupnost je téměř stoprocentní. Warfarin se váže na plazmatický albumin, volná frakce se pohybuje mezi 0,5 až 3 % [6, 15]. Pokles plazmatických bílkovin, ke kterému dochází například při systémovém zánětu, průjmu nebo hladovění, vede ke zvýšené dostupnosti warfarinu a tím i zvýšení jeho účinku [17].

Warfarin je v podstatě směsí dvou rozdílných izomerů – R a S warfarinu. Tyto izomery se do jisté míry liší, S forma je přibližně čtyřikrát protisrážlivě účinnější než R forma [6], biologický poločas S formy je 18 až 35 hodin a R formy 20 až 70 hodin [15].

Užívání warfarinu má řadu omezení vzhledem k jeho úzkému terapeutickému oknu a nutnosti častého monitorování účinku s následnou úpravou dávkování a významným lékovým interakcím [2, 4].

1.2.1 Indikace

Podle Státního ústavu pro kontrolu léčiv [15] je podávání warfarinu indikováno zejména při léčbě a prevenci hluboké žilní trombózy a plicní embolie, dále jako sekundární prevence infarktu myokardu a prevence tromboembolických komplikací po infarktu myokardu. Také je užíván jako prevence tromboembolických komplikací u pacientů s fibrilací síní, onemocnění srdečních chlopní nebo s náhradou srdečních chlopní. V neposlední řadě je také užíván jako léčba a prevence transitorních ischemických atak a iktu. Léčbu warfarinem je vždy nutno začít se současným podáváním nízkomolekulárního heparinu [6, 16, 17].

Jak již bylo řečeno, nástup plného antikoagulačního účinku se dostavuje za 3 až 4 dny, během této doby by mohlo naopak dojít ke zvýšené trombofilii. Důvodem by mohlo být snížení aktivity přirozených inhibitorů koagulace proteinu C a S, které jsou také vitamin K dependentní a vzhledem k jejich krátkému biologickému poločas, dochází ke snížení jejich hladiny nejdříve [6, 17]. Současnou léčbu heparinem a warfarinem je nutno dodržovat alespoň 5 až 7 dnů, dokud se hodnota INR (international normalised ratio) nedrží na optimální úrovni minimálně po dva dny [15, 17].

1.2.2 Interakce s jinými přípravky

Senzitivita osob léčených warfarinem vykazuje velké interindividuální rozdíly. Warfarin, jakožto kumarinové antikoagulancium, se odbourává enzymatickým systémem cytochromu P450 [16]. A právě polymorfismy cytochromu P450 způsobují až 30 % rozdíly v senzitivě na tento preparát. Významné jsou také interakce léků, které ovlivňují aktivitu cytochromu P450 [6]. Účinek warfarinu mohou také měnit léky s vlivem na trombocyty a primární hemostázu, které mohou u pacienta navodit sklon ke krvácivým komplikacím [15]. Mezi léky zvyšující účinek warfarinu patří například kyselina acetylsalicylová, amiodaron, dioxin, paracetamol, tetracyklin a mnoho dalších [6, 15, 16]. Naopak snížení účinku vyvolávají léky jako barbituráty, karbamazepin, rifampicin, vitamin C a další [15, 16].

Vliv na účinek mohou mít i přírodní přípravky jako ginkgo biloba, papája či šalvěj, které jeho účinek zvyšují, nebo ženšen a přípravky z třezalky tečkované, které jeho účinek snižují [15].

Zesílení účinku warfarinu může také způsobit snížená absorpce vitamínu K např. u průjmových onemocnění. Naopak strava bohatá na vitamin K (zelená a listová

zelenina, maso) jeho účinek snižuje [15]. Z těchto důvodů je velice důležité dávky warfarinu individualizovat a terapii tímto preparátem laboratorně monitorovat.

1.2.3 Kontraindikace

Mezi kontraindikace podávání warfarinu podle Státního ústavu pro kontrolu léčiv [15] patří krvácivé stavy jako von Willebrandova nemoc, hemofilie, trombocytopenie, porucha funkce trombocytů, dále pak závažná jaterní insuficience či jaterní cirhóza a neléčená hypertenze. Kontraindikováno je též nedávné nitrolební krvácení, predispozice k nitrolebnímu krvácení, sklony k častým kolapsům vlivem neurologických nebo jiných zdravotních stavů. Dále také operace centrálního nervového systému nebo operace oka, predispozice ke gastrointestinálnímu krvácení nebo ke krvácení do močových cest.

Užívání warfarinu je kontraindikováno také u pacientů, u nichž není jisté pravidelné a správné dodržování léčby, ať už z důvodu demence, psychózy, alkoholismu či jiných podobných obtíží. U starších pacientů je před zahájením léčby nutné ověřit, zda jsou schopni dodržování léčby plnit.

Překážkou léčby je i hypersenzitivita na warfarin nebo některou pomocnou látku preparátu. Pacienti s rezistencí na warfarin pak potřebují 5 až 20 násobné dávky warfarinu, aby se dosáhlo požadované terapeutické odpovědi [15].

V neposlední řadě patří mezi kontraindikace těhotenství, warfarin prochází placentou a v případě jeho užívání v období organogeneze (tj. 6. až 12. týden) může způsobit warfarinovou embryopatii (mentální poruchy, nazální hypoplazii, poruchy epifýz). Kontraindikován je také v druhé polovině třetího trimestru kvůli nebezpečí vzniku fetální hemorhagie. Do mateřského mléka se warfarin nevylučuje, je tedy možno užívat jej během kojení. [15, 18]

1.2.4 Dávkování

Jak již bylo zmíněno výše, dávkování warfarinu je třeba upravit pro každého pacienta zvlášť podle hodnot INR. K laboratornímu monitorování se používá protrombinový test (Quickův test), při kterém se monitoruje zevní koagulační systém. Výhodou tohoto testu je jeho běžná dostupnost ve většině laboratoří. Cílové terapeutické rozmezí při léčbě warfarinem má hodnoty INR 2,0-3,0 a u pacientů s náhradou srdeční chlopně INR 2,5-3,5 [15].

Hodnota INR se měří denně do té doby, dokud není požadovaná hodnota stabilní, poté se intervaly mezi měřeními prodlužují, stanovení se provádí jednou týdně a následně jednou měsíčně. Všeobecně je prvních 6–12 týdnů po začátku léčby warfarinem spojeno s nejvyšším rizikem krvácivých komplikací, a proto je v této době důležité pacienty pravidelně kontrolovat [17].

Pokud pacient musí podstoupit operaci, stanovuje se hodnota INR týden před plánovaným chirurgickým výkonem, warfarin se pak vysazuje 1 až 5 dnů před operací v závislosti na naměřené hodnotě INR. Další stanovení se provádí ještě večer před operací a v případě vysokého INR (hodnoty $>1,8$) je možno podat 0,5 až 1 mg vitamínu K perorálně nebo intravenózně. V den operace se v případě potřeby podává nefrakcionovaný heparin či nízkomolekulární heparin. S jeho podáváním se pokračuje 5 až 7 dnů po operaci současně s obnovením léčby warfarinem. [15]

Při předávkování warfarinem stačí lék vysadit, pokud se jedná pouze o mírné nebo postupné předávkování. V případě požití nadměrné dávky léku najednou se pacientovi podává opakovaně aktivované uhlí a vitamín K intravenózně. Výplach žaludku se nedoporučuje [15].

1.2.5 Nežádoucí účinky

Nejčastějším nežádoucím účinkem léčby warfarinem je krvácení, jehož frekvence výskytu se pohybuje okolo 8 % ročně [15]. Za nejvýznamnější rizikové faktory jsou považovány vysoké hodnoty INR, vysoký věk nad 75 let a přidružená onemocnění. Podíl na krvácivých komplikacích mají také lékové interakce [16].

Při výskytu krvácení u pacienta je nutné omezit koagulační účinek warfarinu a to podáním vitamínu K, koncentráту koagulačního faktoru nebo čerstvé zmražené plazmy. Dalším relativně častým (1-10 %) nežádoucím účinkem terapie jsou gastrointestinální poruchy, jako je nauzea, zvracení nebo průjem [15].

1.2.6 Kontrola léčby

Ke sledování antikoagulačního účinku warfarinu se používá protrombinový čas. Tato metoda, známá jako Quickův test, sleduje aktivitu faktorů zevní a společné cesty koagulačního systému, tedy faktorů II, V, VII a X [5, 16]. Během testu se stanovuje rychlost tvorby koagula ve vzorku po přidání tkáňového tromboplastinu. Výsledky testu se vyjadřují převážně v hodnotách INR (international normalised ratio). Jedná se o poměr protrombinového času vyšetřovaného a kontrolního vzorku umocněný na ISI

(international sensitivity index) [5, 6]. Užívání warfarinu má za následek prodloužení protrombinového času a zvýšení hodnot INR.

1.3 Heparin

Nefrakcionovaný heparin (UFH) se v praxi používá jako protisrážlivý prostředek již více než 60 let [19]. Jak již bylo zmíněno, jedná se o nepřímý inhibitor trombinu, který je jako kofaktor využíván AT III nebo HC II (heparin kofaktor II). Má rovněž vliv na agregaci destiček. Nefrakcionovaný heparin je v podstatě heterogenní směs mukopolysacharidů o průměrné molekulové hmotnosti 15 000 daltonů [20]. Pro terapeutické využití se vyrábí z různých zvířecích sliznic, například ze střev a plic veprů. Fyziologicky se však nachází i v lidském organismu, je tvořen žírnými buňkami a tento se pak nazývá endogenní heparin [6]. Vyskytuje se hlavně v játrech, plicích, mukóze tenkého střeva a také v krevních bazofilech [6, 19].

K rychlé neutralizaci heparinu v krvi se používá jeho antidotum protamin (protaminsulfát nebo protaminchlorhydrát). Této rychlé reakce se využívá zejména při předávkování heparinem, dále pak pro eliminaci heparinu po skončení mimotělního oběhu nebo po hemodialýze [6].

Heparin se podává injekčně, při intravenózním podání účinkuje okamžitě, při subkutánním podání nastupuje účinek za 20 až 60 minut. Intramuskulární podání se nedoporučuje, z důvodu nebezpečí vzniku hematomů v místě vpichu.

Váže se na plasmatické bílkoviny, jako je destičkový faktor 4 (PF4) či von Willebrandův faktor, tato vazba je ale u každého člověka značně rozdílná. Vykazuje tedy velkou interindividuální variabilitu a jeho účinek lze proto obtížně předvídat. [20, 21] Z tohoto důvodu je nutné pravidelné monitorování účinku pomocí aPTT (aktivovaný parciální tromboplastinový čas).

Za antikoagulační aktivitu heparinu odpovídají jen části jeho molekuly. Pouze jedna třetina heparinu obsahuje sacharidovou sekvenci, která má schopnost vazby na antitrombin [19]. U komerčně vyráběného heparinu pak koncentrace a zastoupení jednotlivých složek molekuly může mít vliv na jeho účinek [6].

Biologický poločas se mírně liší podle způsobu podání, heparin intravenózně má poločas přibližně 1 hodinu, naproti tomu u subkutánního podání až 2 hodiny. Vylučován je pomocí ledvin.

Heparin neprochází placentární bariérou, jeho užívání tak není spojeno s výskytem vrozených vývojových vad. Nepřechází ani do mateřského mléka, mohou ho tedy užívat těhotné i kojící ženy. [18, 21]

1.3.1 Indikace

Podávání nefrakciovaného heparinu je indikováno jako prevence a terapie hlubokých žilních trombóz a tromboembolií, embolizace plic, u některých forem disseminované intravaskulární koagulopatie. Bývá také užíván na začátku antikoagulační léčby perorálními antikoagulanciemi. Užívá se také v kombinaci s krátkce působícími trombolitiky a ASA u infarktu myokardu, nebo v kombinaci s jinými protidestičkovými léky u nestabilní anginy pectoris. Heparin se podává jako prevence srážení krve během dialýzy nebo jiných zákroků s mimotělním oběhem. [6, 21]

1.3.2 Interakce s jinými přípravky

Státní ústav pro kontrolu léčiv [21] udává, že vliv na účinek heparinu mají především perorální antikoagulancia (warfarin), látky ovlivňující agregaci trombocytů (ASA, ibuprofen, dipyridamol) a obecně léky s vlivem na hemokoagulaci (dextran, trombolytické enzymy). Všechny tyto látky zesilují účinek heparinu a zvyšují tak riziko krvácení. Může docházet také k ovlivnění hodnot jiných laboratorních markerů, jako je přechodné zvýšení aminotransferáz, snížení hodnot cholesterolu a zvýšení koncentrace glukózy.

1.3.3 Kontraindikace

Kontraindikací v podávání heparinu může být krvácení, trombocytopenie, purpura či přecitlivělost na heparin. Kontraindikován je také u pacientů, jimž hrozí riziko krvácení. Jedná se o pacienty s hemofilií, s žaludečními či dvanáctíkovými vředy, s jícnovými varixy či pacienty s těžkým poškozením jater nebo ledvin. Heparin je kontraindikován také při lumbální punkci a regionální blokádě anestetikem.

Heparin sice neprochází placentou, přesto při jeho podávání stoupá riziko spontánního potratu. Komplikace mohou nastat také během porodu, který může být předčasný či dojde k porodu mrtvého plodu. [21]

1.3.4 Dávkování

Jak bylo uvedeno výše, heparin je možno podávat intravenózně či subkutánně. K subkutánní aplikaci se přistupuje zejména při prevenci tromboembolických chorob. V tomto případě se podává 2–3krát denně 5 000 IU bez laboratorního monitorování. Intravenózní podávání heparinu se začíná podáním bolu 5 000–10 000 IU a pokračuje kontinuální infuzí roztoku s heparinem 18 IU na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu. Dávku přitom upravujeme podle výsledků laboratorních kontrol aPTT. [6, 21]

Při předávkování se heparin ihned vysadí, v případě rozsáhlejšího krvácení do vnitřních orgánů je pak třeba podat antidotum protaminsulfát. Ten rychle vyváže heparin, který ztratí svou schopnost inhibovat koagulaci. Dávka protaminu se volí podle množství heparinu, které je třeba neutralizovat. Vychází se tedy z poločasu eliminace heparinu a z doby uběhlé od jeho podání. [19, 21]

1.3.5 Nežádoucí účinky

Nejčastěji se vyskytuje krvácení, které může mít více příčin. Někteří pacienti mohou být citlivější a krvácejí i při dodržování terapeutického rozmezí. Krvácení se objevuje často u starších osob, u alkoholiků, u žen, u pacientů s ledvinovým selháním a pacientů se zvýšenou hladinou močoviny. Krvácení může být místní, například z čerstvých ran, vředů či nádorů, nebo krvácení kožní, ze sliznic, do serózních dutin, do nadledvin. Dalším nežádoucím účinkem je pokles antitrombinu. Tento pokles bývá způsobený jeho spotřebou a je nebezpečný hlavně u osob s poruchou tvorby antitrombinu [6].

Častým nežádoucím účinkem je heparinem indukovaná trombocytopenie (HIT), která se vyvíjí asi u 3 % pacientů léčených heparinem. Z tohoto důvodu je důležité u pacientů sledovat počet trombocytů a při vzniku trombocytopenie heparin ihned vysadit. [6, 21]

K dalším poměrně častým nežádoucím účinkům patří zvýšení volných mastných kyselin, vlivem lipolytického efektu heparinu, zvýšení transamináz a reakce v místě podání. Již méně často se objevuje osteoporóza. Ta vzniká při dlouhodobém podávání heparinu a je závislá i na velikosti podávané dávky přípravku. Vzácně se mohou objevit bolesti hlavy, nevolnost, zvracení, vzestup teploty, hyperkalémie. [6, 19, 21]

1.3.6 Kontrola léčby

Kontrola léčby heparinem se nejčastěji provádí pomocí testu aPTT. Při tomto testu se měří čas do vzniku fibrinové sraženiny v plazmě, která byla inkubována s kaolinem a fosfolipidy a aktivována ionty kalcia. Tato metoda sleduje funkci vnitřní (faktory XII, XI, IX, VIII) a společné (faktory X, V, II, I) cesty koagulační kaskády. Výsledky se vyjadřují v sekundách a porovnávají s kontrolní plazmou.

Další možností testování je stanovení trombinového času či doby srážlivosti podle Lee-Whitea, které se již ale rutinně neprovádí. Při účinné léčbě heparinem dochází k prodloužení doby testů 1,5-2krát oproti normě. [6]

1.3.7 Heparinem indukovaná trombocytopenie

Během užívání heparinu je významné riziko vzniku heparinem indukované trombocytopenie. Toto onemocnění se zpravidla vyvíjí 5–12 dnů po zahájení léčby. Pokud byl ale pacient během posledních měsíců heparinem nebo LMWH již léčen, může se onemocnění rozvinout dříve.

Rozlišuje se HIT I, což je lehká forma neimunitní trombocytopenie vyvolaná zřejmě v důsledku vazby heparinu na krevní destičky a HIT II, která je mnohem závažnější [19]. Tato trombocytopenie je vyvolaná tvorbou protilátek proti komplexu heparinu s destičkovým faktorem 4 (PF4). Protilátky se tvoří na základě dřívější léčby heparinem, nebo v důsledku dlouhodobé léčby. Cirkulující imunokomplexy se pak vážou na FC-receptory na povrchu trombocytů. To vede k vyššímu odstraňování trombocytů a následné trombocytopenii. [1, 6, 22] Protilátky navíc způsobují aglutinaci a agregaci destiček a reagují s endoteliemi a leukocyty, které následně uvolňují další prokoagulační látky [6]. Tím se rozvíjí trombóza a trombotické komplikace, tzv. syndrom bílého trombu. Charakteristický je výrazný pokles počtu trombocytů a to až na hodnoty kolem $50 \times 10^9/l$ [1]. Tento pokles může být náhlý nebo pozvolný, proto je důležité znát hladinu trombocytů před začátkem léčby a během léčby jejich hladinu pravidelně kontrolovat. Při rozvoji HIT je třeba ihned přerušit léčbu heparinem a dle situace zahájit léčbu jiným antitrombotikem a podat antiagregační látky. [6, 21]

1.4 Nízkomolekulární hepariny

Kvůli nepříliš výhodným vlastnostem nefrakcionovaného heparinu se dnes používají častěji hepariny nízkomolekulární. Vzhledem k faktu, že za antikoagulační aktivitu nefrakcionovaného heparinu odpovídá jen část jeho molekuly, ubíral se výzkum

směrem k izolaci této účinné struktury. Frakcionací UFH se tak získávají hepariny o nízké molekulové hmotnosti, která činí průměrně 5 000 daltonů. [6]

Možností přípravy LMWH je více. Je možno ji provádět celou řadou frakcionačních technik, například alkoholovou precipitací, frakcionací a depolymerizací, nebo depolymerizací s kyselinou dusičnou s následnou gelovou filtrací, nebo enzymatickou depolymerizací s heparinázou [23].

Kratší délka výsledných molekul přináší výhodnější vlastnosti LMWH oproti UFH. Významně inhibují FXa., zatímco ovlivnění trombinu je již menší. K ovlivnění trombinu je potřeba vazba trombinu s řetězcem o 18 a více sacharidových jednotkách, čehož většina molekul LMWH nedosahuje. Převažuje tak inhibice FXa., který působí v koagulační kaskádě dříve než trombin, díky tomu je antikoagulační účinek plynulejší. Zároveň je antikoagulační účinek méně výrazný, díky omezené inhibici trombinu, a riziko krvácení je tak menší. [22, 24]

Nízkomolekulární hepariny mají také nižší afinitu k plazmatickým bílkovinám a endoteliím, čímž se udržuje jejich plazmatická hladina na vyšší úrovni. To je výhodné pro odhad jejich antikoagulačního účinku a odstraňuje to nutnost laboratorního monitorování. Na rozdíl od UFH nedochází k interakci mezi LMWH a von Willebrandovým faktorem ani destičkovým faktorem 4. [23, 24]

LMWH se podávají subkutánně nejčastěji do kůže břicha či stehen. Při subkutánním podání mají biologickou dostupnost nad 90 % a delší biologický poločas. Díky tomu je možno LMWH podávat při profylaxi pouze jednou denně. [20]

Nízkomolekulární hepariny se vylučují pomocí ledvin, biologický poločas tedy závisí na renální clearance. Může proto docházet k prodloužení poločasu u pacientů s renálním selháním. [23]

Velkou výhodou LMWH je jistě jejich jednoduchá aplikace jednorázovými stříkačkami s odměřeným množstvím preparátu. Zamezuje to chybnému dávkování, kontaminaci či záměnám. Nízkomolekulární hepariny neprocházejí placentou a je možno je tedy užívat během těhotenství [18].

Příklady běžně užívaných nízkomolekulárních heparinů: Fraxiparine, Clexane, Fragmin.

1.4.1 Indikace

Užívání LMWH je indikováno jako prevence a léčba tromboembolické nemoci, dále jako prevence peri- a pooperační flebotrombózy, léčba hluboké žilní trombózy,

plicní embolie. Užívají se také jako prevence trombózy během mimotělního oběhu. Indikovány jsou též jako léčba nestabilní anginy pectoris a nonQ infarktu myokardu, kdy se současně podává kyselina acetylsalicylová, a jako léčba akutního infarktu myokardu s ST elevací. LMWH se též využívá k zajištění antitrombotické léčby během těhotenství. [6, 8]

1.4.2 Interakce s jinými přípravky

Během užívání LMWH se nedoporučuje užívat kyselinu acetylsalicylovou, nesteroidní antirevmatika, antiagregancia. Všechny tyto léky v kombinaci s LMWH mohou zvyšovat riziko krvácení. V případě nutnosti užívání takovýchto léků současně je nezbytné pacienta klinicky i laboratorně monitorovat. [25, 26]

1.4.3 Kontraindikace

Užívání LMWH je kontraindikováno při přecitlivělosti na některou účinnou či pomocnou látku preparátu, při krvácení nebo zvýšeném riziku krvácení, které souvisí s poruchami krevní srážlivosti. Kontraindikací je též aktivní žaludeční nebo duodenální vřed, cévní mozková příhoda s krvácením a akutní bakteriální endokarditida. V neposlední řadě není užívání LMWH indikováno u pacientů, u kterých se rozvinula trombocytopenie po předchozím užívání přípravku. [25, 26]

1.4.4 Dávkování

Při prevenci se podávají LMWH 1x denně, během léčby 2x denně dávka, která se může lišit v závislosti na použitém preparátu. Jednotlivé LMWH se liší svými fyzikálními i chemickými vlastnostmi a mají různou biologickou aktivitu. Dávky se také musí přizpůsobit hmotnosti pacienta. [20, 23]

V profylaxi pooperační žilní trombózy se u pacientů s nižším rizikem podává dvě hodiny před operací subkutánně 2 500 IU, u pacientů s vyšším rizikem se podává dvanáct hodin před operací 5 000 IU subkutánně. A v tomto dávkování 1x denně se pokračuje 7 až 10 dní po operaci, nebo do doby mobilizace pacienta. [6, 23]

Při předávkování LMWH je možné podat protamin, který však neutralizuje pouze přibližně 60 % aktivity preparátu. Na malé molekuly se protamin váže pouze omezeně, navíc se jednotlivé LMWH značně liší v odpovědi na neutralizaci protaminem. [19] I přes omezený účinek se však podání protaminu doporučuje a to v dávce 1 mg na 100 IU LMWH, který byl podán v posledních 8 hodinách [22].

V kritických stavech se však většinou přistupuje k podání nefrakcionovaného heparinu, kvůli možnosti jeho rychlé eliminace. LMWH se pak využívá u již kompenzovaných stavů. Zároveň se LMWH nepodávají u šokových stavů, kdy je resorpce z podkoží značně omezena. [6]

1.4.5 Nežádoucí účinky

Nežádoucí účinky nízkomolekulárních heparinů jsou obdobné jako u heparinu nefrakcionovaného, ale jejich výskyt je méně častý. Jedním z nich je krvácení a krvácivé komplikace, které se častěji vyskytují u pacientů s dalšími rizikovými faktory, zejména se současnou léčbou jiným druhem antitrombotika. Rozvinout se může také HIT. Poměrně často dochází ke zvýšení transamináz, k různým alergickým reakcím, kopřivce, svědění. Často se rovněž objevují reakce v místě vpichu, jako jsou hematomy, bolest či hypersenzitivita. [6, 22, 25, 26]

1.4.6 Kontrola léčby

Za běžných okolností a při dodržení pokynů výrobce není laboratorní kontrola léčby LMWH nutná. Mohou však nastat situace, kdy je léčbu třeba kontrolovat a to například při renální insuficienci, kdy je nebezpečí kumulace léku v organismu. V graviditě naopak dochází ke zrychlení eliminace preparátu. U dětí je eliminace rozdílná než u dospělých. [22]

Vzhledem k faktu, že LMWH mají jen malý vliv na trombin, nedochází k ovlivnění výsledků aPTT či trombinového času (TT). Existují ale jiné alternativy stanovení a to například Heptest. Při preventivních dávkách by se hladina anti-FXa měla pohybovat v rozmezí 0,2-0,4 IU/ml a při léčbě v rozmezí 0,5-1,0 IU/ml citrátové plazmy. Odběr pro stanovení by měl být proveden 3-4 hodiny po subkutánní aplikaci LMWH. [6, 22, 23]

1.5 Pentasacharidy

Hepariny se na antitrombin vážou krátkými specifickými úseky a touto základní sekvencí jsou právě pentasacharidy. Jak již bylo zmíněno výše, tak k ovlivnění trombinu je třeba jeho vazba s řetězcem o délce minimálně 18 sacharidových jednotek. Tak krátký řetězec jako mají pentasacharidy proto nemá na trombin vliv, a tak po vazbě na antitrombin dochází pouze k inhibici faktoru Xa. [20] Po inhibici FXa. se molekula pentasacharidu může uvolnit a aktivovat další molekulu antitrombinu.

Pentasacharidy se podávají subkutánně a jejich biologická dostupnost je téměř 100 % s vrcholem plazmatické koncentrace za 2 hodiny [3]. Výhodou je také jejich biologický poločas 14-16 hodin při subkutánním podání, který umožňuje profylaktické i léčebné dávky pouze jednou denně.

U pentasacharidů prakticky nedochází k vazbě na plazmatické bílkoviny a v důsledku toho se nepředpokládají žádné lékové interakce způsobené vytěšňováním jinými přípravky. [27] Jelikož se jedná o čistě syntetické látky, riziko jakékoliv kontaminace přípravku viry či proteiny je prakticky nulové. [7]

Místem vylučování pentasacharidů jsou ledviny. Pentasacharidy nemají vliv na běžné koagulační testy jako je aPTT, nebo trombinový čas. Příkladem běžně užívaného pentasacharidu je fondaparinux.

1.6 Dabigatran etexilát

Dabigatran etexilát (přípravek Pradaxa) je v dnešní době jediný perorální přímý inhibitor trombinu. Inhibuje trombin volný i vázaný na fibrin, účinkuje tedy i uvnitř trombů. Podává se perorálně, z gastrointestinálního traktu je rychle absorbován a účinek tak nastupuje již za 30 až 60 minut. Maximální plazmatické koncentrace pak dosahuje za 1 až 2 hodiny po podání. [2] Plazmatický poločas 12 – 14 hodin umožňuje dávkování jednou až dvakrát denně. Při opakovaném podávání přípravku je ustáleného stavu dosaženo za tři dny. Po perorálním podání činí biologická dostupnost přibližně 6 %, vazba na plazmatické bílkoviny se pohybuje okolo 35 % [3, 28].

Dabigatran se vylučuje z 80 % ledvinami, zbytek je vylučován žlučí. Proto je třeba při renální nedostatečnosti snížit dávky nebo lék zcela vysadit. Toto rozhodnutí závisí na míře glomerulární filtrace. Pokud se pohybuje v rozmezí 30-50 ml/min stačí dávku snížit, při poklesu pod 30 ml/min je již třeba lék vysadit [28, 29, 30]. Je také vhodné před zahájením léčby zhodnotit funkci ledvin pomocí clearance kreatininu. V kontrole clearance by se mělo pokračovat i během léčby a to zejména u pacientů, u kterých se dá předpokládat zhoršení funkce ledvin. [2, 29]

Dabigatran není metabolizován systémem cytochromu P450, slouží ale jako substrát efluxní pumpy – glykoproteinu P. Z tohoto důvodu může dojít k výraznému zvýšení dostupnosti dabigatranu, pokud pacient dostává současně i inhibitory tohoto transportéru. Těmi jsou například amiodaron, azolová antimykotika, klaritromycin [28]. Ovlivněn ale může být i současnou léčbou induktory glykoproteinu P.

Jistou nevýhodou dabigatranu je neznalost specifického antidota. Tato nevýhoda je částečně eliminována krátkým poločasem tohoto přípravku a tak dochází k poměrně rychlému odeznění antikoagulačního účinku.

1.6.1 Mechanismus účinku

Dabigatran etexilát je proléčivo, které je třeba konvertovat cestou hydrolyzy za katalýzy esterázami na vlastní účinný dabigatran [4, 28]. Koncentrace esteráz je však ve střevech dostatečně vysoká, a proto nehrozí riziko snížené účinnosti léku [28]. Dabigatran inhibuje trombin volný, vázaný na fibrin i trombinem navozenou agregaci krevních destiček [31]. Díky tomu má schopnost potlačit růst trombu. Jakožto přímý inhibitor trombinu má oproti jeho nepřímým inhibitorům, jako je například heparin, řadu výhod. Patří mezi ně zachování činnosti i v přítomnosti trombů bohatých na destičky, protože nedochází k vazbě PF4 či von Willebrandova faktoru. Absence vazby s PF4 znamená, že při užívání tohoto přípravku nehrozí riziko HIT. Vzhledem k nízké vazbě na proteiny, je jeho účinek snadno předvídatelný. [32]

1.6.2 Indikace

Dabigatran etexilát je indikován jako prevence tromboembolických mozkových příhod a systémové embolizace u pacientů s nevalvulární fibrilací síní a prevence žilních tromboembolických příhod u pacientů, kteří podstoupili totální náhradu kyčelního či kolenního kloubu. [11, 29] Indikace léčby dabigatranem u fibrilace síní má jistá kritéria. Pro zahájení léčby musí pacient splňovat jeden nebo více rizikových faktorů, jako je cévní mozková příhoda, tranzitorní ischemická ataka či systémová embolie v anamnéze. Dalším rizikovým faktorem je EF LK (ejekční frakce levé srdeční komory) pod 40 %. Dále pak symptomatické srdeční selhání II. či vyšší třídy podle klasifikace NYHA (New York Heart Association). Mezi riziková kritéria patří i vysoký věk a to 75 let a více, či věk 65 let a více spojený s onemocněním diabetes mellitus nebo ischemickou chorobou srdeční nebo hypertenzí. [31]

1.6.3 Interakce s jinými přípravky

Vzhledem k antikoagulačnímu účinku dabigatranu, dochází ke zvýšení rizika krvácení při jeho užívání současně s jinými antikoagulancii (UFH, LMWH), trombolitiky či inhibitory agregace krevních destiček (ASA, prasugrel). Krátkodobé

podávání NSAID riziko krvácení nezvyšuje, zatímco dlouhodobé podávání zvyšuje toto riziko až o 50 % [33].

Dabigatran není metabolizován cestou cytochromu P450, a proto se neočekávají související lékové interakce [31]. Léčba dabigatranem však vyžaduje opatrnost při podávání inhibitorů nebo induktorů glykoproteinu P. Během podávání slabých až středně silných inhibitorů glykoproteinu P, jako je amiodaron, chinidin, klaritromycin či verapamil, dochází ke zvýšení plazmatické koncentrace dabigatranu, v případě verapamilu zvýšení až o 60-180 %, a je proto nutné pečlivé klinické sledování pacienta či případná úprava dávkování. Absolutně kontraindikováno je pak podávání silných inhibitorů, kterými jsou systémově podávaný ketokonazol, takrolimus, cyklosporin, dronedaron a itrakonazol. [11, 31, 33] Naproti tomu induktory glykoproteinu P (rifampicin, karbamazepin, fenytoin, třezalka tečkovaná) snižují plazmatickou koncentraci dabigatranu a doporučuje se vyhnout současné léčbě s těmito přípravky [31, 33].

Dabigatran je špatně rozpustný při pH vyšším jak 4, současné podávání s pantoprazolem, inhibitorem protonové pumpy, který zvyšuje žaludeční pH na neutrální hodnoty, vede ke snížení biologické dostupnosti dabigatranu [34].

1.6.4 Kontraindikace

Mezi kontraindikace v podávání dabigatranu patří, jako u jiných léků, přecitlivělost na léčivou látku či na látky pomocné. Podávání dabigatranu je též kontraindikováno u pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin, tedy s clearance kreatininu pod 30 ml/min [3, 31].

Dále pak aktivní krvácení či organické léze a stavy s vysokým rizikem krvácení, jako například nedávné poranění mozku nebo páteře, nedávný chirurgický výkon v oblasti mozku, páteře či oka, nedávné intrakraniální krvácení, přítomnost či podezření na jícnové varixy, cévní aneurysma a závažné intraspinální či intracerebrální cévní anomálie [33].

Kontraindikována je též současná léčba jinými antikoagulancii, ať už perorálními (warfarin, rivaroxaban, apixaban) či parenterálními (UFH, LMWH, fondaparinux). Výjimku tvoří pouze situace, kdy dochází k převodu léčby z nebo na dabigatran, nebo pokud je podáván nefrakcionovaný heparin z důvodu udržení průchodnosti centrálního žilního či arteriálního katétru [33].

Jak bylo již uvedeno výše, podávání je kontraindikováno při souběžné léčbě systémově podávaným ketokonazolem, takrolimem, cyklosporinem, dronedaronem a itrakonazolem [31]. U pacientů se závažnou poruchou funkce jater nebo závažným jaterním onemocněním nejsou žádné zkušenosti s léčbou dabigatranem a tudíž se jeho užívání nedoporučuje [33].

Množství informací o účincích dabigatranu na těhotenství, kojení a fertilitu je taktéž omezené. Z tohoto důvodu se nedoporučuje ženám ve fertilním věku, aby během užívání tohoto přípravku otěhotněly, dále je kontraindikován během těhotenství, pokud není jeho užívání nezbytně nutné. Kojení během léčby dabigatranem by mělo být přerušeno. Také u dětí a mladistvých do 18 let není užívání tohoto léku indikováno z důvodu nedostatku informací o bezpečnosti. [29, 33]

1.6.5 Dávkování

Doporučená je dávka 150 mg 2x denně, kdy dochází ke snížení rizika cévních mozkových příhod, systémové embolie, intrakraniálního, život ohrožujícího a celkového krvácení v porovnání s užíváním warfarinu. Pokud pacient užívá verapamil nebo je ve věku 80 let či vyšším, doporučuje se dávka 110 mg 2x denně. [2, 29] Dávkování jednou denně 300 mg nebo 220 mg je vhodné pro pacienty ve věku 75-80 let, pacienty s rizikem krvácení, se středně těžkou poruchou funkce ledvin (clearance kreatininu 30-50 ml/min), s gastritidou, ezofagitidou či gastroezofageálním refluxem. Volba vhodné dávky pak závisí na individuálním posouzení rizika krvácení či tromboembolie. [29, 31] V jistých případech se doporučuje dávku ještě více snížit a to na 150 mg jednou denně ve formě 2 tobolek po 75 mg [33].

Jak bylo řečeno výše, před zahájením léčby je třeba změřit clearance kreatininu a zhodnotit tak funkci ledvin. Pacienti s těžkou poruchou jejich funkce jsou z léčby vyloučeni, pacienti s lehčí poruchou a ve věku nad 75 let pak musí během léčby na kontrolu clearance kreatininu alespoň jednou ročně. Kontrola by se měla provést také v případě podezření na snížení funkce ledvin (dehydratace, hypovolémie, septické stavy, chirurgické výkony, souběžná léčba určitými léčivými přípravky). [31, 33] Na účinky dabigatranu nemá vliv tělesná hmotnost, pohlaví ani etnikum a není třeba žádné úpravy dávkování [31].

Pokud pacient přechází na parenterální antikoagulační léčbu, doporučuje se před jejím zahájením počkat 24 hodin po podání poslední dávky dabigatranu. V opačném případě, přechodu z parenterální léčby na dabigatran, se tento přípravek

podává 0-2 hodiny před časem, kdy měla být podána další dávka parenterálního léku, nebo v době přerušování podávání léku v případě kontinuální léčby (intravenózní UFH). [33]

U pacientů, kteří musí podstoupit chirurgické či jiné invazivní výkony, se musí antikoagulační léčba dabigatranem dočasně přerušit a to z důvodu zvýšeného rizika krvácení. Následně je vhodné antikoagulační účinek monitorovat, mohlo by dojít ke zpomalenému vylučování přípravku u pacientů s renální insuficiencí. Přerušování léčby se proto plánuje dle stavu funkce ledvin. [33] Po operaci se léčba zahajuje 1-4 hodiny po skončení operace, minimálně však 2 hodiny po vytažení epidurálního katétru [11].

Při předávkování dabigatranem se naráží na hlavní nevýhodu tohoto léku, nepřítomnost specifického antidota. V případě klinicky závažného krvácení či krvácivých komplikací se doporučuje okamžité přerušování léčby a vyhledání zdroje krvácení. Vzhledem k vysoké míře vylučování přípravku ledvinami, je třeba také zajistit dostatečnou diurézu. [29, 33] Je na úvaze ošetřujícího lékaře, zda použije další podpůrnou léčbu, jako například chirurgickou hemostázu, náhradu ztráty krevního objemu, či v případě závažného krvácení podání koncentrátů aktivovaného protrombinového komplexu, rekombinantního faktoru VIIa. či koncentrátů faktorů II, IX a X. [29, 33] Pokud došlo k užití nadměrného množství léku teprve nedávno, existuje možnost výplachu žaludku s živočišným uhlím [29]. Vazba dabigatranu na plazmatické bílkoviny je relativně nízká, a tak se dá také využít dialýzy [31]. Ve fázi klinického testování je monoklonální protilátka proti dabigatranu, která by mohla vyřešit absenci specifického antidota [29].

1.6.6 Nežádoucí účinky

Ve studiích prováděných s dabigatranem bylo nejčastějším nežádoucím účinkem léčby krvácení, které se objevilo přibližně u 14 % pacientů, avšak k závažnému krvácení došlo pouze ve 2 % případů [3, 33]. Různá krvácení jako kožní, gastrointestinální, rektální, krvácení z hemoroidů či urogenitální krvácení, se objevují spíše méně často [33].

Dále může docházet ke snížení koncentrace hemoglobinu, méně často pak k anémii a snížení hematokritu. Alergické reakce na tento přípravek bývají vzácné. Nepříliš časté jsou reakce jako průjem, zvracení či nauzea. [33] V některých studiích se uvádějí obtíže jako bolesti žaludku a břicha, dyspepsie a břišní dyskomfort jako

poměrně časté (s výskytem u 5-10 % pacientů). Při užívání přípravku s jídlem a po dostatečném zapití, by však tyto potíže měly odeznít. [31]

Poměrně často se objevují abnormální hodnoty jaterních funkcí a funkčních jaterních testů, může docházet ke zvýšení hodnot alaninaminotransferázy (ALT) a aspartátaminotransferázy (AST) [3, 33].

1.6.7 Kontrola léčby

Za běžných okolností není nutné léčbu dabigatranem laboratorně monitorovat, lék má dostatečně stabilní a předvídatelnou farmakokinetiku [11]. V jistých případech však je třeba hladinu léku stanovit. Zejména při podezření na předávkování, při výskytu závažného krvácení, nutnosti akutního chirurgického výkonu, pro identifikaci pacientů se zvýšeným rizikem krvácení v důsledku nadměrné antikoagulační aktivity dabigatranu, při renální insuficienci. [29, 31] Pro interpretaci výsledku testu je velmi důležité znát dobu odběru a dobu poslední dávky léku. Výsledky testu ze vzorku krve odebrané 2 hodiny po podání dabigatranu se značně liší od výsledků ze vzorku odebraného 8-12 hodin po poslední dávce léku. [2, 30]

Základním a běžně dostupným testem je stanovení aPTT. Toto stanovení je však pouze orientační, není totiž dostatečně citlivé a to zejména při vysokých koncentracích dabigatranu. [29] I přes to může být toto stanovení užitečné pro určování nadměrné antikoagulační aktivity [30]. K prodloužení aPTT dochází se zvyšující se koncentrací dabigatranu v plazmě. Prodloužení nad 80 sekund či nad dvojnásobek horní hranice normálních hodnot v čase minimální koncentrace dabigatranu, tedy v době kdy má být podána další dávka přípravku, při dávkování 150 mg 2x denně je spojováno se zvýšeným rizikem krvácení [2, 31]. Při stejném dávkování a rovněž v době minimální koncentrace je žádoucí prodloužení aPTT asi 1,5x, které představuje očekávanou úroveň antikoagulace [2].

Stanovení protrombinového času není dostatečně citlivé, hodnoty INR mohou být falešně pozitivní a užívání PT se nedoporučuje. [2, 31] Vliv dabigatranu na PT je pouze malý. [30]

Stanovení trombinového času přímo ukazuje aktivitu trombinu ve vzorku. Toto stanovení patří mezi běžně dostupné. Nevýhodou pro běžné monitorování může být až příliš vysoká citlivost. Při vysokých koncentracích dabigatranu test často překračuje maximální dobu měření přístrojů. Vysoké citlivosti testu se však může využít

pro detekci velmi nízkých koncentrací léku. Zároveň jsou normální hodnoty TT důkazem nepřítomnosti klinicky významného antikoagulačního účinku. [30, 31]

Nejpřesnějším testem pro stanovení hladiny dabigatranu je hemoclot – dilutovaný trombinový čas. Tento test umožňuje kvantitativní měření aktivity dabigatranu na základě inhibice konstantní definované koncentrace trombinu. [30] Koncentrace dabigatranu nad 200 ng/ml (přibližně > 65 sekund) při dávkování 150 mg 2x denně je spojována se zvýšeným rizikem krvácení [29, 31]. Normální hodnoty hemoclotu a aPTT svědčí o tom, že není přítomen klinicky významný antikoagulační účinek dabigatranu [2, 31].

1.7 Rivaroxaban

Rivaroxaban (přípravek Xarelto) je perorálně účinný, vysoce selektivní přímý inhibitor faktoru Xa. Inhibicí FXa. dochází k zablokování vnitřní i vnější cesty koagulační kaskády a tím je zablokován i trombin a nedochází k tvorbě trombů. Rivaroxaban však neinhibuje již aktivovaný FII (trombin) a nemá ani žádné účinky na krevní destičky. [35]

Po perorálním podání je rivaroxaban rychle absorbován s nástupem účinku kolem 30-60 minut a maximální koncentrace dosahuje za 2-4 hodiny. Plazmatický poločas se u osob ve středním věku pohybuje kolem 5-9 hodin, u seniorů je prodloužen na 11-13 hodin. Delší plazmatický poločas umožňuje dávkování léku jednou či dvakrát denně. [28, 35] Biologická dostupnost rivaroxabanu je vysoká (80-100 %) v dávce 10 mg a jídlo nijak neovlivňuje vstřebávání přípravku. Dávka 20 mg je spojena s nižší biologickou dostupností (66 %), avšak při podávání s jídlem se biologická dostupnost může zvyšovat. [35] Rivaroxaban se silně váže na bílkoviny a to až z 95 %, dominantně je vázán na albumin [11, 35, 36].

Třetina podaného léku je vyloučena ledvinami v nezměněné formě, třetina je metabolizována v játrech a následně vyloučena stolicí a zbývající třetina je po metabolizaci vyloučena ledvinami [35]. Vzhledem k nižšímu podílu vylučování přípravku ledvinami, než jako je tomu například u dabigatranu, je užívání rivaroxabanu kontraindikováno až při těžké poruše ledvin, tedy při hodnotách clearance kreatininu pod 15 ml/min [29].

Rivaroxaban je metabolizován prostřednictvím systémů CYP3A4 a CYP2J2 i mechanismy, které nejsou na CYP závislé. Zároveň slouží jako substrát transportních glykoproteinů - glykoproteinu P a BCRP (breast cancer resistance protein). [35, 36]

Stejně jako v případě dabigatranu, ani pro rivaroxaban není dosud známé žádné specifické antidotum.

1.7.1 Mechanismus účinku

Rivaroxaban je přímý selektivní inhibitor FXa., který inhibuje i FXa. navázaný v protrombinázovém komplexu. Tím se inhibuje přeměna protrombinu na trombin. Výhodou selektivní inhibice FXa. je, že zablokováním jedné molekuly FXa. se zabrání aktivaci tisíce molekul trombinu. Další výhodou FXa. a jeho inhibice je fakt, že na rozdíl od trombinu není FXa. zapojen do antitrombotického systému, který směřuje k aktivaci proteinů C a S. Blokádou FXa. tedy dojde k inhibici aktivace trombinu, ale jeho antitrombotická funkce zůstává stále zachována. [29]

1.7.2 Indikace

Mezi hlavní indikace užívání rivaroxabanu patří prevence tromboembolických příhod u pacientů podstupujících elektivní náhradu kyčelního či kolenního kloubu a prevence systémové embolizace u pacientů s nevalvulární fibrilací síní s jedním nebo více rizikovými faktory (městnavé srdeční selhání, hypertenze, věk pacienta 75 let a vyšší, diabetes mellitus, prodělaná cévní mozková příhoda či tranzitorní ischemická ataka. [28, 29, 36] Dále je rivaroxaban indikován v akutní léčbě hluboké žilní trombózy a plicní embolie a v následné prevenci recidivy těchto příhod [28, 35].

1.7.3 Interakce s jinými přípravky

Užívání rivaroxabanu se nedoporučuje pacientům, kteří užívají látky, které jsou silnými inhibitory CYP3A4 i glykoproteinu P. Jedná se například o azolová antimykotika (ketokonazol, itraconazol, vorikonazol, posakonazol) či inhibitory proteáz HIV (ritonavir). Současné užívání těchto léků a rivaroxabanu může zvyšovat plazmatické koncentrace rivaroxabanu a zvyšovat tak riziko krvácení. Nedoporučuje se také současné podávání s dronedaronem z důvodu omezených klinických zkušeností. [3, 35, 36]

V případě látek, které inhibují pouze jednu z metabolických cest rivaroxabanu, se jeho koncentrace zvyšuje méně. Příkladem takových látek je klaritromycin, erythromycin, flukonazol. Tyto léky způsobují nárůst hladiny rivaroxabanu, který ale není klinicky relevantní. [36] S opatrností však tyto léky musíme podávat u pacientů s renálním poškozením, kdy by mohlo dojít ke zvýšení koncentrace rivaroxabanu [35].

Při současném podávání rivaroxabanu se silnými induktory CYP3A4 (fenytoin, karbamazepin, fenobarbital, třezalka tečkovaná) může dojít k poklesu plazmatických koncentrací rivaroxabanu a tím i snížení jeho účinnosti. Proto je potřeba je podávat s opatrností. [3, 11, 36]

Jelikož je rivaroxaban antitrombotikum, je třeba jednat opatrně při současném podávání léků ovlivňujících koagulaci, jako jsou NSAID, kyselina acetylsalicylová, inhibitory agregace krevních destiček nebo jiná antitrombotika. [35, 36]

1.7.4 Kontraindikace

Kontraindikací k podávání rivaroxabanu je přecitlivělost na léčivou látku nebo na kteroukoliv pomocnou látku přípravku. Dále je kontraindikován při klinicky významném aktivním krvácení. Kontraindikovány jsou léze a stavy se zvýšeným rizikem závažného krvácení. Jedná se například o současné či nedávno prodělané ulcerace gastrointestinálního traktu, nedávno prodělané poranění mozku nebo míchy, operace mozku, míchy nebo oka, nedávno intrakraniální krvácení, maligní nádory s vysokým rizikem krvácení. Dále pak potvrzené jícnové varixy či podezření na ně, cévní aneurysma či významné cévní abnormality v míše a mozku. [36] Mezi kontraindikace patří také jaterním onemocnění, které je spojeno s koagulopatií a klinicky relevantním rizikem krvácení. [3, 35, 36]

Nedoporučuje se léčba rivaroxabanem při souběžném užívání antikoagulačních přípravků jako je UFH, LMWH, jiná perorální antikoagulancia (warfarin, dabigatran etexilát, apixaban). Výjimku tvoří situace, kdy pacient přechází z nebo na rivaroxaban nebo pokud je podáván UFH z důvodu udržení průchodnosti centrálního žilního nebo arteriálního katétru. [36]

Podávání rivaroxabanu v těhotenství a během kojení je kontraindikováno. Zároveň je doporučeno ženám ve fertilním věku, aby během užívání rivaroxabanu zabránily otěhotnění. Studie na zvířatech prokázaly, že rivaroxaban prochází placentou a má možný toxický účinek na plod, je také vylučován do mateřského mléka. [36]

1.7.5 Dávkování

Doporučená dávka rivaroxabanu je 10 mg jednou denně. První dávka se podává 6-10 hodin po operaci. Délka léčby je pak závislá na typu operace, tedy na typu rizika žilního tromboembolismu. U pacientů po náhradě kyčelního kloubu je doporučená délka podávání léku 5 týdnů, po náhradě kolenního kloubu 2 týdny. [3, 36] Dávkování není

závislé na věku, hmotnosti pacienta, pohlaví ani etniku. Podávání rivaroxabanu dětem ve věku 0-18 let se však nedoporučuje. [36]

V případě pacientů s mírnou renální nedostatečností, tedy clearance kreatininu v rozmezí 50-80 ml/min, není nutná žádná úprava dávky. S opatrností je nutno postupovat u pacientů se středně závažnou (clearance 30-49 ml/min) nebo závažnou (clearance 15-29 ml/min) renální nedostatečností. Užívání rivaroxabanu se nedoporučuje u pacientů s clearance kreatininu pod 15 ml/min. [35, 36]

Při převodu pacienta z antikoagulační léčby antagonisty vitamínu K na rivaroxaban, se VKA vysadí a léčba rivaroxabanem se zahájí při hladině INR $\leq 3,0$ (prevence cévní mozkové příhody a systémové embolizace) nebo při hladině INR $\leq 2,5$ (léčba hluboké žilní trombózy a plicní embolie a prevence jejich recidiv). [35] Po užití rivaroxabanu budou hladiny INR falešně zvýšeny.

Převod pacienta z rivaroxabanu na VKA může vyvolat neadekvátní antikoagulaci. Rivaroxaban může zvyšovat INR. Při převodu by měly být VKA podávány současně, dokud nebude hladina INR $\geq 2,0$.

Pokud pacient přechází z parenterálních antikoagulačních přípravků, měla by být léčba rivaroxabanem zahájena 0-2 hodiny před dalším plánovaným podáváním parenterálního antikoagulantia (například LMWH) či v době, kdy je vysazena kontinuální léčba parenterálním přípravkem (intravenózní UFH). [35, 36]

Při převodu pacienta z rivaroxabanu na parenterální antikoagulantium se první dávka parenterálního přípravku podává v době, kdy by měla být podána další dávka rivaroxabanu. [35, 36]

V případě, že pacient musí podstoupit invazivní proceduru či chirurgický zákrok, by se měl rivaroxaban vysadit minimálně 24 hodin před zákrokem. Pokud není možné zákrok odložit, je nutno posoudit riziko krvácení a míru neodkladnosti výkonu. Po chirurgickém zákroku či invazivní proceduře by pak léčba rivaroxabanem měla být zahájena co nejdříve. [35, 36]

Při předávkování se doporučuje podat živočišné uhlí, na které se lék dobře adsorbuje. Vzhledem k vysoké vazbě rivaroxabanu na plazmatické bílkoviny se neočekává možnost odstranění přípravku pomocí dialýzy, měla by však být účinná výměnná plazmaferéza. [11, 35]

1.7.6 Nežádoucí účinky

Během užívání rivaroxabanu se nejčastěji objevuje zvýšené riziko krvácení a to jak okultního tak zjevného z jakékoliv tkáně či orgánu. To může vést k rozvoji posthemoragické anémie. Anémie tak patří mezi často se vyskytující nežádoucí účinky. Často se také vyskytují závratě a bolesti hlavy, oční krvácení (včetně krvácení do spojivek), tachykardie, hypotenze, epistaxe a hemoptýza. Gastrointestinální poruchy jako krvácení z gastrointestinálního traktu (včetně rektálního krvácení), gastrointestinální a abdominální bolest, dyspepsie, neusea, zácpa, průjem a zvracení se vyskytují často. Alergické reakce, dermatitidy a kopřivka patří mezi méně časté nežádoucí účinky. Často se mohou vyskytovat urogenitální krvácení (včetně hematurie a menorhagie), méně často se objevuje poškození ledvin (včetně zvýšení hladiny kreatininu a močoviny v krvi). Mezi časté nežádoucí účinky pak také patří horečka, periferní edém, pokles celkové síly a energie (únava a tělesná slabost). Změny mohou nastat i v laboratorních hodnotách některých markerů. Zvýšená bývá hladina transamináz, bilirubinu, alkalické fosfatázy, lipázy, amylázy a GMT (gama-glutamyltransferáza). [35, 36]

1.7.7 Kontrola léčby

Léčba rivaroxabanem se za běžných okolností nemusí monitorovat. V případě, kdy je nutné sledovat ovlivnění koagulace, lze užít stanovení protrombinového času. Hodnoty PT jsou ovlivňovány úměrně k dávce rivaroxabanu. Musí se odečítat v sekundách, protože mezinárodní normalizovaný poměr (INR) je kalibrován a validován pouze pro kumariny, takže jej nelze použít pro sledování účinku jiných antikoagulancií. [35, 36] Pacienti, kteří podstoupili velkou ortopedickou operaci, měli hodnoty PT za 2-4 hodiny po poslední dávce (doba maximálního účinku) v rozsahu 13-25 s. Jejich výchozí hodnoty před operací se pohybovaly v rozmezí 12-15 s. [29, 36]

Stanovení aPTT, TT a HepTest se pro hodnocení účinků rivaroxabanu nehodí a jejich používání se nedoporučuje.

Hladiny rivaroxabanu lze měřit pomocí kalibrovaných kvantitativních testů anti-faktoru Xa. Jedním z takových testů je například test DiXa. Jedná se o chromogenní test pro stanovení přímých inhibitorů faktoru Xa., založený na inhibici konstantního a v nadbytku přidaného množství faktoru Xa. Podrobněji je tento test popsán v kapitole metodika. [29]

Pro stanovení účinku rivaroxabanu lze použít i test inhibice aktivovaného faktoru Xa., který se jinak používá pro kontrolu účinnosti heparinu, nebo terapeutické dávky LMWH. Výsledky u pacientů užívajících rivaroxaban však budou nabývat značně vyšších hodnot. [29]

1.8 Apixaban

Apixaban (přípravek Eliquis) je vysoce selektivní, reverzibilní, přímý inhibitor faktoru Xa. Inhibuje jak volný FXa., tak vázaný v protrombinázovém komplexu či v koagulu. Tím se zabraňuje druhotné aktivaci koagulace po rozpadu koagula. Dochází tak ke snížení tvorby trombinu, avšak aktivita již existujícího trombinu zůstává neovlivněna. Apixaban má vysokou selektivitu k FXa., která je až 30 000krát vyšší k FXa. než k ostatním koagulačním proteázám [37]. Apixaban ke svému působení nepotřebuje AT III, proto nehrozí při jeho užívání riziko selhání léčby v důsledku vrozené či získané deficience antitrombinu. [37]

Apixaban se podává perorálně a jeho biologická dostupnost je cca 50 %. Maximální koncentrace dosahuje za 3-4 hodiny, ustáleného stavu pak během tří dnů. Biologický poločas je 9-14 hodin. Vazba apixabanu na plazmatické bílkoviny je silná, pohybuje se kolem 87 %. [37] K eliminaci apixabanu dochází několika způsoby. Přibližně 25 % přijatého přípravku je přeměněno na metabolity a většina z nich je vyloučena stolicí. Renální exkrecí je vyloučeno přibližně 27 % léku, dále pak dochází k eliminaci prostřednictvím žluči. [37, 38]

Apixaban je převážně metabolizován prostřednictvím CYP3A4/5, méně pak CYP1A2 a CYP2J2. Tato skutečnost zvyšuje pravděpodobnost, že dojde k interakcím s jinými léky, které jsou induktory nebo inhibitory CYP3A4/5. Apixaban dále slouží jako substrát transportních proteinů, glykoproteinu P a proteinů breast cancer resistance protein. [37, 38] Proto není doporučeno podávat apixaban společně se silnými inhibitory CYP3A4 a glykoproteinu P. Mezi takové léky patří azolová antimykotika (ketokonazol, itraconazol, vorikonazol, posakonazol) nebo inhibitor HIV proteáz ritonavir. V případě silných induktorů CYP3A4 (rifampicin, fenytoin, karbamazepin) je třeba zvýšené opatrnosti, ale bez nutnosti úpravy dávkování. [37, 38]

V současné době je podávání apixabanu indikováno jako prevence žilních tromboembolických příhod u dospělých pacientů, kteří podstoupili elektivní náhradu kyčelního či kolenního kloubu. Dále je indikován jako prevence cévní mozkové příhody a systémové embolie u pacientů s nevalvulární fibrilací síní a s jedním či více

rizikovými faktory, kterými jsou cévní mozková příhoda nebo tranzitorní ischemická ataka, věk 75 let a vyšší, hypertenze, diabetes mellitus, symptomatické srdeční selhání (třída NYHA \geq II). [38]

Stejně jako v případě ostatních nových antitrombotik ani apixaban nevyžaduje rutinní laboratorní monitorování. V některých situacích je však potřeba jeho hladinu stanovit. Podávání tohoto přípravku prodlužuje aktivovaný parciální tromboplastinový čas, protrombinový čas, zvyšuje INR. Ovlivnění výsledků těchto metod je však značně variabilní a neodpovídá koncentracím apixabanu v plazmě. Z těchto důvodů se používání těchto testů nedoporučuje. Lepší korelaci výsledků s koncentrací apixabanu poskytují komerční anti-Xa soupravy, avšak i zde se výsledky mezi jednotlivými soupravami liší. [37]

2. Cíle práce

1. Porovnat nová antitrombotika se stávajícími přípravky, porovnat jejich vlastnosti, indikace, výhody a metody testování
2. Porovnat jednotlivé metody stanovení a zjistit, které jsou pro měření nových antitrombotik nejvhodnější na Oddělení klinické hematologie ve FN Motol

3. Metodika

3.1 Použité přístroje

3.1.1 Sysmex CA 7000

Koagulační analyzátor Sysmex CA 7000 provádí vyšetření koagulační, chromogenní a imunologickou metodou. Koagulační metoda měří změnu intenzity světla při vlnové délce 660 nm, způsobenou zákalem vzorku v důsledku tvorby fibrinu. Chromogenní metoda měří změnu absorbance při 405 nm, způsobenou uvolněním barevného substrátu. Imunologická metoda měří změnu absorbance při 575 nm nebo 800 nm, způsobenou tvorbou agregátu při reakci antigen-protilátka. [39]

3.2 Použité vzorky pacientů

Vzorky pacientů, užívajících testované léky, a vzorky osob bez antikoagulační léčby poskytl Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Motol. Měřila jsem 18 vzorků od pacientů užívajících dabigatran, 18 vzorků od pacientů užívajících rivaroxaban, dále 7 vzorků osob bez antikoagulační léčby při stanovení dabigatranu a 10 osob bez antikoagulační léčby při stanovení rivaroxabanu.

Ke stanovení jsem používala plazmu. Vzorky pacientů byly shromažďovány po dobu pěti měsíců. Uchovávány byly po alikvotech přibližně 250 μ l v popsáných zkumavkách typu eppendorf zmrazené při -80°C . Před vlastním měřením byly vzorky rozmrazeny v inkubátoru při 37°C a promíchány.

3.3 Použité reagensie

Pro stanovení PT jsem používala Neoplastine CL plus od firmy Stago. Ke stanovení aPTT jsem používala Cephent CL plus od firmy Hyphen BioMed. Pro stanovení TT jsem používala Trombin 100NIH/ml od firmy Helena Bioscience. Všechny reagensie pro stanovení HC, DiXa i Xarelto byly od firmy Hyphen BioMed.

3.4 Použité metody

3.4.1 Protrombinový čas

Protrombinový čas, neboli Quickův test, je stanovení, při kterém se měří rychlost tvorby koagula ve vzorku dekalifikované krevní plazmy po přidání tkáňového

tromboplastinu. Tento test ukazuje účinnost vnější a společné cesty koagulační kaskády. Jedná se tedy o faktory II, V, VII a X. [1]

3.4.1.1 Reagencie

Ke stanovení se používá patientská plazma chudá na destičky a kontrolní plazmy (lyofilizovaná reagencie od výrobce). Plazmu získáme odběrem žilní krve do zkumavky s obsahem 3,8 % citrátu, kdy je poměr citrátu a krve 1:9 a je uchována při pokojové teplotě. Plazma, která se uchovává při 4° C, může mít kratší PT v důsledku aktivace faktoru VII v chladu [1]. Dále se při stanovení používá tkáňový tromboplastin. Dříve se používal tromboplastin získaný z různých orgánů a různých živočišných druhů, v dnešní době je možno používat i rekombinantní tromboplastiny produkované v *Escherichia coli*. Poslední reagenty jsou vápenaté ionty. [1]

3.4.1.2 Metoda

Při manuálním provedení metody se k 0,1 ml plazmy umístěné ve zkumavce ve vodní lázni při 37° se přidá 0,1 ml tromboplastinu a po ohřátí směsi se přidá 0,1 ml ohřátých vápenatých iontů. Hned po jejich přidání se začne měřit čas do vytvoření koagula. Jinou možností provedení je přidání 0,2 ml tromboplastinu, který již obsahuje vápenaté ionty. Každý vzorek (kontrolu i vyšetřovaný vzorek) je nutné změřit minimálně dvakrát. [1]

Automatické analyzátory si sami odebírají přesné množství plazmy i ostatních reagentů a detekují vznik koagula buď opticky či mechanicky. Jejich výhodou je potřeba menšího množství vzorku (50 µl) i reagentů (100 µl).

3.4.1.3 Interpretace výsledků

Výsledky se vyjadřují buď jako průměr dvou měření v sekundách (to platí pouze pro manuální provedení metody, automatický analyzátor provádí pouze jedno měření), nebo v jednotkách INR. Jedná se o poměr protrombinového času vyšetřovaného vzorku a kontrolní plazmy umocněný na ISI. [1] Výsledky se udávají také v Ratio a v %.

K prodloužení PT může docházet při podávání perorálních antikoagulancií (např. VKA), u onemocnění jater, při nedostatku vitamínu K, při diseminované intravaskulární koagulaci, při nedostatku faktoru VII, X, V nebo nedostatku protrombinu [1].

3.4.2 Aktivovaný parciální tromboplastinový čas

Tento test se používá ke sledování vnitřní a společné cesty koagulační kaskády. Měří se čas do vytvoření fibrinového koagula v plazmě, po její inkubaci s kaolinem a fosfolipidy a následné aktivaci přidáním iontů kalcia. Kaolin zde funguje jako aktivátor, poskytuje povrch pro aktivaci faktoru XII kontaktem. [1]

3.4.2.1 Reagencie

Ke stanovení potřebujeme plazmu chudou na destičky, která se získává obdobně jako u protrombinového testu. Pro stanovení používáme vyšetřovanou a kontrolní plazmu. Druhou reagentií je kaolin, jako aktivátor však mohou být použity i jiné nerozpustné povrchově aktivní látky jako je například oxid křemičitý. Dále jsou třeba fosfolipidy. Zde je důležitá kombinace aktivátor-fosfolipid, která je citlivá na nedostatky faktorů VIII, IX a XI. Poslední reagentií jsou opět vápenaté ionty. [1]

3.4.2.2 Metoda

Při manuálním provedení této metody se smíchá stejné množství fosfolipidů a kaolinu ve zkumavce a nechá se vytemperovat ve vodní lázni na 37°C. Do vodní lázně se také vloží zkumavka s 0,1 ml plazmy. K plazmě se pak přidá 0,2 ml roztoku kaolinu a fosfolipidu a směs se inkubuje cca 10 minut ve vodní lázni. Poté se přidá 0,1 ml předehřátých vápenatých iontů a ihned se začne měřit čas do vytvoření fibrinové sraženiny. Test se provádí dvakrát ve vyšetřované i kontrolní plazmě. [1]

Většina automatických analyzátorů toto stanovení běžně provádí. Potřebná množství reagentií jsou opět značně nižší. K 50 µl vzorku je přidáno 50 µl reagentie a po inkubaci 3 minuty je přidáno 50 µl vápenatých iontů.

3.4.2.3 Interpretace výsledků

Výsledkem vyšetření je čas, za který se vytvoří fibrinové koagulum. Čas vyšetřovaného vzorku se pak porovnává s časem kontrolní plazmy. Výsledky testu jsou závislé na použitých činidlech a době preinkubace.

K prodloužení aPTT může docházet při diseminované intravaskulární koagulaci, onemocnění jater, hemofilii, při podání či kontaminaci heparinem nebo ostatními antikoagulancii, při deficitu koagulačních faktorů (kromě faktoru VII). [1]

3.4.3 Trombinový čas

Při tomto testu se vyřadí celá cesta aktivace koagulační kaskády a sleduje se pouze poslední fáze celé kaskády. Ke vzorku plazmy se přidává trombin a měří se čas, za který se fibrinogen přemění na fibrin. Výsledný čas testu je ovlivněn koncentrací fibrinogenu a přítomností inhibičních látek. [1]

3.4.3.1 Reagencie

Ke stanovení je potřeba plazma chudá na destičky od pacienta a plazma kontrolní. Postup získání plazmy je stejný jako u stanovení PT a aPTT. Druhou reagensií je roztok trombinu. Pro stanovení se používá komerční bovinní trombin. [1]

3.4.3.2 Metoda

Ke 200 μ l plazmy se přidá 100 μ l roztoku trombinu a ihned se začne měřit čas do vytvoření sraženiny. Celá reakce musí probíhat ve vodní lázni při 37°C. Tento test je také nutné provést dvakrát. [1]

Stejně jako u předchozích metod, i trombinový čas se běžně provádí v automatických analyzátoch.

3.4.3.3 Interpretace výsledků

Výsledky testu se vyjadřují v sekundách a porovnávají se s časem kontrolní plazmy.

K prodloužení času testu může dojít u hypofibrinogenémie, dysfibrinogenémie, při diseminované intravaskulární koagulaci (v důsledku přítomnosti fibrin-degradačních produktů), nebo při hypoalbuminémii nebo paraproteinémii. [1]

3.4.4 Hemoclot

Hemoclot (HC), neboli dilutovaný trombinový čas, je test pro stanovení přímých inhibitorů trombinu (například dabigatran) v plazmě, pomocí metody založené na inhibici konstantní definované koncentrace trombinu. [40]

3.4.4.1 Reagencie

Na vyšetření je potřeba plazma ze zkumavky s obsahem citrátu, která se ředí fyziologickým roztokem v poměru 1:8 nebo 1:20. Toto ředění však provádí automatický

analyzátor. Druhou reagensí je normální poolovaná lidská citrátová plazma. Poslední reagensí je vysoce čištěný lidský kalcium trombin. [30, 40]

3.4.4.2 Metoda

Nejprve se trombin předeheje na 37°C. Ředěná testovaná plazma (50 µl) se smíchá se 100 µl normální poolované plazmy. Po inkubaci 1 minutu se přidá 100 µl trombinu a stanovuje se čas do vzniku koagula, který je přímo úměrný koncentraci přímého inhibitoru trombinu ve vyšetřované plazmě. [40]

3.4.4.3 Interpretace výsledků

Výsledek vyšetření v sekundách se odečítá z kalibrační křivky a získá se tak koncentrace přímého inhibitoru trombinu (v našem případě dabigatranu), která odpovídá naměřenému času testované plazmy. U automatických analyzátorů je koncentrace rovnou odečítána z kalibrační křivky analyzátozem. [40]

3.4.4.4 Postup měření dabigatranu

Připravila jsem si kontroly C1 a C2. Rozpustila jsem je v 1 ml injekční vody, promíchala a nechala stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě. Poté jsem je přelila do plastových zkumavek. Připravila jsem si také kalibrátory CAL1, CAL2, CAL3. Rozpustila jsem je v 1 ml injekční vody, promíchala a nechala stabilizovat 30 minut při pokojové teplotě. Přelila jsem je do plastových zkumavek a ty jsem vložila do stojanu. Kalibrátory jsem zadala do systému, zvolila požadované metody a spustila analýzu. Nejdříve jsem změřila kalibrační plazmy a jejich hodnoty jsem zadala do kalibrační křivky. Poté jsem vložila do stojanu kontroly a vzorky, zadala je do systému, zvolila požadované metody a spustila analýzu. Naměřené hodnoty jsem si nechala vytisknout.

3.4.5 DiXa

Tento chromogenní test je určen pro kvantitativní stanovení přímých inhibitorů faktoru Xa. (například rivaroxaban) v plazmě. Jedná se o dvoustupňovou metodu, která je založená na inhibici konstantního a v nadbytku přidaného množství faktoru Xa. testovaným přímým inhibitorem faktoru Xa. s následnou hydrolýzou specifického substrátu zbylým faktorem Xa. Dochází k uvolnění pNA (para-Nitroanilin), jehož koncentrace je přímo úměrná aktivitě zbylého faktoru Xa. Většinou se využívá

při podezření na předávkování u pacientů léčených například rivaroxabanem. Není vhodný pro stanovení nepřímých inhibitorů faktoru Xa. [41]

3.4.5.1 Reagencie

Stanovení se provádí v lidské citrátové plazmě. Další reagentem je čištěný lidský faktor Xa. Dále FXa specifický substrát lyofilizovaný v přítomnosti mannitolu. Poslední reagentem je Tris-NaCl-EDTA reakční pufr s pH 7,85. [41]

3.4.5.2 Metoda

Nejprve automatický analyzátor musí vyšetřovaný vzorek naředit reakčním pufrem v poměru 1:20. Do zkumavek vytemperovaných na 37°C se napipetuje 200 µl ředěné plazmy a 200 µl předeřátého lidského faktoru Xa. Po promíchání a inkubaci 1 minutu se přidá předeřátý substrát (200 µl), opět se zkumavka promíchá a inkubuje 45 sekund při 37°C. Reakci je možno zastavit přidáním 200 µl kyseliny citronové nebo octové s následným měřením absorbance při 405 nm proti blanku, nebo lze metodu provést kineticky, kdy se absorbance měří od 10. do 35. sekundy po přidání substrátu. [41]

3.4.5.3 Interpretace výsledků

Výsledné hodnoty absorbance se vynesou na kalibrační křivku, ze které se pak odečtou koncentrace rivaroxabanu (v našem případě). Mezi koncentrací přímých inhibitorů faktoru Xa. a absorbancí je nepřímá závislost. Automatizované analyzátoři odečítají koncentrace z kalibrační křivky rovnou. [41]

3.4.5.4 Postup měření rivaroxabanu

Připravila jsem si kontroly C1 a C2, rozpustila jsem je v 1 ml injekční vody a nechala 30 minut stabilizovat při pokojové teplotě. Následně jsem je přelila do plastových zkumavek. Dále jsem si připravila kalibrátory CAL1, CAL2, CAL3. Rozpustila jsem je v 1 ml injekční vody, nechala 30 minut stabilizovat při pokojové teplotě a přelila do plastových zkumavek. Zkumavky jsem vložila do stojanu, zadala je do systému, zvolila požadované metody a spustila analýzu. Jako první jsem změřila kalibrační plazmy. Naměřené hodnoty jsem pak zadala do kalibrační křivky. Následně jsem vložila do stojanu kontroly a vzorky, zadala je do systému, zvolila požadované metody a spustila analýzu. Naměřené hodnoty jsem si nechala vytisknout.

3.4.6 Biophen heparin

Biophen heparin je metoda pro měření heparinu a heparinu podobných antikoagulačních látek, například rivaroxabanu. Jedná se o chromogenní kinetickou metodu, která je založená na inhibici konstantního množství faktoru Xa. testovaným heparinem, či jinou jemu podobnou látkou, v přítomnosti endogenního antitrombinu. Následně pak dochází k hydrolýze FXa. specifického substrátu zbylým faktorem Xa., se současným odštěpením pNA. Uvolněný pNA je pak stanovován fotometricky a jeho množství je úměrné zbytkové aktivitě faktoru Xa. Jedná se tedy o nepřímou úměru mezi koncentrací heparinu (či jemu podobné látky) a zbarvením roztoku. [42]

3.4.6.1 Reagencie

Stanovení se provádí v citrátové lidské plazmě. Při odběru krve je nutno postupovat velmi opatrně, z důvodu zabránění aktivace a uvolnění PF4, který je potenciálním inhibitorem heparinu. Druhou reagencí je chromogenní substrát specifický k faktoru Xa. Dále je ke stanovení potřeba bovinní faktor Xa. [42]

3.4.6.2 Metoda

Do zkumavky temperované na 37°C se napipetuje 50 µl neředěné vyšetřované plazmy, 50 µl fyziologického roztoku a 250 µl substrátu specifického pro FXa. vytemperovaného také na 37°C. Obsah zkumavky se promíchá a inkubuje 2 minuty. Poté se přidá vyhřátý faktor Xa. (250 µl), směs se opět zamíchá a inkubuje 60 sekund. Pak se reakce zastaví přidáním 350 µl kyseliny citrónové, směs se promíchá a změří se absorbance při 405 nm proti blanku. [42]

3.4.6.3 Interpretace výsledků

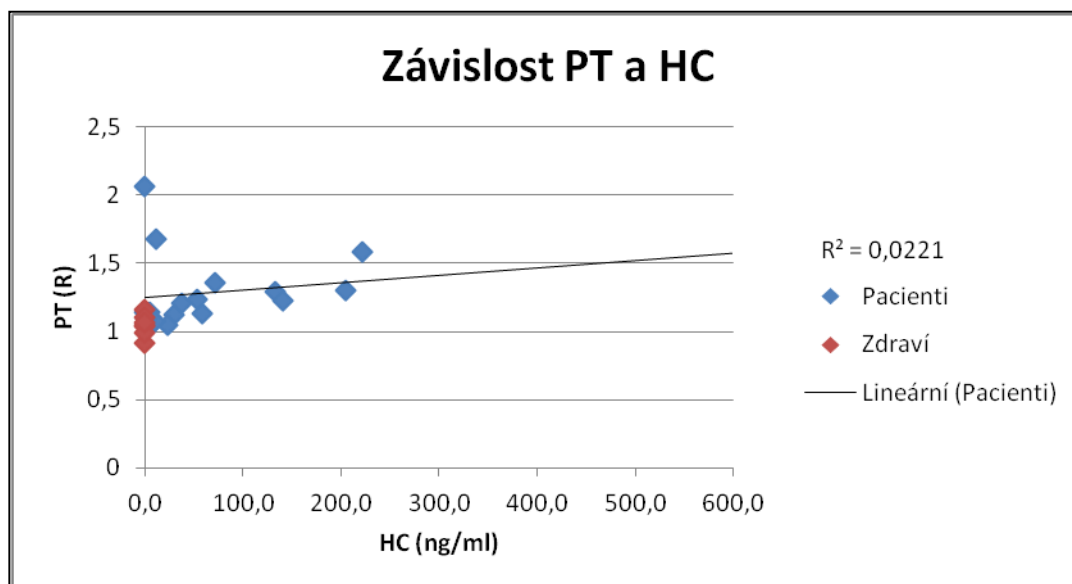
Výsledná koncentrace heparinu, nebo jemu podobné látce (rivaroxabanu), se odečítá z kalibrační křivky. Mezi naměřenou absorbancí a koncentrací heparinu (rivaroxabanu) je nepřímá úměra. [42]

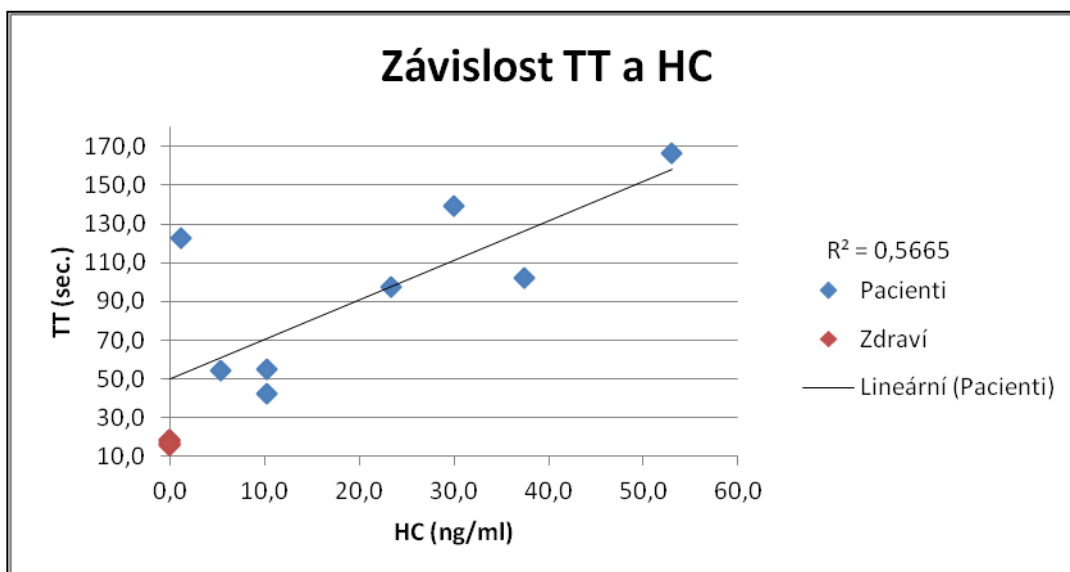
4. Výsledky

4.1 Stanovení dabigatranu

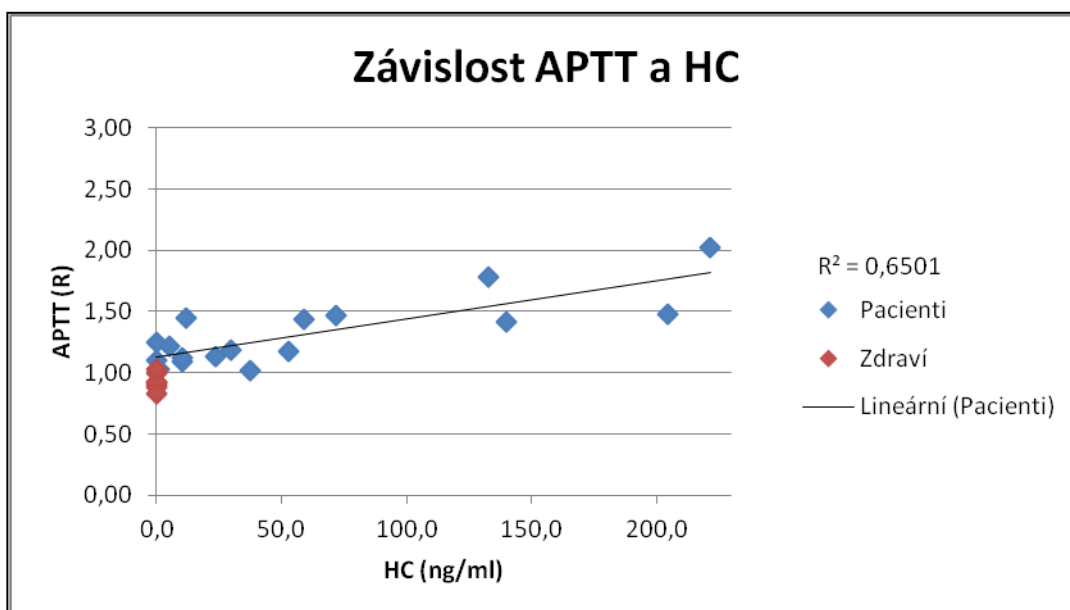
Stanovení dabigatranu jsem provedla u 25 vzorků plazmy na analyzátoru Sysmex CA 7000. Změřila jsem kalibrátory 1-3, ze kterých jsem poté vytvořila kalibrační křivku, dvě kontroly a vyšetřované vzorky pacientů s antikoagulační léčbou a zdravých osob. U kalibrátorů a kontrol jsem změřila pouze hodnotu hemoclotu, u vyšetřovaných vzorků jsem změřila hodnoty PT, aPTT, TT a HC. Výsledky všech měření jsou uvedeny v příloze č.1 a 2.

Následují grafy ukazující závislosti mezi jednotlivými metodami stanovení, ze kterých lze vypožorovat, zda jsou pro měření hladiny dabigatranu vhodné či nikoliv.





Obrázek 3. Graf znázorňuje závislost trombinového času a hemoclotu. Na ose x jsou hodnoty hemoclotu v ng/ml, na ose y hodnoty trombinového času v sekundách. Na grafu je viditelné, že TT je stále prodloužen a není proto dostatečně citlivou metodou pro stanovení dabigatranu

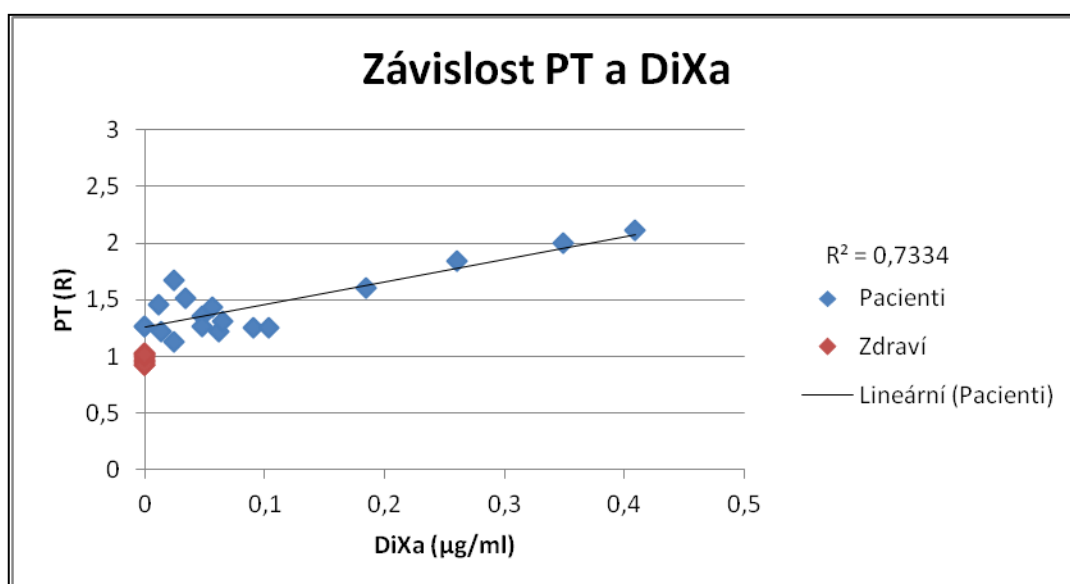


Obrázek 4. Graf znázorňuje závislost aktivovaného parciálního tromboplastinového času a hemoclotu. Na ose x jsou hodnoty hemoclotu v ng/ml, na ose y hodnoty aPTT v Ratio. Na tomto grafu je vidět, že aPTT se prodlužuje úměrně s prodloužením času hemoclotu a lze proto užít pro orientační stanovení koncentrace dabigatranu

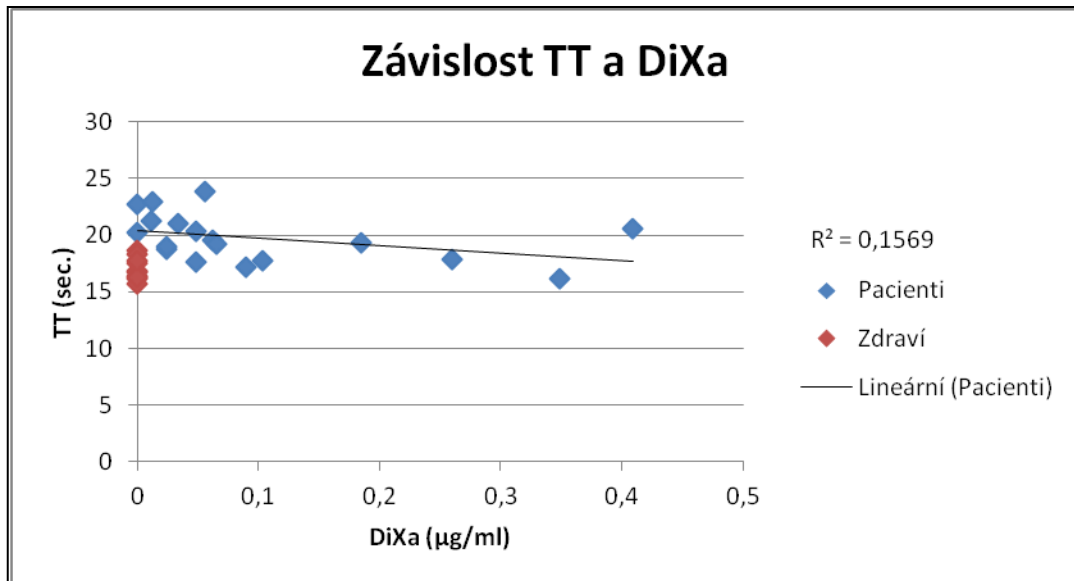
4.2 Stanovení rivaroxabanu

Stanovení rivaroxabanu jsem provedla u 28 vzorků plazmy na analyzátoru Sysmex CA 7000. Změřila jsem kalibrátory 1-3, ze kterých jsem následně vytvořila kalibrační křivku, dvě kontroly a vyšetřované vzorky pacientů s antikoagulační léčbou a zdravých osob. U kalibrátorů a kontrol jsem provedla pouze stanovení DiXa a Xarelto. U vyšetřovaných vzorků jsem provedla stanovení PT, aPTT, TT, DiXa a Xarelto. Výsledky všech měření jsou uvedeny v příloze č.3 a 4.

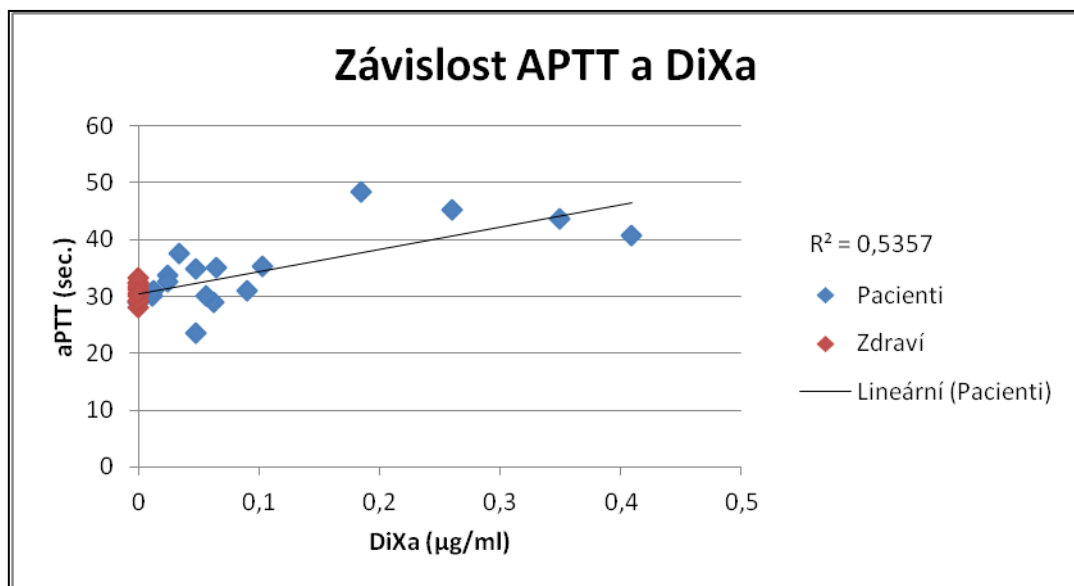
Následují grafy znázorňující závislosti mezi jednotlivými metodami stanovení, ze kterých lze vypožorovat, které metody jsou pro stanovení rivaroxabanu vhodné a které nikoliv.



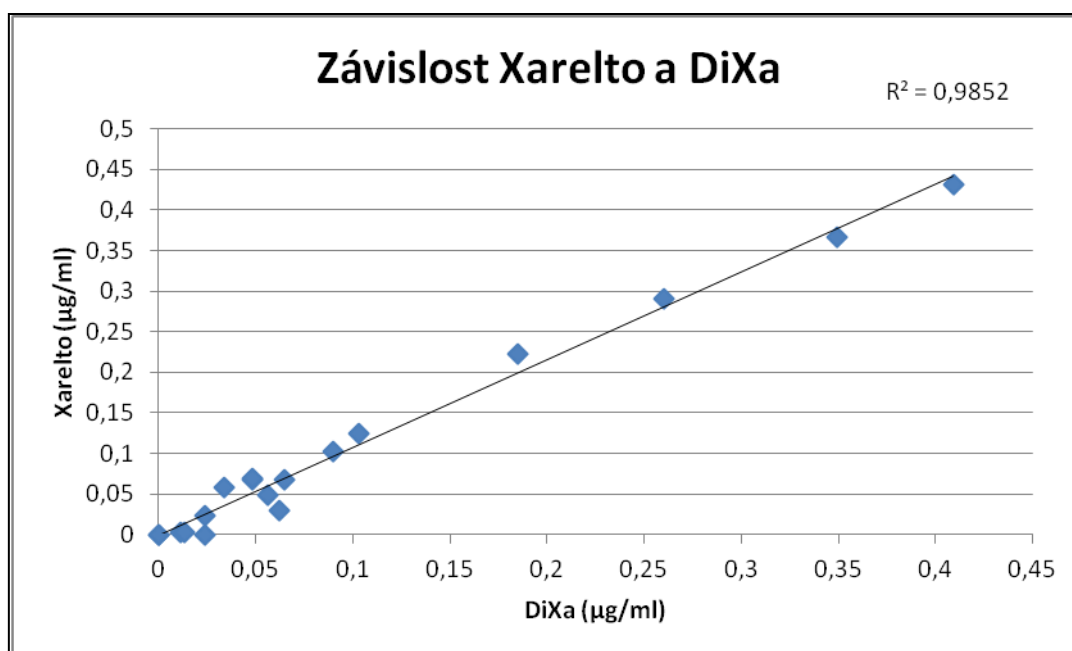
Obrázek 5. Graf ukazuje závislost protrombinového času a DiXa. Na ose x jsou hodnoty DiXa v µg/ml, na ose y jsou hodnoty protrombinového času v Ratio. Z grafu vyplývá, že hodnoty PT se mění úměrně hodnotám DiXa a stanovení PT tak lze použít pro orientační měření rivaroxabanu



Obrázek 6. Graf ukazuje závislost trombinového času a DiXa. Na ose x jsou hodnoty DiXa v µg/ml, na ose y jsou hodnoty trombinového času v sekundách. Na grafu je vidět, že stanovení TT se pro měření rivaroxabanu nehodí, protože jeho hodnoty zůstávají přibližně stejné, nedochází k významnému prodloužení času TT



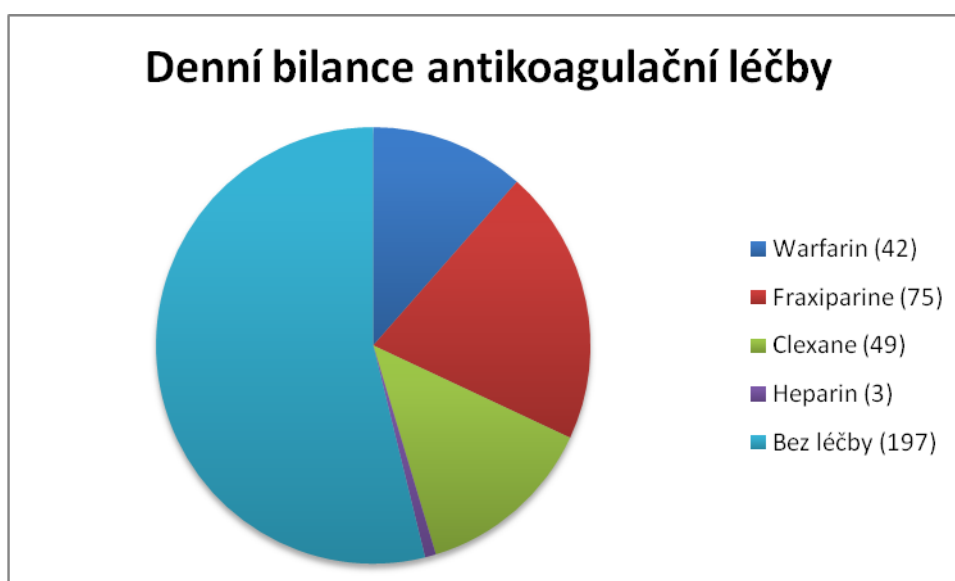
Obrázek 7. Graf ukazuje závislost aktivovaného parciálního tromboplastinového času a DiXa. Na ose x jsou hodnoty DiXa v µg/ml, na ose y jsou hodnoty aPTT v sekundách. Z grafu lze vyčíst, že hodnoty aPTT se nijak významně nemění v závislosti na DiXa a stanovení aPTT se proto pro měření rivaroxabanu nehodí



Obrázek 8. Na tomto grafu je korelace metody Xarelto a DiXa. Na ose x jsou hodnoty DiXa v µg/ml, na ose y jsou hodnoty Xarelto v µg/ml. Z výsledků grafu je jasně patrné, že obě metody spolu dobře korelují a obě lze použít k přesnému stanovení koncentrace rivaroxabanu ve vyšetřovaném vzorku

4.3 Denní bilance

Byly spočítány napsané léčby na žádankách, které dorazily v daný den na Oddělení klinické hematologie FN Motol. Jejich celkové množství bylo 366 žádanek. Z těchto žádanek byl vytvořen graf s rozdělením používané antikoagulační léčby.



Obrázek 9. Graf znázorňuje bilanci antikoagulační léčby u pacientů přijatých na vyšetření na Oddělení klinické hematologie ve FN Motol

Jak je vidět na grafu, pouze polovina přijatých vzorků byla od pacientů bez antikoagulační léčby. Čtvrtinu zastoupení měly léky Fraxiparine a Clexane patřící oba mezi nízkomolekulární hepariny, jejich užívání v praxi je tedy značně rozšířené. Warfarin tvoří $\pm 15\%$ grafu. Počet pacientů léčených nefrakcionovaným heparinem je pak v porovnání s ostatními velmi nízký. Z výsledků grafu si lze povšimnout, že v daný den nedorazil ani jeden vzorek na stanovení nových antitrombotik.

Všechny výsledky byly vyhodnoceny pomocí hodnoty spolehlivosti v programu Microsoft Excel.

5. Diskuze

Účelem této práce je porovnat nová antitrombotika se stávajícími léky. Warfarin a nefrakcionovaný heparin jsou v klinické praxi již dlouhá léta používané přípravky, stejně tak nízkomolekulární hepariny se používají mnoho let. Naproti tomu nová antitrombotika jsou na trhu jen několik let. Jejich indikace jsou oproti stávajícím antitrombotikám omezené. Značné omezení jejich užívání je způsobeno i faktem, že tyto léky nemohou předepisovat praktičtí lékaři.

Pokud porovnáme vlastnosti nových a stávajících antitrombotik, narazíme na mnoho benefitů, které léčba novými přípravky přináší. Jednou z jejich hlavních výhod je perorální podání, které je jistě vhodnější pro dlouhodobou léčbu (což antikoagulační terapie ve většině případů bývá) oproti parenterálně podávaným přípravkům. Další výhodou je jejich biologický poločas, který je dostatečně dlouhý, aby se přípravek mohl podávat jednou či dvakrát denně. Zároveň je však dostatečně krátký, aby po vysazení léku došlo k poměrně rychlé eliminaci přípravku. Mezi výhody nových léků patří také nízký počet lékových interakcí, které jsou například u warfarinu velmi četné.

Při porovnání vlastností nových antitrombotik se stávajícími nelze nezmínit, že u nových léků odpadá nutnost pravidelného monitorování. Tento fakt značně zvyšuje komfort pacienta a představuje velkou výhodu nových přípravků. Zde je ovšem důležitá spolupráce pacienta a dodržování léčby. Pokud se pacient řídí pokyny výrobce a nedochází u něj ke zhoršení zdravotního stavu (například renální selhání), není pravidelná monitorace účinku nových antitrombotik nutná. Problém může nastat, pokud dojde u pacienta ke snížení funkce ledvin. Dabigatran je vylučován z 80 % ledvinami a při renální insuficienci může dojít k jeho hromadění v organismu. Eliminace rivaroxabanu je u renálního selhání pouze mírně snížena, je vylučován ledvinami pouze z 66 %. Jistě důležitým faktem je nepřítomnost specifického antidota nových antitrombotik. Tato nevýhoda je částečně eliminována rychlým biologickým poločasem těchto přípravků a ve většině případů stačí pouze vysadit léčbu.

V porovnání nových a stávajících antitrombotik je nutné zmínit i ekonomickou stránku. Cena nových antitrombotik oproti běžně užívaným je mnohonásobně vyšší. V porovnání například s warfarinem, který patří mezi nejlevnější léky ze skupiny stávajících antitrombotik, je cena nových přípravků téměř 50krát vyšší. Z tohoto důvodu některé nemocnice nové léky nezavádějí. Při porovnávání cen antitrombotik je však

nutné zaměřit se i na ostatní hlediska. Je třeba zohlednit i cenu pravidelných laboratorních kontrol a vyšší výskyt hospitalizací pacientů. Jistou roli hraje i nižší kvalita života pacientů užívajících antagonisty vitamínu K, kvůli omezením způsobeným například potravinovými interakcemi, nehledě na nutnost pravidelných návštěv lékaře a odběrů krve. Z těchto důvodů je třeba porovnávat cenu antitrombotik komplexněji a ne jen z hlediska ceny samotného přípravku.

Vlastnosti jednotlivých antitrombotik lze porovnat s kritérii tzv. ideálního antikoagulans, které jsem zmiňovala na začátku této práce. Bohužel žádný z dnes dostupných léků nespĺňuje všechna tato kritéria, avšak léky ze skupiny nových antitrombotik se ideálnímu antikoagulans blíží.

V této práci jsem také porovnávala jednotlivé metody stanovení. Porovnávala jsem především v hematologii běžně užívané koagulační metody s metodami určenými přímo pro nová antitrombotika. Tyto specifické metody jsou relativně dražší než běžné metody, mají specifické reagenty a neprovádí se příliš často, vzhledem k nízkému počtu pacientů užívajících nová antitrombotika. Z těchto důvodů je vhodné znát závislosti výsledků běžných testů na výsledcích specifických metod, aby se dala posoudit využitelnost jednotlivých běžných testů pro stanovení nových antitrombotik.

Při porovnání výsledků protrombinového času a hemoclotu, které můžeme vidět na grafu (obrázek 2), je patrné, že hodnoty PT se v závislosti na HC nijak významně nemění a stanovení tak není dostatečně citlivé. Jak uvádí van Ryn [30], stanovení PT není vhodné jako primární stanovení míry antikoagulační aktivity dabigatranu.

Na dalším grafu (obrázek 3) můžeme vidět závislost trombinového času a hemoclotu. Ani stanovení TT není vhodné pro určení aktivity dabigatranu, metoda není dostatečně citlivá a trombinový čas je velmi prodloužen už v nižších dávkách léku. Jak již jsem uváděla v kapitole 1.6.7, tato metoda je naopak vhodná k detekci velmi nízkých koncentrací dabigatranu a při jejich normálních hodnotách je možné přítomnost léku vyloučit [30, 31].

Stanovení aPTT (obrázek 4) se jeví jako nejvhodnější z běžně užívaných metod. K prodloužení aPTT dochází se zvyšující se koncentrací dabigatranu a dá se tak použít pro orientační stanovení aktivity tohoto přípravku. Podle Kvasničky [29] je stanovení aPTT užitečné zejména k detekci nadměrné antikoagulační aktivity.

Z porovnání výsledků protrombinového času a DiXa (obrázek 5) vyplývá, že hodnoty PT se mění úměrně hodnotám DiXa a tedy i koncentraci rivaroxabanu, prodloužení PT tak koreluje s plazmatickými hladinami rivaroxabanu [43]. Tato metoda

tedy lze použít k orientačnímu stanovení antikoagulační aktivity rivaroxabanu. Při tomto stanovení ale záleží na druhu použité reagentie. Různé tromboplastiny jsou různě citlivé na rivaroxaban a nelze se ani řídit jejich ISI, které je nastaveno na pokles faktorů při léčbě warfarinem [44].

Na dalším grafu (obrázek 6) je vidět, že nedochází k významným změnám hodnot trombinového času a metoda tedy pro stanovení rivaroxabanu nelze použít. [29]

Obrázek 7 pak ukazuje závislost aPTT a diXa. Hodnoty aPTT se mění pouze málo a tato metoda rovněž nelze použít pro stanovení rivaroxabanu. [29]

Z grafu závislosti Xarelto a DiXa (obrázek 8) je jasně patrné, že obě metody jsou shodné a mohou se tak používat pro stanovení rivaroxabanu se stejnými výsledky.

Během zpracovávání této práce jsem narazila na problém s malým počtem vzorků. Již mnohokrát bylo zmíněno, že se jedná o zatím málo využívané léky. Oddělení klinické hematologie ve FN Motol nashromáždilo za přibližně pět měsíců pouze 18 vzorků pacientů užívajících dabigatran a 18 vzorků pacientů užívajících rivaroxaban. Vzorky pacientů užívajících apixaban byly za stejné časové období pouze tři. Oddělení klinické hematologie navíc pro stanovení apixabanu nemá zavedenou laboratorní metodu, a proto jsem měření s apixabanem neprováděla. Metoda pro stanovení apixabanu ani není běžně zaváděna v ostatních laboratořích. O nízké míře užívání těchto léků svědčí i denní bilance antikoagulační léčby náhodně provedená na Oddělení klinické hematologie FN Motol, obrázek 9. Polovina přijatých vzorků v daný den byla od pacientů bez antikoagulační léčby. Více než čtvrtinu pak tvořily vzorky pacientů na léčbě nízkomolekulárními hepariny, menší podíl pak vzorky pacientů léčených warfarinem. Počet pacientů užívajících nefrakcionovaný heparin byl velice nízký. Vzorek pacienta užívajícího kterékoliv nové antitrombotikum nebyl ani jeden.

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo porovnání nových antitrombotik se stávajícími běžně užívanými antitrombotiky. Porovnávala jsem zejména výhody a nevýhody těchto léků a nutnost laboratorního monitorování.

Nová antitrombotika mají oproti stávajícím lékům předvídatelnější farmakokinetiku, nižší počet lékových interakcí, vyšší bezpečnost a výhodu perorálního podávání. Zároveň nevyžadují rutinní laboratorní monitorování. Nevýhodou nových antitrombotik je neznalost specifického antidota a vyšší cena. Nová antitrombotika mají tedy mnoho výhod, avšak v této době pouze omezený počet indikací.

Pro sledování účinnosti a bezpečnosti dabigatranu se používá stanovení hemoclot, lze ale také použít běžně dostupné stanovení aPTT pro orientační stanovení antikoagulační aktivity dabigatranu. Ke sledování účinnosti a bezpečnosti rivaroxabanu se používá stanovení DiXa nebo Xarelto. Pro orientační stanovení antikoagulační aktivity rivaroxabanu je možné použít běžně dostupné stanovení PT. Je však třeba zopakovat, že rutinní laboratorní monitorování nových antitrombotik není nutné provádět.

REFERENČNÍ SEZNAM

1. BAIN, Barbara J et al. *Dacie and Lewis practical haematology*. xi, 11th ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone, 2011, 653 s. ISBN 978-070-2034-084.
2. KRČOVÁ, Věra et al. Nová antikoagulancia - možnosti monitorování antikoagulačního účinku (dabigatran). *Interní medicína pro praxi*. 2012, roč. 14, č. (8 a 9), s. 318-322. Dostupné z: www.internimedicina.cz
3. DULÍČEK, Petr. Nová antitrombotika a možnosti jejich uplatnění. *Interní medicína pro praxi*. 2010, roč. 12, č. 9, s. 427-430. Dostupné z: www.internimedicina.cz
4. KARETOVÁ, Debora a Jan BULTAS. Nová antikoagulancia v léčbě kardiovaskulárních chorob. *Interní medicína pro praxi*. 2009, roč. 11, č. 6, s. 263-266. Dostupné z: www.internimedicina.cz
5. PENKA, Miroslav. Perorální antikoagulační léčba. *Interní medicína pro praxi*. 2003, č. 4, s. 179-183. Dostupné z: www.solen.cz
6. KVASNIČKA, Jan. *Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2003, 299 s. ISBN 80-716-9993-4.
7. NOVOTNÝ, Jan. Nové antitrombotické léky. *Ambulantná terapie*. 2007, roč. 5, č. 1, s. 18-20. Dostupné z: www.solen.eu
8. BULTAS, Jan a Debora KARETOVÁ. Nízkomolekulární hepariny - jejich význam v současné praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2011, roč. 13, č. 11, s. 440-444. Dostupné z: www.internimedicina.cz
9. ŠPÁČ, Jiří. Současná antiagregační terapie v praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2008, roč. 10, č. 2, s. 69-73. Dostupné z: www.internimedicina.cz
10. VARON, David a Galia SPECTRE. Antiplatelet agents. *Hematology*. 2009, č. 1, s. 267-272. Dostupné z: www.asheducationbook.-hematologylibrary.org
11. KESSLER, Petr. Nová antitrombotika. *Medicína pro praxi*. 2011, roč. 8, č. 4, s. 160-162. Dostupné z: www.medicinapropraxi.cz
12. CATELLA-LAWSON et al. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *The New England Journal of Medicine*. 2001, roč. 345, č. 25, s. 1809-1817. Dostupné z: www.nejm.org

13. PATRONO, Carlo et al. Platelet-Active Drugs: The Relationships Among Dose, Effectiveness, and Side Effects. *CHEST*. 2001, roč. 119, č. 1, s. 39-63. Dostupné z: www.chestnet.org
14. GANDALOVIČOVÁ, Jana. Současné trendy trombolytické terapie u akutních koronárních syndromů. *Interní medicína pro praxi*. 2002, č. 1, s. 29-32. Dostupné z: www.prakticka-medicina.cz
15. STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Warfarin Orion* [ONLINE]. 2010, 9 s. [cit. 2.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
16. KESSLER, Petr. Antikoagulační léčba warfarinem. *Interní medicína pro praxi*. 2005, č. 4, s. 182-185. Dostupné z: www.internimedicina.cz
17. TUKA, Vladimír a Tomáš JANOTA. Warfarin - starý známý a přece stále neznámý. *Interní medicína pro praxi*. 2011, roč. 13, č. 6, s. 244-246. Dostupné z: www.internimedicina.cz
18. BINDER, Tomáš. Farmakoterapie v graviditě. *Interní medicína pro praxi*. 2006, č. 10, s. 447-450. Dostupné z: www.internimedicina.cz
19. MATÝŠKOVÁ, Miloslava a Alena BULIKOVÁ. Komplikace podávání heparinu. *Vnitřní lékařství*. 2006, č. 1, s. 92-97. Dostupné z: www.vnitrnilekarstvi.cz
20. ŠPÁC, Jiří. Nízkomolekulární hepariny v terapii kardiovaskulárních nemocí. *Interní medicína pro praxi*. 2001, č. 2, s. 75-79. Dostupné z: www.prakticka-medicina.cz
21. STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Heparin Forte* [ONLINE]. 2010, 6 s. [cit. 1.3.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
22. KESSLER, Petr. Nízkomolekulární hepariny v ambulantní praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2010, roč. 12, č. 7 a 8, s. 361-365. Dostupné z: www.internimedicina.cz
23. MALÝ, Jaroslav. Nízkomolekulární hepariny. *Interní medicína pro praxi*. 2004, č. 9, s. 442-449. Dostupné z: www.internimedicina.cz
24. MAYER, Otto. Nízkomolekulární hepariny v prevenci a léčbě žilního tromboembolizmu. *Interní medicína pro praxi*. 2007, č. 1, s. 39-41. Dostupné z: www.internimedicina.cz
25. STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Clexane* [ONLINE]. 2014, 17 s. [cit. 11.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz

26. STÁTNI ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Fraxiparine* [ONLINE]. 2013, 11 s. [cit. 12.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
27. STÁTNI ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Arixtra* [ONLINE]. 2007, 110 s. [cit. 12.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
28. KARETOVÁ, Debora a Jan BULTAS. Porovnání nových perorálních antitrombotik z pohledu farmakologických vlastností a výsledků klinických studií. *Postgraduální medicína: Novinky v antitrombotické terapii*. 2013, příloha č. 1, s. 31-36. Dostupné z: www.postgradmed.cz
29. KVASNIČKA, Jan. Monitorace koagulace a management krvácivých komplikací při léčbě novými perorálními antikoagulancii z pohledu hematologa. *Postgraduální medicína: Novinky v antitrombotické terapii*. 2013, příloha č. 1, s. 37-43. Dostupné z: www.postgradmed.cz
30. VAN RYN, Joanne et al. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thrombosis and Haemostasis*. 2010, vol. 103, issue 6, s. 1116-1127. DOI: 10.1160/TH09-11-0758. Dostupné z: www.schattauer.de/index.php?id=1214
31. TÁBORSKÝ, Miloš a Petr HEINC. Dabigatran etexilát: nové perorální antikoagulans s nejdelšími klinickými zkušenostmi v primární a sekundární prevenci tromboembolických komplikací fibrilace síní. *Postgraduální medicína: Novinky v antitrombotické terapii*. 2013, příloha č. 1, s. 44-51. Dostupné z: www.postgradmed.cz
32. WEITZ, Jeffrey. New approaches to oral anticoagulation: Direct thrombin inhibitors. *Thrombosis and Haemostasis: New perspectives, new strategies in venous thromboembolic disease*. 2008, s. 11-15. Dostupné z: www.schattauer.de
33. STÁTNI ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Pradaxa* [ONLINE]. 2013, 152 s. [cit. 12.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
34. WALENGA, J. M. a C. ADIGUZEL. Drug and dietary interactions of the new and emerging oral anticoagulants. *International Journal of Clinical Practice*. 2010, vol. 64, issue 7, s. 956-967. DOI:10.1111/j.1742-1241.2009.02286.x
35. HEINC, Petr. Rivaroxaban - lékový profil. *Postgraduální medicína: Novinky v antitrombotické terapii*. 2013, příloha č. 1, s. 52-56. Dostupné z: www.postgradmed.cz
36. STÁTNI ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Xarelto* [ONLINE]. 2013, 133 s. [cit. 12.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz

37. PŘEČEK, Jan. Apixaban - lékový profil. *Postgraduální medicína: Novinky v antitrombotické terapii*. 2013, příloha č. 1, s. 60-65. Dostupné z: www.postgradmed.cz
38. STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV. *Souhrn údajů o přípravku: Eliquis* [ONLINE]. 2011, 65 s. [cit. 15.4.2014]. Dostupné z: www.sukl.cz
39. FAKULTNÍ NEMOCNICE V MOTOLE. *Standardní operační postup - technický č. IISOPT_1OKH_380/2011-02: Koagulační analyzátor SYSMEX CA 7000 - 1*. Praha, 2013.
40. HYPHEN BIOMED. *Hemoclot thrombin inhibitors: Koagulační test pro kvantitativní stanovení hirudinu a jiných přímých inhibitorů thrombinu v plazmě*. 2010, 3 s. [cit. 17.4.2014]. Dostupné z: www.hyphen-biomed.com
41. HYPHEN BIOMED. *BIOPHEN DiXal (Direct Xa Inhibitors): Chromogenní test pro stanovení přímých inhibitorů Faktoru Xa (DiXal)*. 2012, 3 s. [cit. 17.4.2014]. Dostupné z: www.hyphen-biomed.com
42. HYPHEN BIOMED. *BIOPHEN HEPARIN (LRT): Měření Heparinu a Heparinu podobných antikoagulačních látek za užití anti Xa chromogenní metody, tekutá reagentie*. 2013, 2 s. [cit. 17.4.2014]. Dostupné z: www.hyphen-biomed.com
43. HARENBERG, Job et al. Determination of rivaroxaban by different factor Xa specific chromogenic substrate assays: reduction of interassay variability. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*. 2011, vol. 32, issue 3, s. 267-271. DOI: 10.1007/s11239-011-0622-5. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11239-011-0622-5>
44. TRIPODI, A. et al The International Normalized Ratio calibrated for rivaroxaban has the potential to normalize prothrombin time results for rivaroxaban-treated patients: results of an in vitro study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2011, vol. 9, issue 1, s. 226-228. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2010.04106.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1538-7836.2010.04106.x>

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č. 1: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení dabigatranu u pacientů užívajících antikoagulační léčbu dabigatranem (tabulka)

Příloha č. 2: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení dabigatranu u osob bez antikoagulační léčby (tabulka)

Příloha č. 3: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení rivaroxabanu u pacientů užívajících antikoagulační léčbu rivaroxabanem (tabulka)

Příloha č. 4: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení rivaroxabanu u osob bez antikoagulační léčby (tabulka)

PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení dabigatranu u pacientů užívajících antikoagulační léčbu dabigatranem (tabulka), * ve výsledcích znamená, že čas testu byl delší než 2 minuty

Pacient č.	PT (sec.)	PT (%)	PT (R)	PT (INR)	APTT (sec.)	APTT (R)	TT (sec.)	HC (sec.)	HC (ng/ml)
C1								59,7	122,1
C2								84,0	322,1
CAL 1								48,7	35,00
CAL 2								74,8	240,0
CAL 3								101,6	470,0
1	13,2	78,9	1,12	1,16	36,2	1,19	139,0	48,5	30,0
2	12,4	93,0	1,05	1,07	34,5	1,13	97,8	47,7	23,4
3	13,3	77,4	1,13	1,17	43,7	1,43	*	52,0	58,8
4	16,1	52,2	1,36	1,52	44,7	1,47	*	53,6	71,9
5	18,7	41,7	1,58	1,85	61,8	2,03	*	71,8	221,7
6	15,2	57,4	1,29	1,40	54,4	1,78	*	61,0	132,8
7	13,5	74,4	1,14	1,20	38,2	1,25	124,0	43,8	0,0
8	49,9	9,60	4,23	6,90	*	*	*	127,2	677,7
9	24,3	28,2	2,06	2,63	33,5	1,10	18,3	42,6	0,0
10	14,3	65,6	1,21	1,29	30,9	1,01	102,4	49,4	37,4
11	19,8	38,3	1,68	2,00	44,2	1,45	*	46,3	11,9
12	15,3	56,6	1,30	1,42	45,2	1,48	*	69,7	204,4
13	13,5	74,4	1,14	1,20	37,2	1,22	54,3	45,5	5,3
14	12,8	85,6	1,08	1,12	33,1	1,09	54,8	46,1	10,2
15	14,6	62,7	1,24	1,33	35,9	1,18	166,8	51,3	53,0
16	12,8	85,6	1,08	1,12	34,3	1,12	42,8	46,1	10,2
17	14,5	63,6	1,23	1,32	43,3	1,42	*	61,9	140,2
18	12,9	83,8	1,09	1,13	31,2	1,02	122,6	45,0	1,2

Příloha č. 2: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení dabigatranu u osob bez antikoagulační léčby (tabulka)

Negativní pacient č.	PT (sec.)	PT (%)	PT (R)	PT (INR)	APTT (sec.)	APTT (R)	TT (sec.)	HC (sec.)	HC (ng/ml)
1	12,4	93,0	1,05	1,07	30,5	1,00	17,0	43,4	0,00
2	10,8	133,7	0,92	0,89	26,9	0,88	15,7	42,7	0,00
3	12,3	95,0	1,04	1,06	27,4	0,90	18,7	40,3	0,00
4	11,7	108,3	0,99	0,99	28,3	0,93	16,1	42,4	0,00
5	13,7	72,0	1,16	1,22	28,1	0,92	18,6	42,7	0,00
6	13,0	82,1	1,1	1,14	31,4	1,03	17,2	41,7	0,00
7	12,6	89,2	1,07	1,09	25,4	0,83	16,7	44,3	0,00

Příloha č. 3: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení rivaroxabanu u pacientů užívajících antikoagulační léčbu rivaroxabanem (tabulka), * ve výsledcích znamená, že čas testu byl delší než 2 minuty

Pacient č.	PT (sec.)	PT (%)	PT (R)	PT (INR)	APTT (sec.)	APTT (R)	TT (sec.)	DiXa (dOD)	DiXa (µg/ml)	Xarelto (dOD)	Xarelto (µg/ml)
C1								0,413	0,096	1,021	0,117
C2								0,165	0,327	0,644	0,347
CAL 1								0,619	0,001	1,241	0,000
CAL 2								0,202	0,281	0,697	0,271
CAL 3								0,084	0,500	0,432	0,431
1	24,9	27,2	2,11	2,72	40,7	1,33	20,6	0,119	0,409	0,506	0,431
2	15,0	59,1	1,27	1,38	29,0	0,95	22,7	0,619	0,000	1,269	0,000
3	18,9	41,1	1,60	1,88	48,4	1,59	19,3	0,290	0,185	0,849	0,222
4	17,8	44,9	1,51	1,73	37,6	1,23	21,0	0,529	0,034	1,118	0,058
5	14,4	64,6	1,22	1,31	29,0	0,95	19,5	0,472	0,062	1,163	0,030
6	19,7	38,6	1,67	1,99	33,7	1,10	18,8	0,550	0,024	1,176	0,023
7	17,2	47,3	1,46	1,66	30,0	0,98	21,2	0,579	0,011	1,210	0,002
8	21,7	33,4	1,84	2,26	45,2	1,48	17,9	0,215	0,260	0,737	0,290
9	23,6	29,5	2,00	2,53	43,6	1,43	16,2	0,151	0,349	0,610	0,367
10	14,8	60,9	1,25	1,35	30,9	1,01	17,2	0,422	0,090	1,044	0,103
11	14,7	61,8	1,25	1,34	35,2	1,15	17,8	0,401	0,103	1,008	0,125
12	16,1	52,2	1,36	1,52	34,8	1,14	20,4	0,499	0,048	1,101	0,068
13	15,0	59,1	1,27	1,38	23,5	0,77	17,6	0,499	0,048	1,100	0,069
14	15,0	59,1	1,27	1,38	28,9	0,95	20,2	0,634	0,000	1,288	0,000
15	15,5	55,3	1,31	1,44	35,1	1,15	19,2	0,466	0,065	1,101	0,068
16	14,4	64,6	1,22	1,31	31,0	1,02	22,9	0,573	0,013	1,210	0,002
17	17,0	48,1	1,44	1,63	30,0	0,98	23,9	0,484	0,056	1,132	0,049
18	13,3	77,4	1,13	1,17	32,6	1,07	19,0	0,549	0,024	1,215	0,000

Příloha č. 4: Výsledky měření jednotlivých metod u stanovení rivaroxabanu u osob bez antikoagulační léčby (tabulka)

Negativní pacient č.	PT (sec.)	PT (%)	PT (R)	PT (INR)	APTT (sec.)	APTT (R)	TT (sec.)	DiXa (dOD)	DiXa (µg/ml)	Xarelto (dOD)	Xarelto (µg/ml)
1	12,1	99,2	1,03	1,03	31,2	1,02	16,8	0,528	0,000	1,223	0,000
2	11,3	118,7	0,96	0,94	29,2	0,96	16,7	0,537	0,000	1,218	0,000
3	11,2	121,5	0,95	0,93	28,1	0,92	16,4	0,537	0,000	1,215	0,000
4	11,5	113,3	0,97	0,97	32,3	1,06	16,2	0,543	0,000	1,230	0,000
5	12,2	97,1	1,03	1,05	32,3	1,06	17,5	0,546	0,000	1,228	0,000
6	11,0	127,4	0,93	0,91	30,2	0,99	18,7	0,547	0,000	1,213	0,000
7	11,7	108,3	0,99	0,99	31,8	1,04	15,7	0,549	0,000	1,219	0,000
8	11,0	127,4	0,93	0,91	33,3	1,09	16,3	0,540	0,000	1,213	0,000
9	11,8	105,9	1,00	1,00	29,2	0,96	18,3	0,547	0,000	1,238	0,000
10	12,0	101,4	1,02	1,02	30,5	1,00	17,8	0,557	0,000	1,231	0,000