

УНИВЕРЗИТЕТ ОДБРАНЕ МИНИСТАРСТВО ОДБРАНЕ
РЕПУБЛИКЕ СРБИЈЕ МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
ВОЈНОМЕДИЦИНСКЕ АКАДЕМИЈЕ



Јелена Џудовић

РАЗЛИКЕ У АКТИВНОСТИ ФАКТОРА КОАГУЛАЦИОНЕ
КАСКАДЕ И КОНЦЕНТРАЦИЈАМА ФИБРИНОГЕНА И Д-
ДИМЕРА, КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ПЛУЋНОМ
ТРОМБОЕМБОЛИЈОМ НА ТЕРАПИЈИ ДИРЕКТНИМ
ОРАЛНИМ АНТИКОАГУЛАНСОМ

Докторска дисертација

Београд, 2023

UNIVERSITY OF DEFENSE MINISTRY OF DEFENSE OF THE
REPUBLIC OF SERBIA FACULTY OF MEDICINE OF THE
MILITARY MEDICAL ACADEMY



Jelena Dzudovic

DIFFERENCES IN THE ACTIVITY OF COAGULATION
CASCADE FACTORS AND CONCENTRATIONS OF
FIBRINOGEN AND D-DIMER, IN PATIENTS WITH
PULMONARY THROMBOEMBOLISM ON DIRECT ORAL
ANTICOAGULANT THERAPY

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023

Име и презиме: Јелена М. Џудовић
Наслов: Разлике у активности фактора коагулационе каскаде и концентрацијама фибриногена и Д-димера, код пацијената са плућном тромбоемболијом на терапији директним оралним антикоагулансом
Ментор: пк проф. др Слободан Обрадовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, тромбоза и хемостаза
Комисија за оцену теме и тезе: 1. проф. др Викторија Драгојевић - Симић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, фармакологија – председник; 2. проф. др Милкица Цревар, ванредни професор Фармацеутског факултет Универзитета у Београду, фармацеутска хемија – члан; 3. пк проф. др Слободан Обрадовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, тромбоза и хемостаза – члан
Комисија за оцену готове докторске дисертације: 1. проф. др Викторија Драгојевић - Симић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, фармакологија – председник; 2. проф. др Милкица Цревар, ванредни професор Фармацеутског факултета Универзитета у Београду, фармацеутска хемија – члан; 3. пк доц. др Радослав Романовић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, кардиологија – члан.

Борису, Нини и Марку

„Човек је велик у својим намерама, али је слаб у њиховом спровођењу.

У томе лежи наша беда и наша љупкост.“

Ерих Марија Ремарк

САЖЕТАК

УВОД: Терапија директним оралним антикоагулансима (ДОАК) је према савременим водичима препоручена за лечење пацијената са плућном тромбоемболијом (ПТЕ). Није познато на који начин ДОАК-и утичу на активност фактора коагулације који нису њихова директна мета деловања.

ЦИЉ: Да се измере активности фактора коагулационе каскаде код пацијената лечених од ПТЕ који узимају неки од три доступна ДОАК-а и упореде између група пацијената формираних према антикоагулансу који узимају.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ: Узорци крви узимани су од пацијената са ПТЕ који су већ месец дана на стабилној терапији једним од ДОАК-а (апиксабан, ривароксабан или дабигатран) и у моменту очекиване најниже концентрације лека. Мерена је активност фактора коагулације II, VII и VIII, протеина Ц и антитромбина, као и концентрације фибриногена и Д-димера. Код пацијената на апиксабану и ривароксабану одређивана је анти-Ха активност.

РЕЗУЛТАТИ: Критеријуме за учешће испунило је укупно 100 пацијената и то 32 (32%) у групи на апиксабану, 36 (36%) у групи на ривароксабану и 32 (32%) у групи лечених дабигатраном. Није било статистичке разлике између група поређених према основним демографским, клиничким и лабораторијским карактеристикама. Активност фактора II је била значајно виша код пацијената на апиксабану у поређењу са пацијентима на ривароксабану ($p < 0,001$) и дабигатрану ($p = 0,003$). И активност фактора VII и протеина Ц је била значајно већа код пацијената на апиксабану у поређењу са пацијентима на ривароксабану, док је активност фактора VIII била значајно већа у односу на пацијенте на дабигатрану. Остали мерени фактори коагулације, као и концентрације Д-димера и активност анти-Ха (за апиксабан и ривароксабан) нису се разликовали између група.

ЗАКЉУЧАК: Код пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије апиксабаном постоји значајно виша активност тромбина у односу на пацијенте који су добијали ривароксабан или дабигатран. Такође, повишене су и вредности фактора VII, VIII и протеина Ц.

Кључне речи: плућна тромбоемболија; директни орални антикоагуланси; фактори коагулационе каскаде; тромбин.

Abstract

INTRODUCTION: Therapy with direct oral anticoagulants (DOACs) is, according to modern guidelines, recommended for the treatment of patients with pulmonary thromboembolism (PTE). It is not known how DOAKs affect the activity of coagulation factors that are not their direct target.

OBJECTIVE: To measure the activities of the coagulation factors in patients with PTE treated with any of the three available DOACs and compare between groups of patients formed according to the anticoagulant they take.

MATERIALS AND METHODS: Blood samples were taken from patients with PTE who have been on stable therapy with one of the DOAKs (apixaban, rivaroxaban or dabigatran) for a month and at the moment of the expected lowest concentration of the drug. The activity of coagulation factors II, VII and VIII, protein C and antithrombin, as well as concentrations of fibrinogen and D-dimer were measured. Anti-Xa activity was determined in patients on apixaban and rivaroxaban.

RESULTS: A total of 100 patients met the participation criteria, 32 (32%) in the apixaban group, 36 (36%) in the rivaroxaban group, and 32 (32%) in the dabigatran group. There was no statistical difference between the groups compared according to basic demographic, clinical and laboratory characteristics. Factor II activity was significantly higher in patients on apixaban compared to patients on rivaroxaban ($p < 0.001$) and dabigatran ($p = 0.003$). Both factor VII and protein C activity were significantly higher in apixaban patients compared to rivaroxaban patients, while factor VIII activity was significantly higher compared to dabigatran patients. Other measured coagulation factors, as well as D-dimer concentrations and anti-Xa activity did not differ between groups.

CONCLUSION: In patients with PTE after one month of stable therapy with apixaban, there is a significantly higher thrombin activity compared to patients who received rivaroxaban or dabigatran. Also, the values of factors VII, VIII and protein C are elevated.

Keywords: pulmonary thromboembolism; direct oral anticoagulants; coagulation cascade factors; thrombin.

САДРЖАЈ

СКРАЋЕНИЦЕ	XI
Списак слика	XIII
Списак табела.....	XIV
Списак графикона	XV
УВОД.....	1
ХЕМОСТАЗА	1
ТРОМБОЗА.....	3
<i>Артеријска тромбоза</i>	4
<i>Венска тромбоза</i>	4
<i>Активација коагулационе каскаде</i>	4
<i>Фактори коагулационе каскаде</i>	7
<i>Регулација коагулације</i>	9
<i>Фибринолиза</i>	10
ПЛУЋНА ТРОМБОЕМБОЛИЈА.....	12
<i>Епидемиологија</i>	12
<i>Презентација болести</i>	14
<i>Морталитет</i>	14
<i>Лечење венског тромбоемболизма</i>	15
Лекови у терапији тромбоза	16
АНТИКОАГУЛАНСИ	17
<i>Парентерални антикоагуланси</i>	17
<i>Орални антикоагуланси</i>	18
<i>Антагонисти витамина К</i>	19
<i>Директни орални антикоагуланси</i>	20
ДАБИГАТРАН ЕТЕКСИЛАТ.....	21
<i>Хемијска структура</i>	21
<i>Фармакокинетика</i>	22
<i>Механизам дејства</i>	23
РИВАРОКСАБАН.....	24
<i>Хемијска структура</i>	24
<i>Фармакокинетика</i>	25
<i>Механизам дејства</i>	26
АПИКСАБАН	27
<i>Хемијска структура</i>	27
<i>Фармакокинетика</i>	28
<i>Механизам дејства</i>	28
Лабораторијско праћење ДОАК-а.....	30
АНАЛИТИЧКЕ МЕТОДЕ ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ ДОАК-а	31
<i>Течна хроматографија са тандем масеном детекцијом</i>	31
<i>Конвенционални тестови хемостазе</i>	32

ХИПОТЕЗЕ	35
ЦИЉЕВИ	35
МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ	36
СТАТИСТИЧКЕ АНАЛИЗЕ КОРИШЋЕНЕ У ИЗРАДИ РЕЗУЛТАТА	39
РЕЗУЛТАТИ	41
ДИСКУСИЈА	61
ЗАКЉУЧЦИ	73
ЛИТЕРАТУРА	74

Скраћенице

ДОАК - Директни орални антикоагуланси

ПТЕ - Плућна тромбоемболија

ДВТ - Дубока венска тромбоза

АДП - Аденозин дифосфат

ТХА2 - Тромбоксан А2

РАИ - Инхибитор активатора плазминогена (енг. *Plasminogen activator inhibitor*)

ТАФИ - Инхибитор фибринолизе који се активира тромбином (енг. *Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor*)

ТФ - Ткивни фактор (енг. *Tissue factor*)

РТ - Протромбинско време (енг. *Prothrombin time*)

НМВК - Кининоген велике молекулске масе (енг. *High molecular weight kininogen*)

аРТТ - Активираног парцијално тромбопластинско време (енг. *Activated partial thromboplastin time*)

ТФПИ - Инхибитор спољашњег пута (енг. *Tissue factor pathway inhibitor*)

АТ - Антитромбин

ТАТ - Комплекс тромбин-антитромбин

ПЦ - Протеин Ц

АПЦ - Активирани протеин Ц

ТМ - Тромбомодулин

ЕПЦР - Ендотелни протеин Ц рецептор

ПС - Протеин С

т-РА - Ткивни активатор плазминогена (енг. *Tissue plasminogen activator*)

и-РА - Урокиназа активатор плазминогена (енг. *Urokinase plasminogen activator*)

ОР - Однос вероватноће догађаја (енг. *Odds ratio*)

СТ - Компјутеризована томографија (енг. *Computed tomography*)

sPESI - *simplified Pulmonary Embolism Severity Index*

UFH - Нефракционисани хепарин (енг. *Unfractionated heparin*)

LMWH - Нискомолекуларни хепарин (енг. *Low molecular weight heparin*)

INR – Интернационални нормализовани однос (енг. *International normalised ratio*)

NOAC – Нови орални антикоагуланси (енг. *Novel oral anticoagulants*)

TSOAC – Циљни специфични орални антикоагуланс (енг. *Target specific oral anticoagulants*)

DTIs - Директни инхибитори тромбина (енг. *Direct thrombin infibitors*)

ПИК - Површина испод криве

BCRP – карцином дојке-резистентни протеин (енг. *Breast cancer resistance protein*)

FDA - Америчка агенција за храну и лекове (енг. *Food and drug administration*)

TDM - Терапијско праћење концентрације лека (енг. *Therapeutic drug monitoring*)

LC-MS/MS - Течна хроматографија са тандем масеном детекцијом (енг. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry*)

LC - Течна хроматографија (енг. *Liquid chromatography*)

MS - Масена спектрометрија (енг. *Mass spectrometry*)

ISI - Интернационални индекс осетљивости (енг. *International sensitivity index*)

TT - Тромбинско време (енг. *Thrombin time*)

dTT - Дилуционо тромбинско време (енг. *Diluted thrombin time*)

LOQ - Лимит квантификације (енг. *Limit of quantification*)

св - Средња вредност

СД - Стандардна девијација

нс - Није сигнификантно

ХОБП - Хронична опструктивна болест плућа

ХССС - Хронична систолна срчана слабост

BNP - Натриуретчни пептид (енг. *B-type natriuretic protein*)

BMI – индекс телесне масе (енг. *Body mass index*)

Списак слика

Слика 1. Вирховљева тријада	3
Слика 2. Коагулациона каскада	7
Слика 3. Места деловања варфарина и директних оралних антикоагуланаса у коагулационој каскади	19
Слика 4. Хемијска структура дабигатран-етексилата	22
Слика 5. Хемијска структура ривароксабана	24
Слика 6. Хемијска структура апиксабана.....	27
Слика 7. Сензитивност и линеарност коагулационих тестова за субтерапијске, терапијске и супратерапијске концентрације дабигатрана, ривароксабана и апиксабана.....	34

Списак табела

Табела 1: Фактори коагулације.....	8
Табела 2: Најчешћи фактори ризика за ВТЕ	13
Табела 3а: Основне демографске карактеристике пацијената са плућном тромбоемболијом	42
Табела 3б: Присуство фактора ризика за плућну тромбоемболију и хроничних обољења.	42
Табела 4а: Протекло време до пријема у болницу од појаве симптома, дужина хоспитализације и врста ПТЕ према узроку.	43
Табела 4б: Основне клиничке карактеристике на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.	43
Табела 4ц: Плућна тромбоемболија класификована према ризику од раног морталитета и присуство великог крварења.....	44
Табела 5а: Величина гломеруларне филтрације и парцијални притисци O_2 и CO_2	45
Табела 5б: Параметри запаљења, концентрација продуката разградње фибрина, гликемија и параметри оптерећења десне коморе на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.	46
Табела 5ц: Основни хематолошки параметри на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.	47
Табела 6: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени ривароксабаном.	57
Табела 7: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени аписабаном.....	59
Табела 8: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени дабигатраном.	60

Списак графикана

Графикон 1а. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације II.	48
Графикон 1б. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације VII.	49
Графикон 1ц. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације VIII.	49
Графикон 1д. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности анти-Ха активности.	50
Графикон 1е. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности активности протеина Ц.	50
Графикон 1ф. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности активности антитромбина.	51
Графикон 1г. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности концентрације фибриногена.	51
Графикон 1х. <i>Q-Q</i> графикон и <i>p</i> вредност <i>Shapiro-Wilk</i> методом као приказ расподеле вредности концентрације Д-димера.	52
Графикон 2. Поређење средњих вредности активности фактора II између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.	53
Графикон 3. Поређење средњих вредности активности фактора VII између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.	54
Графикон 4. Поређење средњих вредности активности протеина Ц између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.	55
Графикон 5. Поређење средњих вредности (медијане) активности фактора VIII између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.	55
Графикон 6. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између АТ и година живота код пацијената лечених ривароксабаном.	58
Графикон 7. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између фактора VIII и година живота код пацијената лечених аписабаном.	59

Графикон 8. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између фактора Π и BMI
код пацијената лечених дабигатраном..... 60

УВОД

Тромбоза је један од најчешћих узрока морбидитета и морталитета у развијеном делу света и има кључну улогу у патогенези бројних кардиоваскуларних болести, укључујући акутни коронарни синдром (нестабилна ангина пекторис, инфаркт миокарда и изненадна срчана смрт), дубоку венску тромбозу (ДВТ), плућну тромбоемболију (ПТЕ), периферну артеријску оклузију и инфаркт мозга. Упркос напретку у терапији, смртност од последица тромбозе и даље је неприхватљиво висока. Због тога постоји стална потреба за развојем нових, ефикаснијих и безбеднијих видова терапије тромбозе.(1,2)

ХЕМОСТАЗА

Тромбоза представља патолошко формирање коагулума унутар крвног суда услед поремећаја хемостазе. Термин хемостаза представља заустављање крварења удруженим деловањем ендотела крвних судова, тромбоцита и система коагулације. Поред тога, под дејством хемокина долази до миграције леукоцита на место повреде чиме се спречава инфекција и олакшава зарастање рана. Коначно, у процесу фибринолизе долази до разлагања створеног коагулума и поновног успостављања нормалне циркулације крви.(3) Сви ови процеси су строго контролисани на више начина.

Хемостаза се одвија у четири фазе које се дешавају готово истовремено:

1. Васкуларна фаза започиње повредом крвног суда која тренутно доводи до вазоконстрикције глатких мишића на месту повреде чиме се смањује локални проток крви и олакшава заустављање крварења.
2. Тромбоцитна фаза започиње адхезијом тромбоцита на месту оштећења ендотела, везивањем тромбоцита за фон Вилебранд-ов фактор и колаген екстрацелуларног матрикса субендотела. Даљим везивањем тромбоцита започиње процес агрегације у којем фибриноген има значајну улогу. Тромбоцити се активирају под дејством више фактора, пре свега тромбина, подлежу морфолошким и структуралним променама, секретујући супстанце са проагрегаторним дејством - аденозин дифосфат (АДП) и тромбоксан А2 (ТХА2). АДП и ТХА2 стимулишу даљу агрегацију тромбоцита, а на месту оштећења ствара се тромбоцитни чеп који код мањих повреда може бити довољан да заустави крварење.

3. Фаза коагулације крви започиње активацијом фактора коагулације. То су већином протеини (ензими серин протеазе или њихови кофактори) који се нормално налазе у циркулацији у неактивном облику као проензими или прокофактори. У коагулационој каскади долази до активације протромбина, при чему се ствара тромбин који даље делује на растворљиви протеин плазме фибриноген и конвертује га у нерастворљиви фибрин, који се састоји од великог броја мономера фибриногена, међусобно повезаних у почетку нековалентним, а касније и знатно стабилнијим ковалентним везама. Тако настаје фибринска мрежа у којој су инкорпорирани тромбоцити (бели коагулум) и еритроцити (црвени коагулум) чиме се зауставља крварење. Брзину овог процеса регулишу инхибитори коагулације.

4. Фибринолиза је процес разлагања коагулума под дејством плазмина који настаје активацијом плазминогена чиме се омогућава нормално успостављање протока крви после зарастања ране. То је регулаторни механизам којим се још у току коагулације крви спречава неконтролисано формирање коагулума. Брзина фибринолизе регулисана је дејством различитих инхибитора попут α_2 -антиплазмина, инхибитора активатора плазминогена (енг. *plasminogen activator inhibitor*, *PAI-1*, *PAI-2*, *PAI-3*) и инхибитора фибринолизе који се активира тромбином (енг. *thrombin activatable fibrinolysis inhibitor*, *TAFI*).(3,4)

ТРОМБОЗА

У физиолошким условима систем хемостазе је уравнотежен у корист антикоагулације. Уколико преовладају прокоагулантни фактори, долази до развоја тромбозе (венске или артеријске).

Немачки лекар Рудолф Вирхов је 1864. године описао стања повезана са формирањем тромба позната као Вирховљева тријада која обухвата стазу крви, стања хиперкоагулабилности (урођена или стечена) и повреду крвног суда (Слика 1).(5)



Слика 1. Вирховљева тријада

Артеријска тромбоза

Артеријски тромб се формира у условима брзог протока крви и сачињен је углавном од агрегата тромбоцита везаних за фибринске нити док се венски тромб формира у деловима где долази до стазе крви и доминантно је сачињен од еритроцита, фибрина и мањег броја тромбоцита. (6,7)

У патогенези артеријске тромбозе услед оштећења ендотела артеријског крвног суда, долази до активације тромбоцита, али се активира и процес коагулације. Наиме, активирани тромбоцити стимулишу процес коагулације преко унутрашњег пута активације коагулационе каскаде. Тромбин као ензим који има централну улогу у коагулационој каскади је истовремено и снажан активатор тромбоцита, те се додатно активирају тромбоцити чиме се цео процес амплификује. Због тога се и антикоагулантни и антиагрегациони лекови користе у превенцији и третману артеријске тромбозе. (8,9)

Венска тромбоза

У случају венске тромбозе, тромб се може јавити у површинским или дубоким венама у скоро свим деловима тела али најчешће у дубоким венама доњих екстремитета. Животно угрожавајућа компликација ДВТ је ПТЕ која настаје услед емболизације тромба у плућне артерије. (10) Активација коагулационе каскаде је главни механизам патогенезе венске тромбозе. Због тога су антикоагуланси веома ефикасни у превенцији и третману венске тромбозе док су антиагрегациони лекови мање ефикасни.

Активација коагулационе каскаде

Шездесетих година прошлог века, истраживачи су утврдили да се коагулација може активирати посредством два пута: спољашњег који се активира оштећењем ткива тј. под дејством ткивног фактора, и унутрашњег који се активира под дејством унутрашњих фактора тј. у контакту са негативно наелектрисаном површином бројних молекула присутних у циркулацији. Међутим, данас се сматра да се *in vivo* овај процес у ствари одвија преко спољашњег пута коагулације, а да унутрашњи пут служи као амплификатор процеса.

Спољашњи пут коагулације започиње након оштећења ткива и ослобађања ткивног фактора (енг. *tissue factor, TF*) из субендотелног ткива. Ткивни фактор активира фактор VII

и настали комплекс *TF-VIIa* онда преводи фактор X у активни Xa .(11) Активност спољашњег пута коагулације процењује се одређивањем протромбинског времена (енг. *Prothrombin time, PT*).

Унутрашњи (контактни) пут коагулације укључује факторе VIII, IX, XI, XII, прекаликреин и кининоген велике молекулске масе (енг. *high molecular weight kininogen, HMWK*). Започиње активацијом фактора XII у фактор XIIa након контакта са колагеном пореклом из оштећеног ендотела крвног суда. Активирани фактор XII катализује реакцију активације фактора XI у XIa који затим активира фактор IX у фактор IXa. Фактор IXa заједно са својим кофактором (фактор VIII) катализује реакцију активације фактора X у Xa . Сваки активирани фактор у коагулационој каскади повећава активност и концентрацију следећег фактора коагулације у крви.(12) Активност унутрашњег пута коагулације се процењује одређивањем активираниог парцијалног тромбoplastинског времена (енг. *Activated partial thromboplastin time, aPTT*).(3,13)

Конверзија фактора X у фактор Xa представља почетак заједничког пута коагулације који покреће настајање тромбина и долази до конверзије фибриногена (фактор I) у фибрин. До активације фактора X долази посредством сложених механизма у којима учествује комплекс теназа – спољашњи кога чине фактор VII, *TF* и Ca^{2+} и унутрашњи кога чине фактор VIII, IXa, фосфолипиди и Ca^{2+} . Активирани фактор X заједно са својим кофактором (фактор V), фосфолипидима и Ca^{2+} чини протромбиназа комплекс који преводи протромбин (фактор II) у тромбин (фактор IIa). Тромбин даље преводи циркулишући фибриноген у нерастворни фибрин и доводи до активације фактора XIII неопходног за формирање чврсте фибринске мреже која стабилизује коагулум (Слика 2).(12)

Према тренутном концепту, процес коагулације пролази кроз следеће фазе:

ИНИЦИЈАЦИЈА: Ова фаза започиње експресијом *TF* из оштећеног крвног суда који везује фактор VIIa, а настали комплекс даље активира факторе IX и X. Управо активација фактора IX посредством комплекса *TF-VIIa* представља везу између спољашњег и унутрашњег пута коагулације. Фактор Xa се везује за протромбин и настаје тромбин чију

продукцију инхибира инхибитор спољашњег пута (енг. *Tissue factor pathway inhibitor, TFPI*).

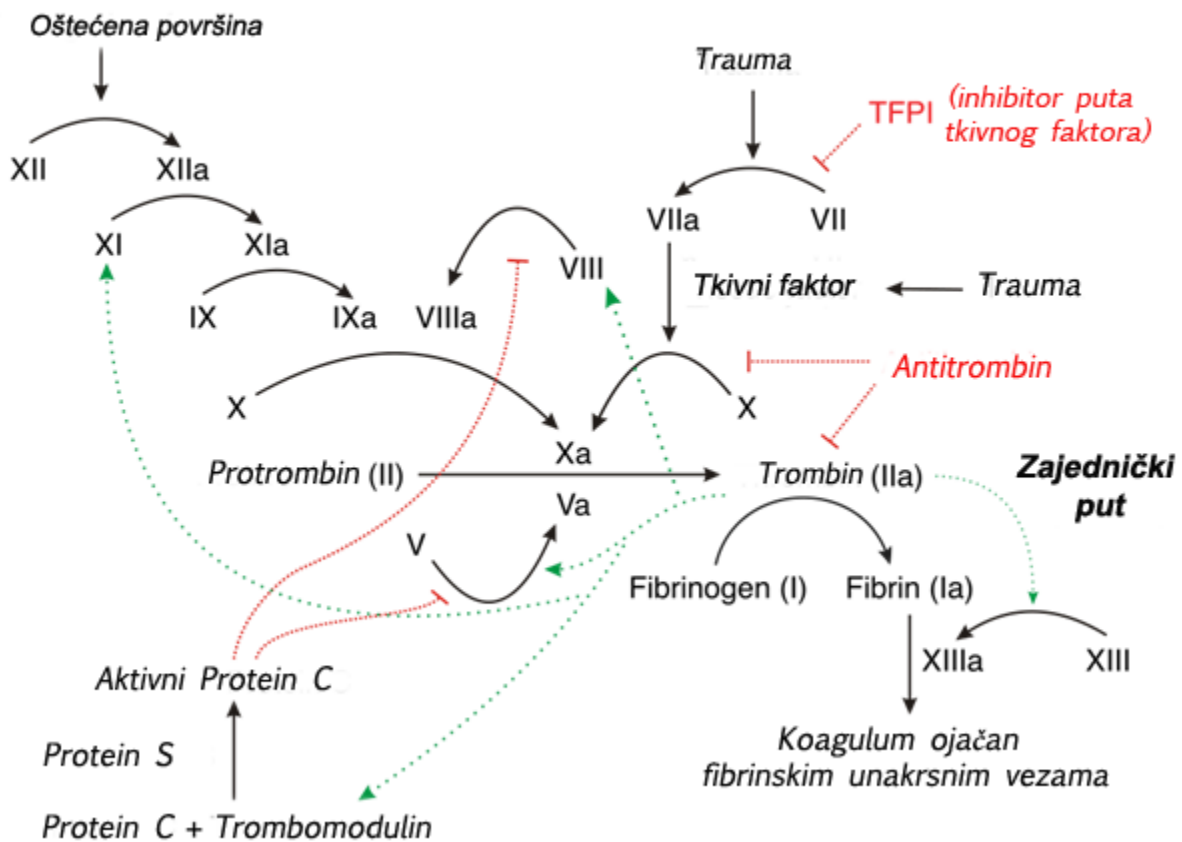
АМПЛИФИКАЦИЈА: У овој фази, механизмима повратне спреге долази до повећане продукције тромбина који се везује за тромбоците. Тромбин настао у фази иницијације активира факторе V и VIII, кофакторе протромбиназа комплекса, а такође активира и фактор XI, било директно или преко активираних тромбоцита. На овај начин долази до повећања активације протромбина у тромбин посредством нагомилавања протромбиназа комплекса.

ПРОПАГАЦИЈА: У овој фази на површини тромбоцита долази до повећане продукције тромбина и активације тромбоцита посредством теназа и протромбиназа комплекса чиме је омогућено формирање фибрина.

СТАБИЛИЗАЦИЈА: У овој фази посредством тромбина долази до активације фактора XIII (енг. *fibrin stabilizing factor*) који формира чврсте ковалентне везе фибрина и стабилан коагулум. Истовремено, тромбин активира *TAFI* који штити настали коагулум од фибринолизе.(14)

Unutrašnji (kontaktni) put

Spoljašnji put (posredovan tkivnim faktorom)



Слика 2. Коагулациона каскада

Фактори коагулационе каскаде

Фактори коагулације су, изузев калцијума, протеини - ензими и кофактори ензима. Већина фактора коагулације се синтетише у јетри са изузетком фактора III (ткивни фактор) који се синтетише у многим ткивима, а нарочито у ендотелу и моноцитно-макрофагом систему, фактора IV (Ca^{2+}) и VIII који се синтетише у јетри, али и у другим ткивима. Фактори могу бити слободни у циркулацији, а неки се налазе концентрисани у гранулама тромбоцита. Према интернационалном систему номенклатуре, сваки фактор коагулације обележен је римским бројем у складу са редоследом откривања, који не одговара позицији фактора у каскади коагулације (Табела 1).(15)

Табела 1: Фактори коагулације

Број	Назив	Активност	Пут	Полуживот
I	Фибриноген	-	Заједнички	90 сати
II	Протромбин	Серин-протеаза	Заједнички	60 сати
III	Ткивни фактор	Кофактор	Спољашњи	-
IV	Ca ²⁺	-	Сви	-
V	Проакцелерин	Кофактор	Заједнички	12 – 36 сати
VII	Проконвертин	Серин-протеаза	Спољашњи	4 – 6 сати
VIII	Антихемофилни фактор	Кофактор	Унутрашњи	12 сати
IX	<i>Christmas</i> -ов фактор	Серин-протеаза	Унутрашњи	20 сати
X	<i>Stuart-Prower</i> -ов фактор	Серин-протеаза	Заједнички	24 сати
XI	Претходник тромбопластина	Серин-протеаза	Унутрашњи	40 сати
XII	<i>Hageman</i> -ов фактор	Серин-протеаза	Унутрашњи	48 – 52 сати
-	Прекаликреин	Серин-протеаза	Унутрашњи	48 – 52 сати
-	<i>HMWK</i> *	Кофактор	Унутрашњи	6,5 дана
XIII	Протрансглутаминаза	Трансглутаминаза	Заједнички	3,5 дана

* Кининоген високе молекулске масе (eng. *high molecular weight kininogen, HMWK*)

У физиолошком стању, фактори коагулације се налазе у циркулацији у неактивном облику (зимогени), као проензими, односно про-кофактори. Након активације коагулације, они подлежу протеолизи под дејством фактора који им претходе у каскади чиме се преводе у активни облик који се обележава суфиксом „а“. Ткивни фактор је трансмембрански гликопротеин који своју функционалну активност кофактора испољава након оштећења ћелија, на самој површини мембране.

Изузев фактора XIIIa, сви фактори коагулације са ензимском активношћу (тромбин, фактор VIIa, IXa, Xa, XIa, XIIa и каликреин) су серин-протеазе (протеолитички ензими који у активном центру имају остатак серина, неопходан за каталитичку активност). Фактор XIIIa служи као кофактор који катализује реакцију у којој се стварају чврсте, ковалентне везе између фибринских нити и на тај начин стабилизује структуру коагулума.

Регулација коагулације

Прекомерна активација коагулације регулисана је природно присутним инхибиторима у циркулацији који разлажу активне форме одређених фактора коагулације (протеин Ц и његов кофактор, протеин С) или са њима граде неактивне комплексе (антитромбин и инхибитор спољашњег пута коагулације).

Природни антикоагуланси:

1. АНТИТРОМБИН (АТ)

АТ (ранији назив АТ III) је инхибитор серин-протеазе, који се везује и инактивира тромбин као и факторе IXa, Xa, XIa и XIIa. АТ везује факторе коагулације у односу 1:1, а овај комплекс се уклања ћелијама ретикулоендотелног система. Концентрација комплекса тромбин-антитромбин (ТАТ) зависи од брзине стварања тромбина, што се користи као маркер хиперкоагулабилних стања. Активност АТ се повећава у присуству хепарина који делује као кофактор АТ што је искоришћено као основ за примену хепарина у антикоагулантној терапији. Иако је АТ главни инхибитор тромбина, постоје и други тромбин инхибитори као што су хепарин кофактор II, α 2-макроглобулин и α 1-антитрипсин.(16,17)

2. ИНХИБИТОР СПОЉАШЊЕГ ПУТА (*TFPI*)

TFPI је полипептид кога синтетишу ендотелне ћелије и делује тако што инхибира *TF*-VIIa комплекс чиме се ефикасно инхибира спољашњи пут коагулације. Поред тога, *TFPI* стимулише и уклањање овог комплекса из плазме и његову разградњу.(18) Налази се на површини ендотела и примена хепарина такође доводи до његовог ослобађања у крв.

3. ПРОТЕИН Ц (ПЦ)

ПЦ је серин-протеаза, витамин К-зависни инхибитор коагулације који има и профибринолитичко и антиинфламаторно дејство. У циркулацији се налази у облику проензима који се активира под дејством тромбина и настаје активирани протеин Ц (АПЦ). Тромбин се прво везује за тромбомодулин (ТМ), мембрански протеин ћелија ендотела при чему долази до промене конформације тромбина који губи своју прокоагулантну и добија антикоагулантну функцију. Тромбин-ТМ катализује реакцију активације протеина Ц, а ову реакцију стимулише ендотелни протеин Ц рецептор (ЕПЦР), који служи као место везивања протеин Ц проензима. Активирани протеин Ц у присуству кофактора - протеина С (ПС) и фосфолипида хидролизује факторе Va и VIIa, везане за мембранске фосфолипиде чиме се инхибира активност комплекса коагулације (унутрашње X-азе и протромбиназе).(19)

Фибринолиза

Да би се ограничило неконтролисано стварање коагулума неопходно је удружено дејство инхибиције коагулације и процеса фибринолизе као финалног контролног механизма. Истовремено са активацијом коагулације долази и до фибринолизе која подразумева разлагање фибрина под дејством плазмينا, серин-протеазе која настаје активацијом плазминогена који има висок афинитет за фибрин већ у току формирања угрушка. Ову реакцију катализује ткивни активатор плазминогена (енг. *tissue plasminogen activator, t-PA*) или урокиназа активатор плазминогена (енг. *urokinase plasminogen activator, u-PA*) која се ствара у ћелијама ендотела. Ослобађање *t-PA* стимулишу оклузија ткива, тромбин, епинерфин, вазопресин и напорно вежбање. У одсуству фибрина, *t-PA* је неефикасан као активатор плазминогена, али веома брзо активира плазминоген везан за фибрин. Активан плазмин делује на фибрин и разлаже га на растворљиве фрагменте који се користе за процену *in vivo* активности фибринолитичког система у дијагностици плућне емболије и дубоке венске тромбозе.(20)

Да би се спречила прерана или прекомерна фибринолиза и последично крварење, у плазми постоји α_2 - антиплазмин, главни инхибитор активног плазмина који са плазмином гради неактивни комплекс. Поред α_2 - антиплазмине, за регулацију фибринолизе значајну улогу имају и инхибитори активатора плазминогена *PAI-1*, *PAI-2*, *PAI-3* и протеаза нексин.

PAI-1 је најважнији инхибитор *t-PA* у плазми. Синтетише се у ендотелним ћелијама и налази у вишку у односу на *t-PA*, па се највећи део *t-PA* у циркулацији налази у облику комплекса са *PAI-1*, чиме се спречава прерана деградација фибрина и системска фибринолиза. *PAI-2* се ствара у плаценти и неким туморским ћелијама. Његова физиолошка улога није у потпуности разјашњена, али се сматра да учествује у регулацији протеолизе у неким ткивима и да је један од фактора који је одговоран за прокоагулантно стање у касној трудноћи и постпартално. *TAFI* је проензим који се синтетише у јетри и активира под дејством тромбина. Активан *TAFI* делује инхибиторно на процес фибринолизе тако што инхибира плазмин смањујући афинитет плазминогена за фибрин повећава дејство антитрипсина у инхибицији плазмина.(19)

Плућна тромбоемболија

Епидемиологија

Плућна тромбоемболија (ПТЕ) се дефинише као стање у коме тромбни емболус блокира проток крви кроз неку од артерија у плућном артеријском крвотоку. У 90% случајева, исходиште тромбног емболуса је тромбоза дубоких вена ногу. Заједнички назив за ДВТ и ПТЕ је венски тромбоемболизам (ВТЕ) и представља трећи по учесталости узрок смрти међу кардиоваскуларним болестима. Учесталост ПТЕ у општој популацији је 0,6 – 1 на 1000 људи.(21) Инциденца ВТЕ код старијих од 70 година је три пута већа него код људи у доби 45-69 година, док је и код ових три пута већа у поређењу са људима у доби 20-44 године.(22) Чак 5 - 10% узрока смрти у интрахоспиталним условима је ПТЕ.(23) Рана смртност од масивне ПТЕ (ПТЕ високог ризика) износи и до 30%, док код пацијената који су реанимирани због ПТЕ смртност је и преко 65%. ПТЕ ниског ризика имају смртност око 1%.(21) Потенцијални узроци ВТЕ се деле на транзиторне и перзистентне, и на мале и велике. Фактори ризика за настанак ПТЕ су најчешће интеракција карактеристика пацијената (описују се као стални фактори ризика) и транзиторних фактора утицаја околности у којима се пацијент нашао. Па тако, око 50% ВТЕ је повезано са неким од јаких транзиторних фактора ризика за ВТЕ као што су скорашња хируршка интервенција, траума (најчешће са фрактурама) или хоспитализација због акутног погоршања здравственог стања које имају најмању шансу за рекурентни догађај. На жалост, малигнитет је у порасту у општој популацији и око 20% ВТЕ је удружено са постојањем малигнитета.(24–26) Најчешћи фактори ризика су приказани у Табели 2.

Табела 2: Најчешћи фактори ризика за ВТЕ (27)

<p>Снажни фактори ризика ($OR > 10$)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • прелом кука или ноге • замена кука или колена • велики општи хируршки захват • велика траума • повреда кичмене мождине
<p>Умерени фактори ризика ($OR = 2 - 9$)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • артроскопска операција колена • централни венски катетер • конгестивна срчана слабост • хормонска терапија или контрацептивна терапија • малигнитет • инфламаторна болест црева • паралитички мождани удар • постпартални период • претходни ВТЕ • тромбофилија
<p>Слаби фактори ризика ($OR < 2$)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • лежање у кревету дуже од 3 дана • дуга путовања (дуго седење) • старење • лапароскопска хирургија (холецистектомија) • гојазност • дијабетес мелитус • трудноћа • варикозне вене

OR – *odds ratio* (однос вероватноће догађаја)

Презентација болести

Клиничка слика ПТЕ зависи од величине саме ПТЕ и претходног стања болесника, тј. његове кардио-пулмонарне резерве. У највећем броју случајева пацијенти са ПТЕ се презентују са диспнејом, замарањем, лупањем срца, болом у грудима, и ређе синкопом или хемоптизијама.(28) Хемодинамска нестабилност је присутна у око 10% ПТЕ, али је важан знак повећаног морталитета ових пацијената. У неким случајевима ПТЕ се чак дијагностикује инцидентално, приликом примене компјутеризоване томографије (енг. *computed tomography, CT*) грудног коша код других обољења.

Морталитет

Прогноза ПТЕ зависи од степена опструкције и хемодинамског ефекта ПТЕ, а стратификација пацијената према ризику од ране смрти користи се у савременој клиничкој пракси као основни параметар за одређивање терапије. Према најновијем водичу за дијагнозу и лечење ПТЕ Европског Удружења Кардиолога, пацијенти са плућном емболијом се могу класификовати у једну од четири групе: 1) ПТЕ високог ризика, у коју спадају пацијенти који су хемодинамски нестабилни, хипотензивни са падом систолног крвног притиска испод 90 *mmHg* и знацима значајног оптерећења десне коморе (ДК) срца; 2) ПТЕ интермедијарно-високог ризика, коју чине пацијенти са знацима оптерећења ДК срца, али су још увек у компензованом хемодинамском стању уз повишени кардијални тропонин (*cTn*) у крви; 3) ПТЕ интермедијарно-ниског ризика, у коју спадају нормотензивни пацијенти са објективизованом (ултразвучни и/или скенерски преглед срца са контрастом) дисфункцијом ДК, или позитивним – повишеним кардијалним тропонином у крви, уз симплификовани скор за процену тежине плућне емболије (енг. *simplified Pulmonary Embolism Severity Index, sPESI*) већи од 1; 4) ПТЕ ниског ризика, где спадају хемодинамски стабилни пацијенти без знакова оптерећења ДК срца и повишеног кардијалног тропонина у крви, уз *sPESI* скор 0, а који су кандидати за лечење у кућним условима.(24)

Лечење венског тромбоемболизма

Главни циљеви терапије ВТЕ су заустављање даљег раста угрушка, спречавање формирања нових тромба, спречавање емболизације у плућа, и ограничавање оштећења васкуларног ендотела које води ка развоју посттромботичког синдрома који се јавља код 50% пацијената са ВТЕ (бол, оток, и промена боје захваћеног екстремитета). Хируршко или катетерско уклањање тромба, или употреба тромболитичке терапије се примењују када је локализација и величина тромба таква да угрожава живот. Међутим, за већину пацијената, главна терапија је антикоагулантна терапија. У зависности од стања пацијента и фактора ризика зависи да ли ће пацијент бити хоспитализован приликом увођења антикоагулантне терапије или не уз обавезно праћење због појаве компликација.(24)

Третман ВТЕ се може поделити у три стадијума: акутни, краткорочни и дугорочни. Акутни стадијум обухвата првих 5 - 10 дана након постављања дијагнозе када се пацијентима најчешће дају парентерални антикоагуланси као што су хепарин или хепарини ниске молекулске масе (еноксапарин, надропарин, далтепарин, тинзапарин) и парентерални инхибитор Ха фактора (фондапаринукс). У зависности од тежине болести или других фактора ризика, пацијенти могу бити хоспитализовани током акутне фазе. У последње време, неретко се и у акутној фази лечење одмах започиње са оралним антикоагулансима из групе директних оралних антикоагуланаса, као на пример у случају ПТЕ ниског ризика. Краткорочни стадијум обухвата наредних 3 - 6 месеци када већина пацијената узима оралне антикоагулансе.(24) Експертски водичи предлажу да терапија оралним антикоагулансима траје минимум 3 месеца, али дужина терапије зависи од ризика пацијента да поново развије тромбозу, али и од ризика од крварења. Код пацијената код којих је тромбоза изазвана утицајем привремених, пролазних фактора ризика као што су операције, повреде доњих екстремитета или трудноћа, терапија антикоагулансима се може примењивати 3 месеца док компликованији случајеви захтевају лечење минимум 6 месеци.(24,29,30) Перзистентни фактори као што су урођене тромбофилије и разне хроничне болести могу имати слабији или јачи утицај на понављање ВТЕ. Јаки перзистентни фактори су активна малигна болест и вишеструко позитивни антифосфолипидни синдром који захтевају дугу и снажнију антикоагулантну терапију.

ВТЕ је болест са високим степеном рекурентности (20% - 25% пацијената ће поново развити венску тромбозу у периоду од 5 година). ВТЕ са непознатим узроком имају значајно високу рекуренцу. Због тога се препоручује период дугорочног лечења за већину болесника са ВТЕ непознатог узрока. Пацијенти који су већ имали ВТЕ, тј. добили су други или следећи понављајући догађај су за доживотну антикоагулатну терапију. Корист од тога мора бити избалансирана са проценом ризика од крварења као компликацијом антикоагулантне терапије.

На основу великих рандомизованих студија које су спроведене код пацијената са ВТЕ, (*RECOVER* студије I и II, *EINSTEIN DVT* и *EINSTEIN PE*, *EINSTEIN Extension* и *EINSTEIN Choice*, *AMPLIFY* и *AMPLIFY-EXT*) показано је да су ДОАК најмање једнако ефикасни у превенцији рекурентних ВТЕ догађаја, а да су безбеднији од витамин К антагониста, тако да су препоручени као прва линија лечења пацијената са ВТЕ (након иницијалног лечења парентералном терапијом) у случају да пацијенти немају тежи степен бубрежне инсуфицијенције.(31–37)

Лекови у терапији тромбоза

Лекови који се користе у терапији тромбоза обухватају антикоагулансе, антиагрегационе лекове и фибринолитике. Антиагрегациони лекови (ацетилсалицилна киселина, клопидогрел, прасугрел, тикагрелор и сл.) и фибринолитици (стрептокиназа, урокиназа, алтеплаза, тенектеплаза) користе се у терапији артеријских тромбоза док су антикоагуланси лекови који се претежно користе у терапији венских тромбоза али је њихова примена индикована и у терапији неких болесника са артеријским тромбозама.

Антикоагуланси

Антикоагуланси су лекови који се више од 70 година користе за спречавање формирања или раста тромба у венској циркулацији док су мање ефикасни за третман артеријских тромба који су претежно сачињени од тромбоцита. Они делују инхибиторно на процес коагулације крви у циљу превенције и лечења тромбозе. Профилактичка и терапијска примена антикоагулантне терапије укључују бројна стања као што су ДВТ, ПТЕ, исхемијски мождани удар, атријална фибрилација, инфаркт миокарда, хиперкоагулабилна стања и сл. Употреба антикоагуланаса захтева посебан опрез с обзиром на велики ризик од појаве крварења као главног нежељеног ефекта, тако да се и развој нових лекова креће у смеру смањења ризика од крварења, а повећања ефикасности. Не постоји антикоагуланс који смањује ризик од развоја тромбозе без истовременог ризика од крварења. Могуће је да ће нови инхибитори XIa фактора коагулације имати антикоагулантни ефекат без повећања ризика за крварење.(38) Одлука о примени антикоагулантног лека се заснива на процени да ли је ризик за развој тромбозе и њених компликација већи од ризика од крварења и могућих компликација код сваког пацијента индивидуално. Антикоагулантни лекови се могу поделити на парентералне антикоагулансе (хепарин, хепарини ниске молекулске масе, фондапаринух, бивалирудин, данапароид, аргатробан) и оралне антикоагулансе (антагонисти витамина К и директни орални антикоагуланси).

Парентерални антикоагуланси

Хепарин (енг. *Unfractionated heparin, UFH*) делује тако што се везује за АТ и повећава његову активност. Антитромбин је пептид који инхибира фактор Ха и тромбин (фактор Па).(39) Индикуван је у одређеним фазама за профилаксу и терапију ВТЕ, акутног коронарног синдрома, атријалне фибрилације, за превенцију ВТЕ након хируршких интервенција и код интернистичких болесника и дисеминоване интраваскуларне коагулације. Хепарини се могу примењивати субкутано, у облику болус интравенских ињекција, а у терапији у облику континуиране интравенске инфузије. Ефекте остварује готово моментално, посебно када се даје у облику интравенске инфузије, што му уз кратко полувреме елиминације (1 - 2 сата) омогућава примену код пацијената са високим ризиком од крварења с обзиром да антикоагулантни ефекат престаје брзо по прекиду инфузије.

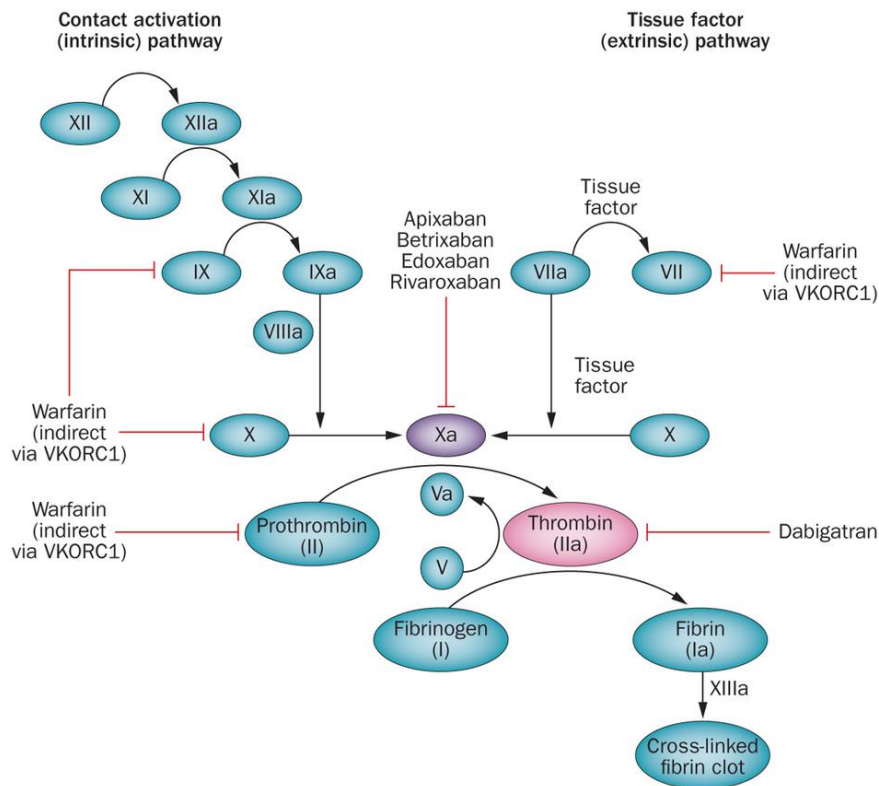
Хеморагија је најозбиљнији нежељени ефекат код пацијената који примају хепарин и може бити фатална. Као антидот користи се протамин-сулфат. Поред хеморагије, као озбиљан нежељени ефекат може се јавити и хепарином индукована тромбоцитопенија.(40)

Нискомолекуларни хепарини (енг. *Low molecular weight heparin, LMWH*) као што су далтепарин, надропарин, еноксапарин и тинзапарин имају исту ефикасност као и нефракционисани хепарин али мањи ризик од хепарином индуковане тромбоцитопеније. Они се, као и хепарин, везују за АТ, и доминантно инхибирају активност фактора Ха, и у мањој мери активност тромбина. У поређењу са хепарином, *LMWH* имају дуже полувреме елиминације (3 - 4 сата) па су зато погоднији за превенцију и третман ВТЕ. Ови лекови се метаболишу преко бубрега, тако да се њихово антикоагулантно дејство значајно повећава код бубрежне инсуфицијенције. Осим тога, протамин-сулфат значајно слабије инхибира дејство нискомолекуларних хепарина од нефракционисаног хепарина. Као и код нефракционисаног хепарина, акутна хеморагија је најозбиљнији нежељени ефекат код пацијената који примају *LMWH*.(41,42)

Поред хепарина и нискомолекуларних хепарина, у употреби су и други парентерални антикоагуланси, хирудини (десирудин, лепирудин и бивалирудин), који су директни парентерални инхибитори тромбина, као и фондапаринукс који је инхибитор фактора Ха.

Орални антикоагуланси

Дуги низ година су антагонисти витамина К, као што је варфарин, били једини доступни орални антикоагуланси за хуману употребу. Међутим, због великог ризика од крварења као и због потребе за честим мониторингом, јавила се потреба за развојем нових антикоагулантних лекова. Тако су настали лекови који су директни инхибитори тромбина (дабигатран) или инхибитори фактора Ха (апиксабан и ривароксабан) који имају специфично место деловања у коагулационој каскади (Слика 3).



Слика 3. Места деловања варфарина и директних оралних антикоагуланаса у коагулационој каскади (слика преузета из Sabir I et al. Oral anticoagulants for Asian patients with atrial fibrillation. Nat Rev Cardiol 2014. doi:10.1038/nrcardio.2014.22)

Антагонисти витамина К

Антагонисти витамина К као што су кумарински деривати (варфарин и аценокумарол) и фениндиони, делују тако што блокирају витамин К-епоксид редуктазу спречавајући формирање активних облика витамин К зависних фактора коагулације у јетри (II, VII, IX и X).(43,44)

Варфарин се брзо ресорбује из гастронтестиналног тракта и максималне концентрације у плазми достиже за око 90 минута. Полувреме елиминације варфарина износи 36 - 42 сата, а метаболизам се доминантно одвија у јетри под дејством цитохром П450 ензима.(43,44) Варфарин показује интеракције са великим бројем лекова, храном (посебно храна богата витамином К) и дијететским суплементима. Бројни лекови као што су амјодарон, анаболички стероиди, цефалоспорини, еритромицин, кетоконазол, метронидазол, тироксин, триметоприм, орални флуорохинолони, витамин Е, нестероидни

антиинфламаторни лекови, потенцирају његов антикоагулантни ефекат, док барбитурати, карбамазепин, пеницилин, рифампицин и алкохол смањују антикоагулантни ефекат варфарина.(45,46) Терапија варфарином захтева стално лабораторијско праћење *PT*-а. Код хоспитализованих пацијената, *PT* се прати свакодневно док се не постигне терапијски опсег (енг. *international normalised ratio, INR 2-3*), док се код нехоспитализованих пацијената *PT* одређује на неколико дана док се не постигну стабилне терапијске вредности када се мониторинг *PT* -а може радити на 2 - 4 недеље.

Директни орални антикоагуланси

Дабигатран етексилат, ривароксабан и апиксабан, једини регистровани директни орални антикоагуланси у Србији, раније су били познати под заједничким називом нови орални антикоагуланси (енг. *novel oral anticoagulants, NOAC*) и таргет-специфични антикоагуланси (енг. *target specific oral anticoagulants, TSOAC*). Данас се најчешће називају директним оралним антикоагулансима (ДОАК) зато што за испољавање дејства на молекуле у коагулационој каскади не захтевају кофакторе. Иако је дабигатран први одобрен за употребу, ривароксабан је први директни орални антикоагуланс одобрен за третман венске тромбоемболије 2012. године, а затим апиксабан и дабигатран 2014. године. Главна предност директних оралних антикоагуланаса у односу на конвенционалну терапију варфарином је предвидљивија фармакокинетика и мање интеракција са другим лековима. За разлику од варфарина чија примена захтева често лабораторијско праћење и прилагођавање дозе, код примене ових лекова нема потребе за сталним лабораторијским праћењем и дозе су стабилне чиме је третман значајно поједностављен.(47) Синтезом ДОАК-а омогућена је примена фиксних доза лека без сталног терапијског мониторинга.

Директни орални антикоагуланси се могу поделити у две групе: директни инхибитори тромбина (енг. *direct thrombin infibitors, DTIs*) и инхибитори фактора Ха. Дабигатран је једини директан инхибитор тромбина. Тромбин је кофактор који омогућава конверзију фибриногена у фибрин, што представља први корак у формирању тромба у процесу коагулације. Инхибицијом тромбина, превенира се настанак тромбозе. Орални инхибитори фактора Ха, ривароксабан и апиксабан, делују раније у коагулационој каскади. Фактор Ха је неопходан за синтезу тромбина, тако да његовом инхибицијом

директно ће се смањити продукција тромбина, а индиректно тромбином индукована агрегација тромбоцита.(47)

Дабигатран етексилат

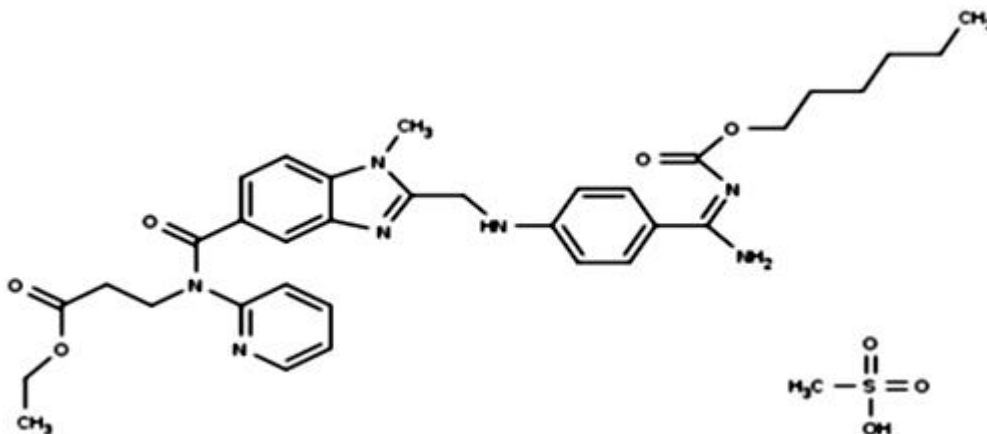
Дабигатран етексилат је први орални антикоагуланс одобрен за употребу у Сједињеним америчким државама након што је варфарин, као једини антикоагуланс био у употреби више од 60 година. Дабигатран је 2010. године одобрен за примену у циљу смањења ризика од можданог удара и системске емболије код пацијената са невалвуларном атријалном фибрилацијом. Касније је одобрен за третман дубоке венске тромбозе и плућне тромбоемболије код пацијената који су већ 5 до 10 дана на терапији парентералним антикоагулансима, као и за смањење ризика од поновне појаве дубоке венске тромбозе и плућне емболије.(32,48,49)

Уобичајена доза за лечење ВТЕ је 150 *mg* два пута дневно, након што је претходно 5-7 дана терапија започета парентералним антикоагулансом (хепарином или *LMWH*). Ниже дозе дабигатрана нису адекватно тестиране у овој индикацији.

Хемијска структура

Сам дабигатран је високо поларизован, хидрофилни молекул који се не ресорбује унет оралним путем па је због тога формулисан липофилни пролек дабигатран-етексилат чија је апсорпција повећана у киселој средини (Слика 4). Због тога капсула садржи пелете дабигатран етексилата са језгром од тартарне киселине. Дабигатран етексилат је једињење молекулске формуле $C_{34}H_{41}N_7O_5$ (*heksil 2-(4-(((5-((3-etoksi-3-oksopropil)(piridin-2-il)karbamoil)-1-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)metil)amino)benziliden)hidrazinkarboksilat*) и одговарајуће молекулске масе 627.7 *g/mol*.

Биорасположивост такве формулације је свега 6,5% али уколико се капсула отвори, смрви или жваће биорасположивост расте на 75%, што може довести до брзе апсорпције и пораста серумских нивоа лека.(48,50,51)



Слика 4. Хемијска структура дабигатран етексилата

Фармакокинетика

Апсорпција дабигатрана одвија се преко П-гликопротеина (П-гп) као транспортера који се налази у многим ткивима, укључујући и танко црево. Супстрати за П-гп се испумпавају из зида интестинума назад у лумен гастроинтестиналног тракта, смањујући апсорпцију лека. Лекови који су индуктори П-гп ће додатно смањити апсорпцију, а инхибитори ће повећати ниво супстрата у серуму.(52) Зато, избегавање истовремене употребе инхибитора или индуктора П-гп са дабигатраном је важно за смањење ризика од озбиљних нежељених појава или неуспеха терапије. Пацијенти чији је клиренс креатинина ($CrCl$) < 50 ml/min би требало да избегавају истовремену употребу дабигатрана и инхибитора П-гп, без обзира да ли су то слаби или јаки инхибитори.(47,48)

Дабигатран етексилат подлеже брзој хидролизи до активног метаболита дабигатрана који постиже максималне концентрације у плазми у року од 1,5 до 3 сата након примене, а стање равнотеже после отприлике три дана континуираног дозирања. Бубрежна екскреција дабигатрана чини око 80% укупне елиминације лека. Код здравих волонтера, полуживот елиминације дабигатрана је 12 - 17 сати док је код пацијената са реналном дисфункцијом оно продужено и значајно продужава изложеност активном леку што се исказује преко површине испод криве (ПИК). Пацијенти са умереном реналном дисфункцијом ($CrCl$ 30-50 ml/min) имају полувреме елиминације 18 сати и 3,2 пута

повећање ПИК-а, док пацијенти са тешком реналном дисфункцијом ($CrCl$ 15-30 ml/min) имају полувреме елиминације 28 сати и 6,3 пута повећање ПИК.(47,48)

Не постоје значајне разлике у фармакокинетици дабигатрана у односу на пол, године, расу или екстремну телесну масу. Препоручена доза за лечење венске тромбоемболије је 150 mg два пута дневно, а пацијенти са клиренсом креатинина $CrCl < 30 ml/min$ не смеју да узимају овај лек.(47,48)

Механизам дејства

Дабигатран је потентан, специфичан, директан инхибитор слободног тромбина и тромбина везаног за фибрин као и агрегације тромбоцита индуковане тромбином.(48,53) Способност дабигатрана да инхибира тромбин везан за фибрин је једна од предности дабигатрана у односу на хепарин јер везани тромбин може да настави ширење тромба.(54) Инхибицијом тромбина, дабигатран спречава претварање фибриногена у фибрин, умрежавање мономера фибрина, активацију тромбоцита и инхибицију фибринолизе.

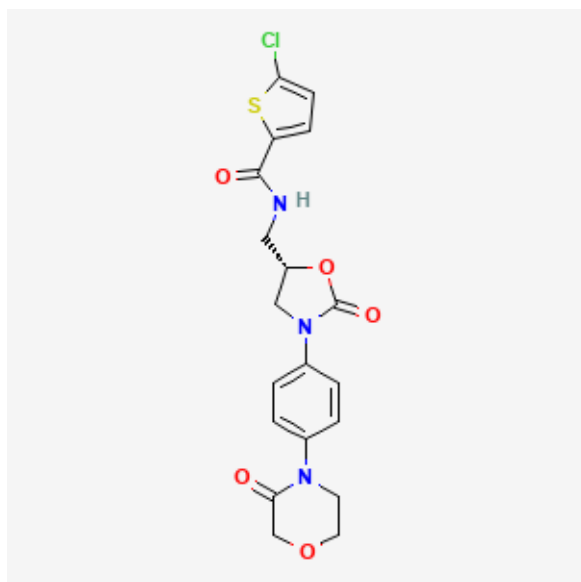
Ривароксабан

Ривароксабан се користи за превенцију мозданог удара и системске емболије код одраслих пацијената са невалвуларном атријалном фибрилацијом. Индикацију за оралну антикоагулантну терапију у превенцији мозданог удара код болесника са атријалном фибрилацијом имају мушкарци са *CHADS2VA2Sc* скором 1 и више и жене са скором 2 и више.(55) Користи се и за превенцију и третман дубоке венске тромбозе и плућне тромбоемболије, а према новим препорукама, ДОАК имају предност у односу на витамин К антагонисте у обе индикације.(24,55,56)

Препоручена доза за лечење венског тромбоемболизма је 15 *mg* два пута дневно у првих 21 дан, а потом 20 *mg* једанпут дневно до краја лечења.(56) Након лечења и по истеку најмање шест месеци секундарне профилаксе на пуној дози, дуготрајна профилакса ВТЕ се може наставити са редукованом дозом 10 *mg* једанпут дневно.(24)

Хемијска структура

Ривароксабан је једињење молекулске формуле $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ ((*S*)-5-*hloro-N*-{[2-*okso-3-[4-(3-oksomorfolino-4-il)fenil] oksazolidin-5-il] metil}tiofen-2-karboksamid*) и одговарајуће молекулске масе 435.9 *g/mol* (Слика 5).



Слика 5. Хемијска структура ривароксабана

Фармакокинетика

Ривароксабан се брзо ресорбује са максималном концентрацијом у плазми која се постиже 2 – 4 сата после уноса таблете. Лек се може сломити при примени уколико је неопходно.(56)

Ривароксабан показује дозно зависну биорасположивост на коју утиче присуство хране. При нижим дозама (2,5 mg и 10 mg), биорасположивост је 80% до 100%, и лек се може узети без обзира на време оброка. При вишим дозама (15 mg и 20 mg), биорасположивост је 66% на празан желудац, а већа од 80% у присуству хране. Због тога, веће дозе треба узети са главним obroком како би се обезбедио адекватан ниво лека у серуму.(56)

Фармакокинетика ривароксабана је приближно линеарна до око 15 mg једном дневно у условима гладовања. Са уносом хране таблете од 10 mg, 15 mg и 20 mg су показале пропорционалност дози. У већим дозама, ресорпција ривароксабана је ограничена брзином растварања таблете, смањеном биорасположивошћу и смањењем брзине ресорпције како доза расте.(56)

Приближно 2/3 унете дозе ривароксабана подлеже метаболичкој разградњи, половина насталих метаболита се елиминише путем бубрега, а друга половина путем фецеса. Преостала 1/3 унете дозе лека излучује се путем бубрега, у неизмењеном облику који се може наћи у урину, претежно као последица тубуларне екскреције.(56)

Ривароксабан се метаболише преко *CYP3A4*, *CYP2J2* и *CYP*-независних механизма. Главни путеви биотрансформације су оксидација морфолинског дела молекула и хидролиза амидних веза. Ривароксабан је и супстрат за транспортни протеин П-гп и карцином дојке-резистентни протеин (енг. *breast cancer resistance protein, BCRP*). (56)

Лекови који су инхибитори П гп и *CYP3A4* могу повећати серумски ниво ривароксабана до токсичних нивоа. Исто тако, истовремена употреба индуктора ових ензима може довести до недовољне концентрације ривароксабана у серуму и до неуспеха терапије. Употребу кетоконазола, итраконазола, лопинавира, ритонавира, карбамазепина, фенитоина и рифампина би требало избегавати код пацијената који добијају ривароксабан. Код младих волонтера, уочено је да је полувреме елиминације 5 – 9 сати док се код старијих

пацијената повећава на 11 - 13 сати. Ривароксабан би требало избегавати у превенцији венског тромбоемболизма код пацијената са $CrCl < 30 \text{ ml/min}$. (47,56)

Није забележена значајна акумулација ривароксабана при вишеструком дозирању код здравих одраслих особа и не постоје значајне разлике у фармакокинетици ривароксабана у односу на пол, године, расу или прекомерну телесну масу.(56–58)

Механизам дејства

Ривароксабан је високоселективан директни инхибитор фактора Ха, слободног у плазми, везаног за угрушак или у оквиру протромбиназа комплекса чиме се инхибира и унутрашњи и спољашњи пут коагулације крви, инхибирајући и стварање тромбина и формирање тромба.(56)

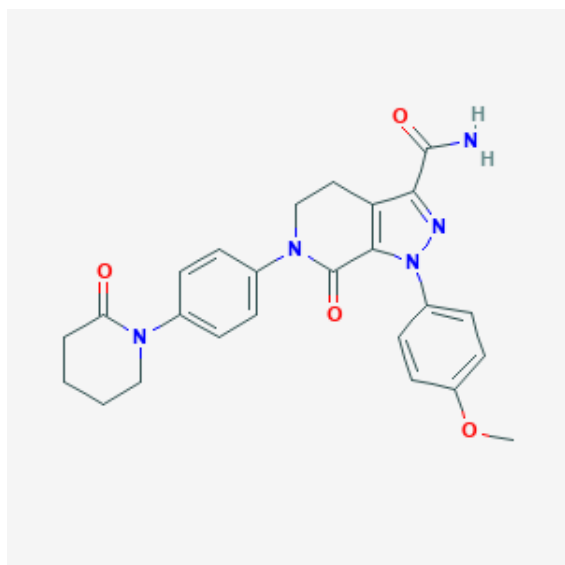
Апиксабан

Америчка агенција за храну и лекове (енг. *Food and drug administration, FDA*) је 2012. године одобрила примену апиксабана у превенцији можданог удара и системске емболије код пацијената са атријалном фибрилацијом, а 2014. године за третман и профилаксу венске тромбоемболије.(59)

Уобичајена доза за лечење ВТЕ је 10 mg два пута дневно, током првих 7 дана, а затим 5 mg два пута дневно до краја лечења. Након лечења и по истеку најмање шест месеци секундарне профилаксе на пуној дози, дуготрајна профилакса ВТЕ се може наставити са дозом 2,5 mg два пута дневно. (24,47,59)

Хемијска структура

Апиксабан је једињење молекулске формуле $C_{25}H_{25}N_5O_4$ (*1-(4-metoksifenil)-7-okso-6-[4-(2-okso-piperidin-1-fenil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-pirazolo[3,4-c]piridin-3-karboksamid*) и одговарајуће молекулске масе 459,5 g/mol. Постоји као бели до бледо жути кристални прах, са растворљивошћу у води 0,028 mg/ml и подеоним коефицијентом 44,7 ($\log P_{o/w} = 1,65$) при pH 7,4 (*n*-октанол/водени пуфер) на 24°C. Молекул нема хиралне центре па тиме ни стереоизомере (Слика 6).(60)



Слика 6. Хемијска структура апиксабана (преузето са сајта www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

Фармакокинетика

Апиксабан се брзо ресорбује након оралног уноса, а максималне концентрације у плазми достиже након 3 - 4 сата. Биорасположивост апиксабана не зависи од уноса хране и износи 50% због некомплетне ресорпције и ефекта првог проласка кроз јетру. Највећим делом се апсорбује у танком цреву и асцедентном колону који учествују са око 55% укупне апсорпције. Апиксабан показује линеарну дозно-зависну фармакокинетичку приликом примене дозе од 10 mg. За дозе до 25 mg, показује слабију апсорпцију због смањене растворљивости, а тиме и биорасположивост лека. Полувреме елиминације апиксабана код здравих добровољаца износи 8 - 14 сати.(61,62)

У плазми се доминантно везује за албумин (око 85%), а везивање за протеине плазме је непромењено код пацијената са бубрежном инсуфицијенцијом ($CrCl < 15 \text{ ml/min}$) или благом до умереном инсуфицијенцијом јетре.(60,63,64) Волумен дистрибуције апиксабана износи око 21 L и апиксабан се равномерно дистрибуира између плазме и еритроцита.(59,65) Укупни плазма клиренс износи око 3,3 L/h док је ренални клиренс око 0,9 L/h (близу 27% укупног клиренса).

Метаболизам апиксабана одвија се у јетри, а део лека се као непромењен екскретује жучним и реналним путем.(66,67) Апиксабан се метаболише О-деметилацијом, хидроксилацијом и сулфатацијом хидроксилованог О-дезметил метаболита посредством цитохром П450 ензима (*CYP3A4/5*), а у мањој мери преко *CYP1A2*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19* и *CYP2J2*. Поред *CYP3A4/5*, апиксабан је и супстрат за транспортер П-гп па уколико се заједно са апиксабаном у дози од 5 mg и 10 mg узима неки од снажних инхибитора П-гп и *CYP3A4* (кетоназол, итраконазол, лопинавир, ритонавир, индинавир), препоручује се смањење дозе за 50%. Пацијентима који апиксабан узимају у дози од 2,5 mg се не саветује истовремена примена са овим лековима. Истовремену примену снажних индуктора П-гп и *CYP3A4* (карбамазепин, фенитоин, рифампин) са апиксабаном, треба избегавати код свих пацијената, без обзира на примењену дозу апиксабана.(47,59,68)

Механизам дејства

Апиксабан је директни орални, реверзибилни и високоселективни инхибитор фактора Ха, било да је слободан у плазми, везан за угрушак или је део протромбиназа

комплекса.(69,70) Инхибицијом фактора Ха, апиксабан смањује продукцију тромбина и развој тромба, као и агрегацију тромбоцита индуковану тромбином, што указује да се може користити у лечењу венске али може имати ефеката и код артеријске тромбозе.(65) Главни циркулишући метаболит апиксабана, О-дезметил апиксабан не показује инхибиторну активност према фактору Ха.

Лабораторијско праћење ДОАК-а

Терапијско праћење лека (енг. *therapeutic drug monitoring, TDM*) представља мерење концентрације лека у биолошким узорцима пацијената који су на терапији тим леком. Разлози за терапијско праћење лека су бројни, а међу најзначајнијим су побољшање ефеката терапије и смањивање појаве токсичних ефеката који се могу јавити као последица варијације у концентрацији лека у крви, промена у фармакокинетици лека услед постојања коморбидитета или уколико је неопходно да пацијент узима и друге лекове који утичу на фармакокинетику ДОАК-а. Узимајући у обзир да су лекови из групе ДОАК-а у употреби свега нешто више од 10 година, нема довољно клиничких података о токсичности ових лекова, а интензивно се ради и на проширењу индикација за примену. С обзиром да ови лекови пролазе плацентарну баријеру и да се излучују у млеко, контраиндикована је њихова примена у трудноћи и код дојиља. Иако су предвидива фармакокинетика, слаба интеракција са другим лековима и смањена потреба за сталним лабораторијским мониторингом главне предности ДОАК-а у односу на антагонисте витамина К, не постоји антикоагуланс који смањује ризик од развоја тромбозе без истовременог ризика од крварења. Такође, велика интер-индивидуална варијабилност у фармакодинамици и фармакокинетици (транспорт и метаболизам) ових лекова, једним делом се може објаснити полиморфношћу гена чији продукти учествују у овим процесима. У клиничкој пракси, познавање фармакогенетике лека може помоћи при избору одговарајућег ДОАК-а у зависности од карактеристика сваког пацијента тако да се сведе на минимум ризик од крварења и тромбоемболијског догађаја али и искључити евентуална резистенција на терапију или токсичност.(71,72) Такође, студије показују да 30% пацијената који су на терапији неким од ДОАК-а истовремено добијају бар један од лекова који су инхибитори или индуктори *CYP3A* и П-гп.(73–78) У упутствима за употребу лека саветује се избегавање истовремене примене ових лекова са снажним инхибиторима *CYP3A* и П-гп, али тренутно нема водича за истовремену примену ових лекова са благим или умереним модулаторима *CYP3A* и П-гп.

У ситуацијама као што су предозирање, изненадна крварења, припрема за хитну операцију, процена комплијансе, евалуација интеракције лекова, или процена акумулације лека у случају бубрежне или хепатичне инсуфицијенције, доказивање и одређивање

ДОАК-а у крви пацијента је од велике користи лекару. Нису ретке ни ситуације да лекар нема информацију који антикоагуланс пацијент користи у терапији, нити да ли се уопште ради о неком од лекова из групе ДОАК-а.(79) Због ограничености података из клиничке праксе подаци о токсичним концентрацијама нису доступни, а у литератури се наводи опсег терапијских концентрација у плазми за сва три лека од 20 *ng/ml* до 500 *ng/ml*.(36,80–83)

Аналитичке методе за одређивање ДОАК-а

Терапијски мониторинг лекова из групе ДОАК-а представља важан сегмент за праћење терапијских и токсичних ефеката. За процену антикоагулантног ефеката и дозирања пацијената доступни су конвенционални тестови коагулације, а пораст вредности ових маркера указује на активност антикоагуланса у организму. Они се међутим, не могу користити за предвиђање нивоа лека у плазми пацијената.(47)

Идеалан лабораторијски тест је јефтин, брз, доступан и тачан. Конвенционални тестови хемостазе су јефтине, лако доступни и брзи али се не могу користити за квантификацију ДОАК-а у плазми која је неопходна у одређеним клиничким ситуацијама.(79) Специфичне аналитичке методе које се користе у ове сврхе нису лако доступне и захтевају скупу опрему и обучен и квалификован кадар што су и разлози због којих ове методе нису још увек у рутинској употреби.

Течна хроматографија са тандем масеном детекцијом (енг. *liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS*) представља једну од најосетљивијих и високоспецифичних аналитичких метода за детекцију, идентификацију и квантификацију анализираних једињења и представља златни стандард за доказивање и квантификацију ДОАК-а у биолошким узорцима.(84) Течна хроматографија (енг. *liquid chromatography, LC*) је сепарациона аналитичка техника која се користи за раздвајање супстанци из смеше на основу различитих афинитета испитиваних супстанци између две фазе: мобилне и стационарне. Мобилна фаза је течност, док је стационарна фаза чврста или течна фиксирана на аналитичкој колони. Након раздвајања на одговарајућој хроматографској колони, елуирани аналити у струји мобилне фазе доспевају до детектора (масени

спектрометар). Масена спектрометрија (енг. *mass spectrometry, MS*) је аналитичка техника која се заснива на раздвајању јонизованих атома или молекула у гасовитој фази према њиховом односу масе и наелектрисања (m/z). Јонизацијом анализата формирају се карактеристични јони атома и молекула или групе јона који представљају фрагменте јонизованих молекула. Јони се раздвајају под дејством магнетног и/или електричног поља у високом вакуму (обично 10 - 5 Pa) и графички бележе у виду масеног спектра као релативни интензитет односа m/z сваког јона са временом. Поређењем добијеног масеног спектра са спектрима аналитичких стандарда или библиотеком спектра који су снимљени под истим условима, врши се анализа фрагмената који потичу од анализата. За постизање високе селективности и специфичности методе постоји и могућност да се јони који излазе из једног масеног спектрометра усмере на фрагментацију у следећи масени спектрометар - тандем масена детекција (*MS/MS*).⁽⁸⁵⁾ Предности ове аналитичке технике су у томе што на резултате не утичу варијације у нивоима фактора коагулације, присуство лупус антикоагуланса, активних метаболита лека или преаналитички фактори који утичу на многе тестове коагулације. Ипак, *LC-MS/MS* је недоступна у већини лабораторија због високе цене опреме и недостатка квалификованог кадра за рад таквим аналитичким техникама.

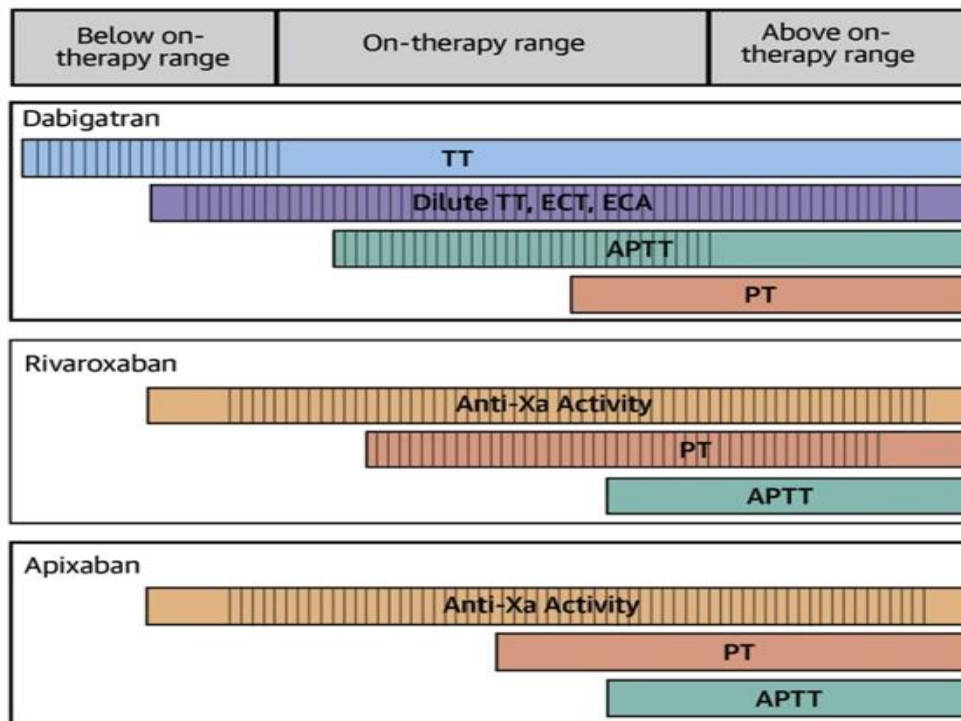
Конвенционални тестови хемостазе

Два најчешћа питања која клиничари постављају код пацијената који су на терапији неким од ДОАК-а, је да ли је лек присутан и у којој концентрацији. С обзиром да у већини клиничких лабораторија прецизно одређивање концентрације ДОАК-а није могуће, употреба конвенционалних тестова хемостазе за процену нивоа лека и/или ефекта може бити од помоћи. Конвенционални тестови хемостазе нису подједнако осетљиви на различите ДОАК-е и њихове различите концентрације у плазми. Тест *aPTT* је значајно осетљивији на антикоагулантне ефекте дабигатрана него ривароксабана или апиксабана код којих је *aPTT* повишен само у случају предозирања. У зависности од осетљивости самог реагенса за *aPTT* тест, резултат у оквиру референтних вредности указује на ниске концентрације или одсуство дабигатрана у крви док повишене вредности *aPTT*-а указују на ниво дабигатрана унутар или изнад терапијских концентрација лека у крви. Међутим, вредности *aPTT* теста нису специфичне за дабигатран и могу бити повишене у стањима дефицијенције неког од фактора коагулације или код присуства лупус антикоагуланса.

Слично је и са вредностима *PT*-а чија се вредност значајно разликује од врсте ДОАК-а.(86,87) Такође, вредности *INR*-а не треба користити за процену ефекта лека пацијената који су на неком од ДОАК-а зато што вредности интернационалног индекса осетљивости (енг. *international sensitivity index, ISI*) који се користи за прерачунавање *INR*-а, зависе од осетљивости реагенса према витамин К зависним факторима коагулације, а не према ДОАК-има.

Тромбинско време (енг. *thrombin time, TT*) или дилуционо тромбинско време (енг. *diluted thrombin time, dTT*) су тестови који су врло осетљиви на ефекте дабигатрана, те стога могу бити повишени и при врло ниским концентрацијама. Нормалне вредности *TT* код пацијената који примају дабигатран са високом осетљивошћу искључују присуство лека па се тај тест може користити за поуздану процену присуства дабигатрана у крви пацијената.(88)

Као усвојени конвенционални тест за мерење антикоагулантог ефекта ривароксабана и апиксабана је анти-Ха тест. Вредности анти-Ха теста испод лимита квантификације (енг. *limit of quantification, LOQ*) указују на одсуство инхибитора фактора Ха. Хепарином калибрисан анти-Ха тест показује бољу осетљивост у односу на *LMWH*-ом калибрисан анти-Ха тест према ривароксабану и апиксабану па се овај тест може користити за процену да ли је пацијент на терапији антикоагулантним лековима који су инхибитори фактора Ха (Слика 7).(89,90) Најбољу осетљивост према ривароксабану и апиксабану показује анти-Ха тест калибрисан управо ривароксабаном или апиксабаном.



Слика 7. Сензитивност и линеарност коагулационих тестова за субтерапијске, терапијске и супратерапијске концентрације дабигатрана, ривароксабана и аписабана (слика је преузета из Cuker A et al. Laboratory measurement of the anticoagulant activity of the Non-Vitamin K Oral Anticoagulants. doi: 10.1016/j.jacc.2014.05.065)

Иако је познат механизам дејства ДОАК-а, није познато како они утичу на друге компоненте у коагулационој каскади кроз директни или индиректни однос са циљним фактором који инхибирају (анти-Ха или тромбин). Боље упознавање утицаја ДОАК-а на све елементе коагулационог система може нас временом довести до одговора да ли је неки међу ДОАК-има безбеднији или ефикаснији.

ХИПОТЕЗЕ И ЦИЉЕВИ

ХИПОТЕЗЕ

1. Нулта хипотеза: Не постоји разлика у ефективности између испитивана три ДОАК-а у односу на активности појединих фактора коагулационе каскаде (фактор II, фактор VII, фактор VIII и фибриноген), и антикоагулационих протеина (антитромбина и протеина Ц) након месец дана стабилне терапије директним оралним антикоагулансима (дабигатраном, ривароксабаном и апиксабаном) код пацијената са плућном тромбоемболијом.

2. Нулта хипотеза: Не постоји разлика у ефективности између испитивана три ДОАК-а у односу на концентрацију Д-димера или анти-Ха активност (само за пацијенте на терапији ривароксабаном и апиксабаном) након месец дана стабилне терапије директним оралним антикоагулансима код пацијената са плућном тромбоемболијом.

ЦИЉЕВИ

- Користећи се основним демографским карактеристикама, факторима ризика за кардиоваскуларна обољења и лабораторијским параметрима на пријему у болницу, статистички проценити постојање разлика између група пацијената у које су сврстани у зависности који ДОАК добијају.

- Након месец дана стабилне терапије са једним од ДОАК-а, у фази очекиване најниже концентрације лека, одредити активност фактора коагулације: II, VII, VIII, као и протеина Ц, антитромбина, потом концентрације фибриногена и Д-димера. Такође одредити и анти-Ха активност код пацијената који су лечени апиксабаном и ривароксабаном.

- Статистички упоредити вредности добијених зависних варијабли између три групе пацијената и на тај начин утврдити да ли постоје разлике које би објасниле, или указале на различит антикоагулантни или хемостатски потенцијал ДОАК-а, а посебно оних са истим механизмом дејства.

- Претрагом доступне литературе упоредити добијене резултате са резултатима других студија и објаснити различити утицај ДОАК-а на факторе коагулационе каскаде са посебним освртом на клинички значај добијених резултата.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДЕ

У овој клиничкој ретроспективној и делом проспективној студији, праћени су консекутивни пацијенти са ПТЕ који су лечени у Клиници за ургентну интерну медицину Војномедицинске академије, у периоду од новембра 2014. до краја 2021. године. Дијагноза и лечење ПТЕ спроведени су према водичу за плућну емболију Европског удружења кардиолога из 2014. и 2019. године, и према смерницама добре клиничке праксе, поштујући и саме болничке протоколе.(24,91) Након пријема на Клинику за ургентну интерну медицину пацијентима су узети анамнестички и хетероанамнестички подаци од чланова породице или доступне медицинске документације на основу којих су добијени неопходни демографски и медицински подаци о придруженим коморбидитетима. На самом пријему пацијентима је из кубиталне вене узимана крв за хитне лабораторијске анализе, а узорци крви за одређивање креатинина, натриуретичног пептида (енг. *B-type natriuretic protein, BNP*) и Ц - реактивног протеина, сакупљани су наредног јутра. У оквиру хитних лабораторијских анализа рађени су комплетна крвна слика са леукоцитарном формулом и основни биохемијски параметри (гликемија, уреа, креатинин, електролити), као и Д-димер и одређивање активности кардиоспецифичних маркера (обавезно тропонин). Наведени лабораторијски параметри су део редовних лабораторијских анализа према болничком протоколу за дијагностику и лечење ПТЕ, па није било потребно прибављање посебног информисаног пристанка пацијента. Систолни притисак десне коморе одређиван је трансторакалном ехокардиографијом. Након иницијалног лечења акутне плућне емболије, пацијенти су распоређивани у једну од три групе, у зависности од врсте ДОАК-а који добијају у даљој терапији: апиксабан, ривароксабан или дабигатран. Сви пацијенти који су укључени у ову студију нису претходно били на антикоагулантној терапији. Искључујући фактори за улазак у студију били су присуство малигне болести, или било које инфламаторне или аутоимуне болести, као и пацијенти чија је гломеруларна филтрација испод 50 ml/min . Бубрежна функција је процењивана на основу брзине гломеруларне филтрације која је израчунавана преко *Cockcroft-Gault* једначине: $CrCl$ (мушкарци) = $([140 - \text{године живота}] \times \text{телесна маса у кг}) / (\text{серумски креатинин} \times 72)$; $CrCl$ (жене) = $CrCl$ (мушкарци) $\times 0,85$. Остали искључујући

критеријуми били су симптоматска рекурентна плућна емболија, клинички значајно крварење или уколико је било потребно променити дозу или врсту антикогуланса током контролног периода.

Сва три ДОАК-а, коришћена у студији, прописивана су у препорученој дози за плућну тромбоемболију: апиксабан 10 *mg* два пута дневно првих 7 дана, а затим 5 *mg* два пута дневно; ривароксабан 15 *mg* два пута дневно првих 21 дан, а затим 20 *mg* једном дневно; дабигатран 150 *mg* два пута дневно. Терапија је започета најмање трећег до петог дана од пријема у болницу након претходне примене хепарина (било нискомолекуларног или нефракционисаног). Пацијенти су позивани на заказану контролу након оквирно месец дана од отпуста, у периоду између 30-ог и 40-ог дана терапије неким од ДОАК-а. Том приликом узимани су узорци крви 15 минута пре него што ће пацијент узети наредну дозу ДОАК-а, венепункцијом медијалне кубиталне вене када се очекују најниже концентрације лека у плазми. Сваки узорак крви је одмах послат у лабораторију на анализу без претходног замрзавања.

У овој студији одређиване су активности неколико кључних фактора коагулационе каскаде: II, VII и VIII, протеина Ц, антитромбина, као и концентрације фибриногена и Д-димера. За одређивање постигнутог терапијског ефекта ривароксабана и апиксабана одређивана је анти-Ха активност. Такође, рађени су и стандардни тестови коагулације (*aPTT* и *PT*). Све наведене лабораторијске анализе урађене су у Институту за медицинску биохемију Војномедицинске академије на аутоматском анализатору – коагулометру *BCS-XP Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH (Marburg, Germany)*, а реагенси и тестови обезбеђени су од истог произвођача:

1. *Berichrom ATIII* за квантитативно одређивање активног антитромбина. Добијене вредности су изражене у *IU/ml* јединицама.

Принцип методе за одређивање антитромбина у плазми се заснива на конверзији антитромбина из узорка хепарином до непосредног инхибитора који инактивира присутан тромбин. Преостала количина тромбина се одређује кинетичким тестом којим се мери повећање апсорбанције на таласној дужини 405 *nm*, а промена апсорбанције је обрнуто сразмерна активности антитромбина присутног у узорку плазме пацијента.

2. *Protein C* за квантитативно одређивање протеина Ц. Добијене вредности су изражене у *IU/ml* јединицама.

Принцип методе за одређивање протеина Ц у плазми се заснива на активацији протеина Ц додатком специфичног змијског отрова који се налази у Протеин Ц активатор реагенсу. Активирани протеин Ц инхибира фактор V и фактор VIII који се налазе у додатој протеин Ц дефицијентној плазми. Ова инхибициона реакција има за последицу продужење *aPTT* чиме се мери садржај протеина Ц у плазми пацијента. На основу калибрационе криве читава се количина протеина Ц у узорцима плазме пацијента.

3. *Deficient plasma* за одређивање активности фактора коагулације II, VII и VIII аутоматском коагулометријском методом. Добијене вредности су изражене у *IU/ml* јединицама.

У плазми која је дефицијентна у било ком од фактора који чине спољашњи пут, добија се продужено *PT*. Фактор дефицијентна плазма може да се употреби за потврду дефицијенције фактора и за идентификацију и квантификацију дефицијентног фактора у плазми пацијента. Принцип методе којом је одређивана активност фактора II и VII заснива се на употреби смеше фактор дефицијентне плазме и плазме пацијента која се тестира *PT* анализом. Резултати се интерпретирају коришћењем референтне криве која је добијена одређивањем разблажења стандардне хумане плазме или “*pool*”-а нормалне плазме која је помешана са фактор дефицијентном плазмом. Плазма пацијента која је дефицијентна у специфичном фактору не може да се прилагоди одсуству фактора у фактор дефицијентној плазми и стога ће давати продужено *PT*.

У плазми која је дефицијентна у било ком од фактора који чине унутрашњи пут се добија продужено *aPTT*. Принцип методе којом је одређивана активност фактора VIII заснива се на употреби смеше фактор дефицијентне плазме и плазме пацијента која се тестира у *aPTT* анализи. Резултати се интерпретирају коришћењем референтне криве која је добијена одредивањем разблажења стандардне хумане плазме или “*pool*”-а нормалне плазме која је помешана са дефицијентном плазмом. Плазма пацијента која је дефицијентна у специфичном фактору не може да се прилагоди одсуству фактора у фактор дефицијентној плазми и стога ће давати продужено време у *aPTT* анализи.

4. *Siemens Multifibren U reagents* за квантитативно одређивање фибриногена модификованом *Clauss*-овом методом. Добијене вредности су изражене у g/L јединицама.

Концентрација фибриногена у плазми пацијената одређивана је додатком тромбина у вишку при чему долази до коагулације. У овом случају време коагулације је директно пропорционално количини фибриногена у узорку.

5. *Immunoturbidimetric quantitative assay* за одређивање деградационих продуката фибриногена (Д-димер). Добијене вредности су изражене у mg/L јединицама.

Принцип методе се заснива на реакцији аглутинације моноклонских антитела из реагенса са узорцима који садрже Д-димер. Регион са унакрсно везаним Д-димерима има стереосиметричну структуру тј. епитоп за моноклонско антитело се појављује два пута па је једно антитело довољно да започне реакцију аглутинације која се затим детектује турбидиметријски преко повећања турбидитета.

6. *LMWH Berichrom Heparin chromogenic assay* за анти-Ха активност. Добијене вредности су изражене у IU/ml јединицама.

Принцип методе се заснива на инактивацији фактор Ха са АТ у току инкубационе фазе теста. Ову реакцију катализује хепарин. Декстран сулфат ослобађа хепарин који је везан за интерферирајуће факторе. Количина преосталог фактора Ха који остаје после инкубационе фазе се одређује преко повећања апсорбанције на 405 nm , уз коришћење хромогеног супстрата у кинетичком тесту.

Статистичке анализе коришћене у изради резултата

Нормалност расподеле тестирана је $Q-Q$ дијаграмима и *Shapiro-Wilk* тестом нормалности. Вредности са нормалном дистрибуцијом су поређене коришћењем *one-way ANOVA* тест, са *Bonferroni post hoc* анализом и резултати су изражени као средња вредност са стандардном девијацијом. За вредности које нису имале нормалну расподелу, коришћени су непараметарски *Mann Whitney U* или *Kruskal-Wallis H* тест и резултати су изражени као средња вредност са интерквartilним опсегом. Основне категоријске карактеристике пацијената су представљене као фреквенције и упоређене *Chi-square*

тестом. Разлика са p вредношћу $\leq 0,05$ сматрана је значајном. Комплетна статистичка и графичка обрада података урађена је коришћењем софтвера за статистичку анализу *SPSS* верзија 20.0.

РЕЗУЛТАТИ

Током периода истраживања, укупно је лечено 256 пацијената са плућном тромбоемболијом на Клиници за ургентну интерну медицину Војномедицинске академије. Након елиминације због искључујућих критеријума, 100 пацијената је испунило све критеријуме и ушло у статистичку обраду података. Пацијенти су груписани у три групе у зависности којим су оралним антикоагулансом из групе ДОАК-а лечени, тако да је коначни број пацијената по групама био: 36 (36%) пацијената лечених ривароксабаном, 32 (32%) пацијента лечена апиксабаном и 32 (32%) пацијента лечена дабигатраном.

Три групе пацијената су прво међусобно упоређене у односу на присуство основних карактеристика пацијената као што су старосна доб, пол, постојање основних фактора ризика за настанак кардиоваскуларних болести и присуство хроничних обољења. Ово поређење није показало статистички значајну разлику између група у односу на било који параметар (Табела 3а и 3б).

Табела 3а: Основне демографске карактеристике пацијената са плућном тромбоемболијом.

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
Старосна доб, године св±СД	58±15	59±16	56±14	нс
>65 година, <i>n</i> (%)	13 (36,1)	8 (25,0)	9 (28,1)	нс
>75 година, <i>n</i> (%)	3 (8,3)	7 (21,9)	3 (9,4)	нс
Мушкарци, <i>n</i> (%)	20 (55,6)	21 (65,6)	19 (59,4)	нс
Жене, <i>n</i> (%)	16 (44,4)	11 (34,4)	13 (40,6)	нс

св-средња вредност; СД-стандардна девијација; нс-није сигнификантно

Табела 3б: Присуство фактора ризика за плућну тромбоемболију и хроничних обољења.

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
Позитивна породична анамнеза за ДВТ/ПТЕ, <i>n</i> (%)	5 (13,9)	3 (9,4)	4 (12,5)	нс
Гојазни*, <i>n</i> (%)	12 (33,3)	15 (46,8)	11 (34,3)	нс
Пушачи, <i>n</i> (%)	13 (36,1)	8 (25,0)	13 (40,1)	нс
Дијабетес, <i>n</i> (%)	4 (11,1)	8 (25,0)	2 (6,2)	нс
Хипертензија, <i>n</i> (%)	15 (41,7)	17 (53,1)	15 (46,9)	нс
ХОБП, <i>n</i> (%)	1 (2,8)	5 (15,6)	3 (9,4)	нс
ХССС, <i>n</i> (%)	5 (13,9)	3 (9,4)	1 (3,1)	нс

* Индекс телесне масе > 30 kg/m^2 ; ДВТ-дубока венска тромбоза; ПТЕ-плућна тромбоемболија; ХОБП-хронична опструктивна болест плућа; ХССС-хронична систолна срчана слабост, нс-није сигнификантно ($p>0,05$)

Није забележена значајна разлика између група у односу на време протекло од појаве симптома и пријема у болницу, дужини хоспитализације, врсти ПТЕ према потенцијалном узроку, као и основним клиничким карактеристикама на пријему (Табела 4а, 4б и 4ц).

Табела 4а: Протекло време до пријема у болницу од појаве симптома, дужина хоспитализације и врста ПТЕ према узроку.

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
ВДП, сати, мед (25-75 перцентил)	72 (24-168)	60 (12-162)	72 (14-144)	нс
Дужина хоспитализације дани, мед (25-75 перцентил)	8 (7-12)	7 (6-8)	7 (6-9)	нс
Провоцирана ПТЕ, <i>n</i> (%)	15 (41,7)	14 (43,8)	12 (37,5)	нс

ВДП-време до пријема, ПТЕ-плућна тромбоемболија, нс-није сигнификантно ($p>0,05$)

Табела 4б: Основне клиничке карактеристике на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
Диспнеа, <i>n</i> (%)	32 (88,9)	25 (78,1)	26 (81,2)	нс
Хемоптизије, <i>n</i> (%)	3 (8,3)	4 (12,5)	3 (9,4)	нс
Синкопа, <i>n</i> (%)	9 (25,0)	6 (18,5)	2 (6,2)	нс
Пнеумонија током 48h, <i>n</i> (%)	5 (13,9)	7 (21,9)	6 (18,8)	нс
Реанимација на пријему, <i>n</i> (%)	0 (0,0)	1 (3,1)	0 (0,0)	нс

Табела 4ц: Плућна тромбоемболија класификована према ризику од раног морталитета и присуство великог крварења.

	Ривароксабан	Апиксабан	Дабигатран	<i>p</i>
	36 (36%)	32 (32%)	32 (32%)	
ПТЕ високог ризика, <i>n</i> (%)	6 (16,7)	3 (9,4)	2 (6,2)	нс
ПТЕ интермедијарног ризика, <i>n</i> (%)	22 (61,1)	18 (56,2)	16 (50,0)	нс
ПТЕ ниског ризика, <i>n</i> (%)	8 (22,2)	10 (31,2)	10 (31,2)	нс
Велико крварење, <i>n</i> (%)	7 (19,4)	6 (18,8)	2 (6,2)	нс

ПТЕ – плућна тромбоемболија, нс – није сигнификантно ($p>0,05$).

Групе су потом упоређене и на основу лабораторијских података који су добијени на пријему. Није постојала значајна разлика у бубрежној функцији, гасним анализама артеријске крви, индикаторима инфламације, Д-димеру, гликемији и основним хематолошким параметрима. Значајна разлика је добијена у нивоу тропонина на пријему који је био значајно нижи код пацијената који су касније лечени дабигатраном ($p=0,032$). Па ипак, други параметар, који поред тропонина говори у прилог већем оптерећењу десне срчане коморе, *BNP*, није се значајно разликовао између група (Табела 5а, 5б, 5ц).

Табела 5а: Величина гломеруларне филтрације и парцијални притисци O_2 и CO_2 .

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
ВГФ <i>ml/min</i> , св±СД	88±26	84±37	93±28	нс
pCO_2 mmHg, мед (25.- 75. перцентил)	30,0 (23,3-35,0)	28,1 (24,3-33,8)	32,0 (26,3-35,0)	нс
pO_2 mmHg, мед (25.- 75. перцентил)	69,0 (54,3-85,0)	68,0 (58,3-83,0)	78,0 (61,5-85,0)	нс

ВГФ-величина гломеруларне филтрације (по *Cockcroft-Gault* једначини), св-средња вредност, СД-стандардна девијација, pCO_2 -парцијални притисак угљен диоксида у артеријској крви, pO_2 -парцијални притисак кисеоника у артеријској крви, нс-није сигнификантно ($p>0,05$).

Табела 5б: Параметри запаљења, концентрација продуката разградње фибрина, гликемија и параметри оптерећења десне коморе на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.

	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
ЦРП <i>mg/L</i> , мед (25.-75. перцентил)	59,7 (23,0-131,5)	35,4 (19,4-104,0)	37,0 (12,0-71,0)	нс
<i>BNP pg/mL</i> , мед (25.-75. перцентил)	113,5 (49,4-415,3)	161,0 (29,0-343,4)	101,2 (37,3-174,0)	нс
Тропонин Т <i>ng/L</i> , мед (25.-75. перцентил)	0,14 (0,00-0,60)	0,18 (0,04-0,60)	0,04 (0,00-0,19)	0,032
Д димер <i>ng/mL</i> , мед (25.-75. перцентил)	7900 (3960-12775)	9565 (4200-19700)	7425 (1960-12432)	нс
Гликемија <i>mmol/L</i> , мед (25.-75. перцентил)	6,7 (5,5-8,1)	7,2 (5,6-9,8)	5,8 (5,0-7,3)	нс

ЦРП-Ц-реактивни протеин, *BNP*- натриуретични пептид, нс-није сигнификантно ($p>0,05$).

Табела 5ц: Основни хематолошки параметри на пријему код пацијената са плућном тромбоемболијом.

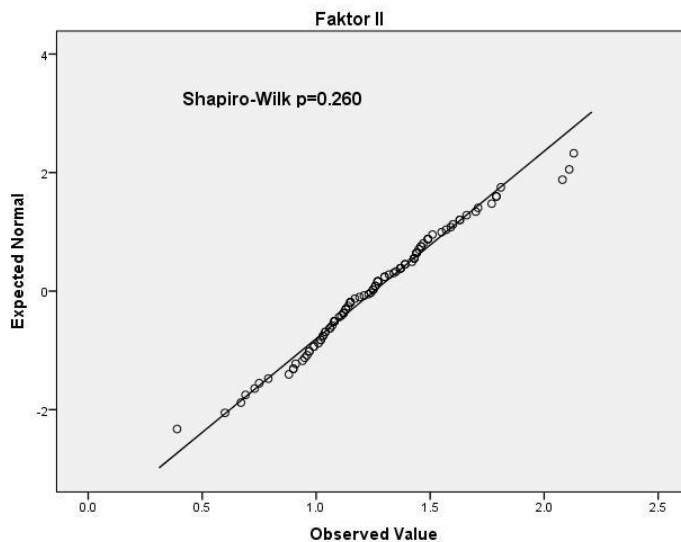
	Ривароксабан 36 (36%)	Апиксабан 32 (32%)	Дабигатран 32 (32%)	<i>p</i>
<i>Tr</i> $n10^9$, меd (25.-75. перцентил)	217 (177-296)	248 (158-307)	205 (163-225)	нс
<i>Le</i> $n10^9$, меd (25.-75. перцентил)	9,2 (7,2-10,9)	9,2 (7,0-13,0)	9,0 (7,1-11,3)	нс
<i>Ly</i> $n10^9$, меd (25.-75. перцентил)	1,4 (1,0-2,1)	1,6 (0,8-2,2)	1,8 (1,2-2,1)	нс
<i>Hgb</i> g/L, меd (25.-75. перцентил)	131,5 (109,3-151,0)	127,0 (119,5-136,3)	137,0 (125,3-144,8)	нс
<i>Hct</i> , L/L, меd (25.-75. перцентил)	0,43 (0,37-0,49)	0,40 (0,37-0,43)	0,42 (0,39-0,45)	нс

Tr-тромбоцити, *Le*-леукоцити, *Ly*-лимфоцити, *Hgb*-хемоглобин, *Hct*-хематокрит, нс-није сигнификантно ($p>0,05$).

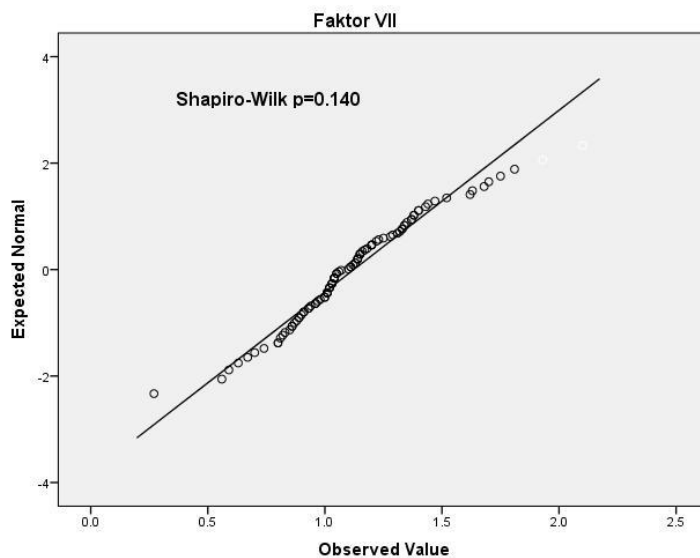
Тестирање нормалности расподеле и поређење мерених параметара коагулационог система

Помоћу $Q-Q$ графика и *Shapiro-Wilk* теста учињено је тестирање дистрибуције измерених вредности посматраних фактора и протеина коагулационе каскаде као и Д-димера. Вредности за активност фактора коагулације II, VII, антитромбина, протеина Ц и анти-Ха имају нормалну расподелу, а активност фактора коагулације VIII и концентрације фибриногена и Д-димера немају нормалну расподелу. Поклапање са дијагоналном линијом на $Q-Q$ графикану као и p вредност $>0,05$ указује на нормалну расподелу (Графикон 1а-х).

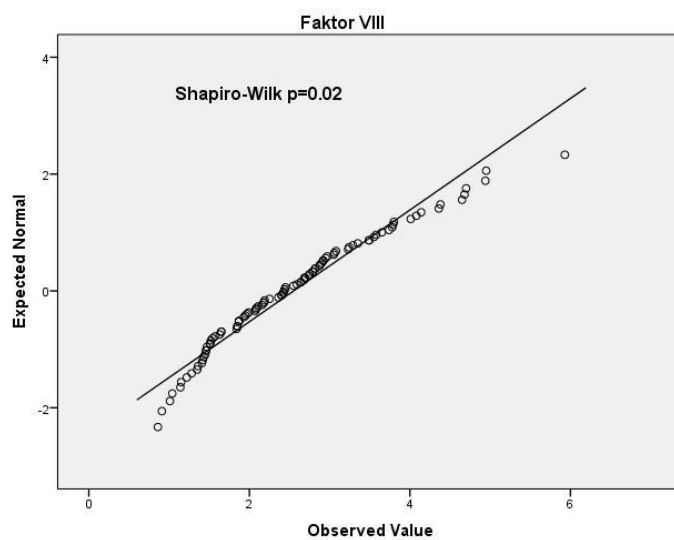
Графикон 1а. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације II.



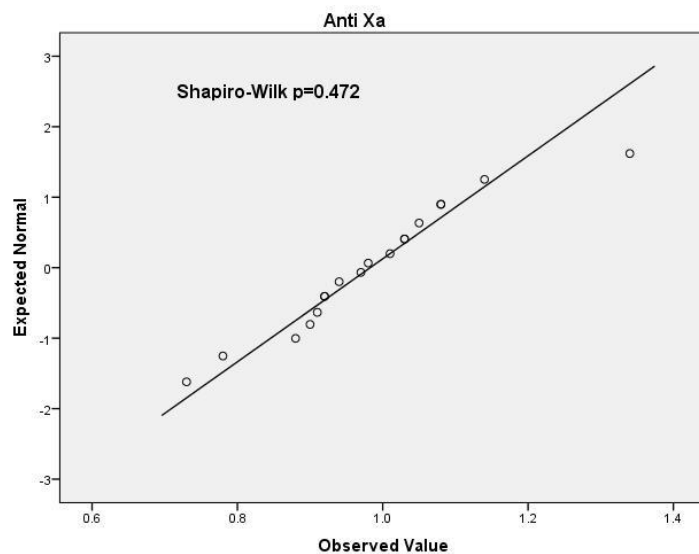
Графикон 1б. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације VII.



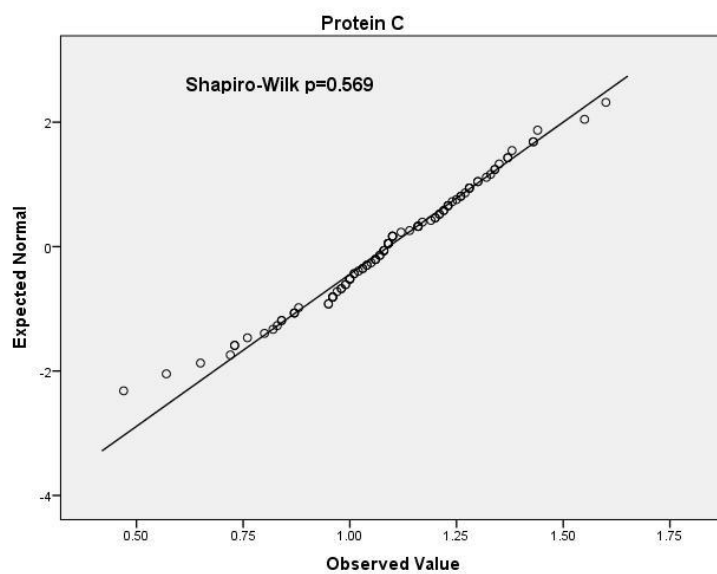
Графикон 1ц. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности активности фактора коагулације VIII.



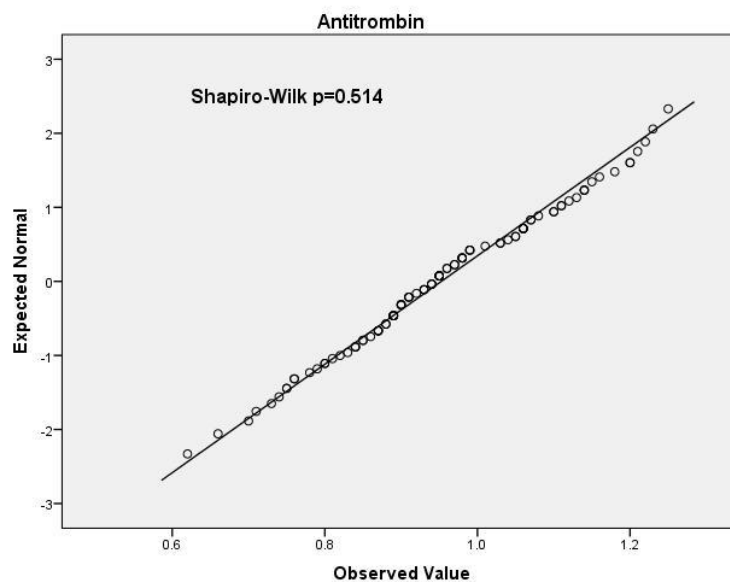
Графикон 1д. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности анти-Ха активности.



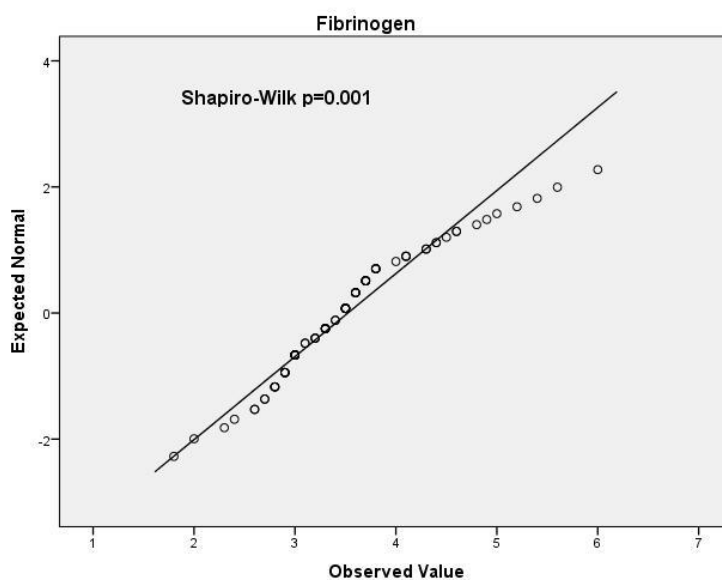
Графикон 1е. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности активности протеина Ц.



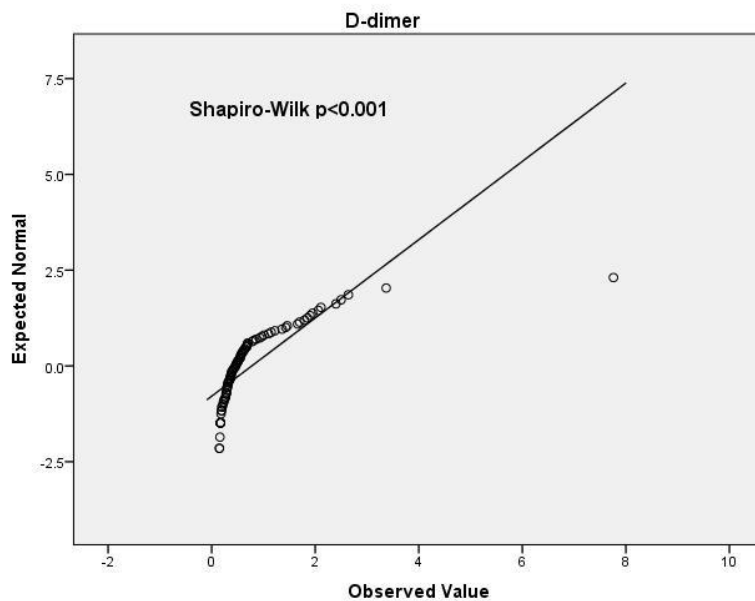
Графикон 1ф. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности активности антитромбина.



Графикон 1г. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности концентрације фибриногена.



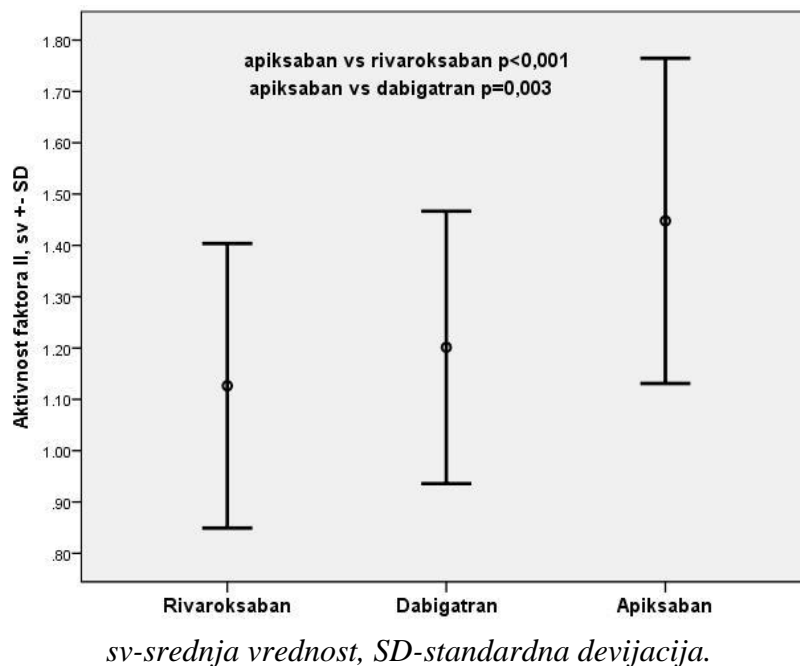
Графикон 1х. $Q-Q$ графикон и p вредност *Shapiro-Wilk* методом као приказ расподеле вредности концентрације Д-димера.



Крв за анализу активности испитиваних фактора коагулације, антикоагулантних фактора и концентрација фибриногена и Д-димера узимана је у периоду између 30-ог и 40-ог дана од започињања терапије, а између група није постојала статистички значајна разлика у средњој вредности времена кад је обављено узорковање (није приказано).

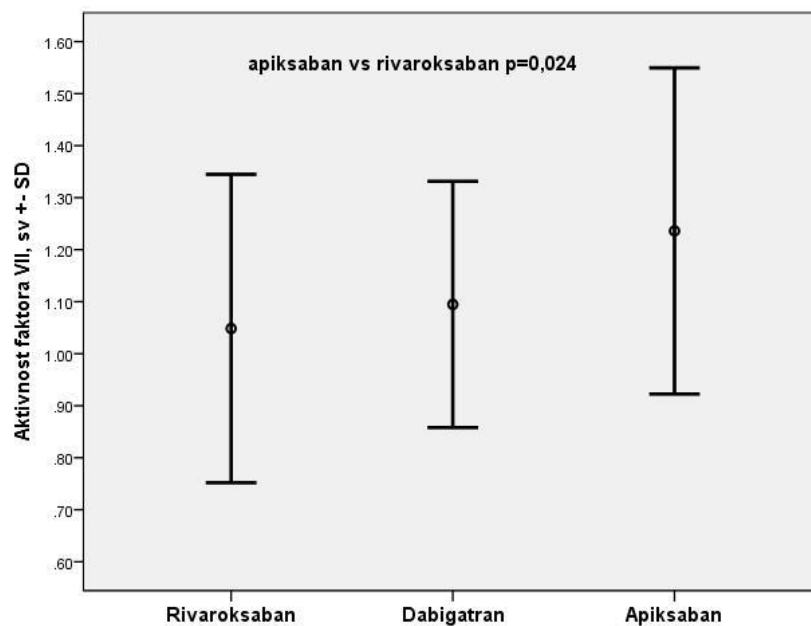
Активност фактора II била је значајно повишена код пацијената лечених апиксабаном у односу на пацијенте лечене ривароксабаном и дабигатраном. Активност фактора II се није разликовала између пацијената на ривароксабану и дабигатрану (Графикон 2).

Графикон 2. Поређење средњих вредности активности фактора II између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.



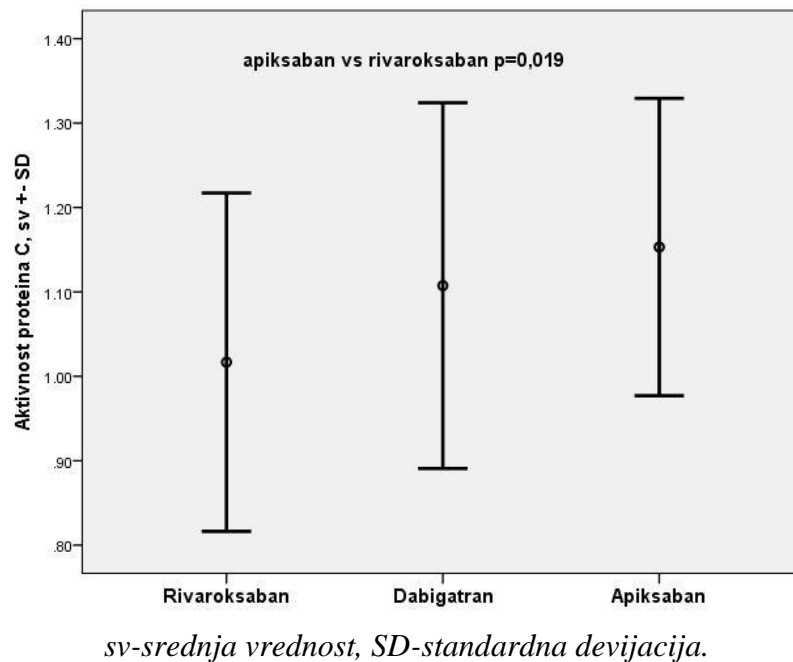
Активност фактора VII се значајно разликовала код пацијената на апиксабану у односу на пацијенте на ривароксабану (Графикон 3), а значајна разлика је запажена и у активности протеина Ц у односу на пацијенте на дабигатрану (Графикон 4). Медијана активности фактора VIII је такође значајно већа код пацијената на апиксабану у поређењу са пацијентима на дабигатрану (Графикон 5).

Графикон 3. Поређење средњих вредности активности фактора VII између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.

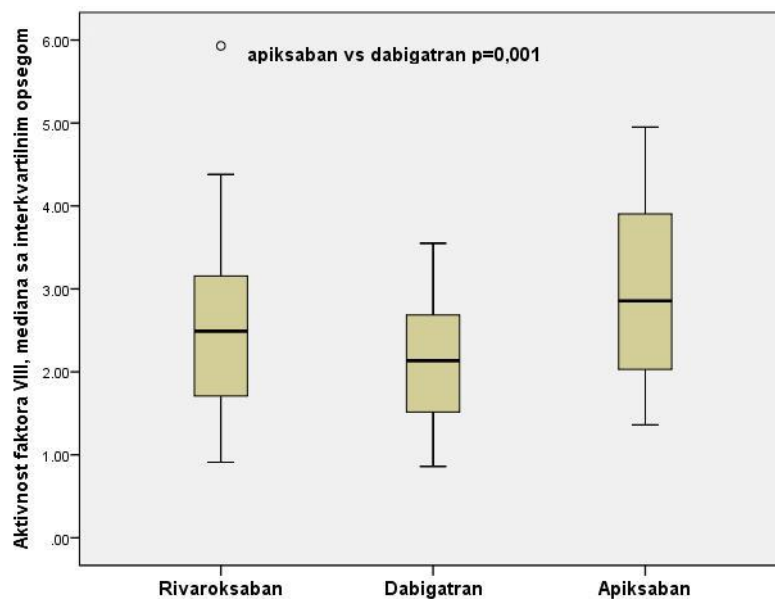


sv-srednja vrednost, SD-standardna devijacija.

Графикон 4. Поређење средњих вредности активности протеина Ц између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.



Графикон 5. Поређење средњих вредности (медијане) активности фактора VIII између група пацијената са ПТЕ након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а.



Код осталих мерених параметара није забележена значајна разлика. Тако средње вредности активности антитромбина у плазми (изражене у IU/ml) након месец дана код пацијената на ривароксабану vs апиксабану vs дабигатрану износе: $0,92\pm 0,14$ vs $0,96\pm 0,13$ vs $0,98\pm 0,13$; $p=0,140$.

Медијане концентрација фибриногена у плазми (изражена у g/L) након месец дана код пацијената на ривароксабану vs апиксабану vs дабигатрану су: $3,5$ ($3,0-4,1$) vs $3,5$ ($3,1-4,4$) vs $3,3$ ($2,9-3,7$); $p=0,127$.

Нема значајне разлике између средњих вредности активности анти-Ха (изражене у IU/ml) након месец дана код пацијената на ривароксабану у поређењу са оним на апиксабану: $0,70\pm 0,37$ vs $0,56\pm 0,30$; $p=0,274$.

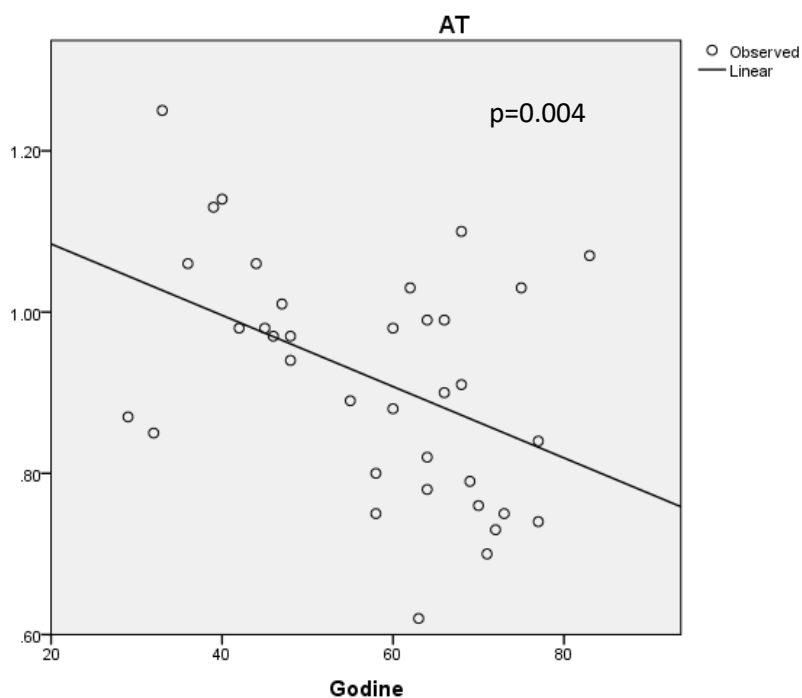
Табела 6: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени ривароксабаном.

	Пол	Године	БМИ	ДМ
АТ	-0.053 $p=0.760$	-0.447 $p=0.006$	-0.197 $p=0.287$	-0.046 $p=0.791$
ПЦ	0.011 $p=0.952$	-0.107 $p=0.456$	0.272 $p=0.153$	0.205 $p=0.245$
фибриноген	-0.100 $p=0.563$	-0.299 $p=0.076$	0.033 $p=0.861$	-0.013 $p=0.941$
ФП	-0.041 $p=0.811$	-0.267 $p=0.116$	-0.016 $p=0.932$	0.024 $p=0.889$
ФVII	0.235 $p=0.168$	-0.154 $p=0.370$	-0.075 $p=0.687$	-0.001 $p=0.995$
ФVIII	-0.078 $p=0.651$	-0.085 $p=0.622$	0.095 $p=0.610$	0.077 $p=0.657$

Вредности у табели су приказане као коефицијент корелације (Пирсонова корелација за варијабле са нормалном расподелом и Спирманова корелација за варијабле без нормалне расподеле) и p вредност.

Користећи се проценом преко криве у регресионој анализи потврђена је значајност корелације између АТ и година живота код пацијената који су лечени ривароксабаном (Графикон 6)

Графикон 6. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између АТ и година живота код пацијената лечених ривароксабаном.



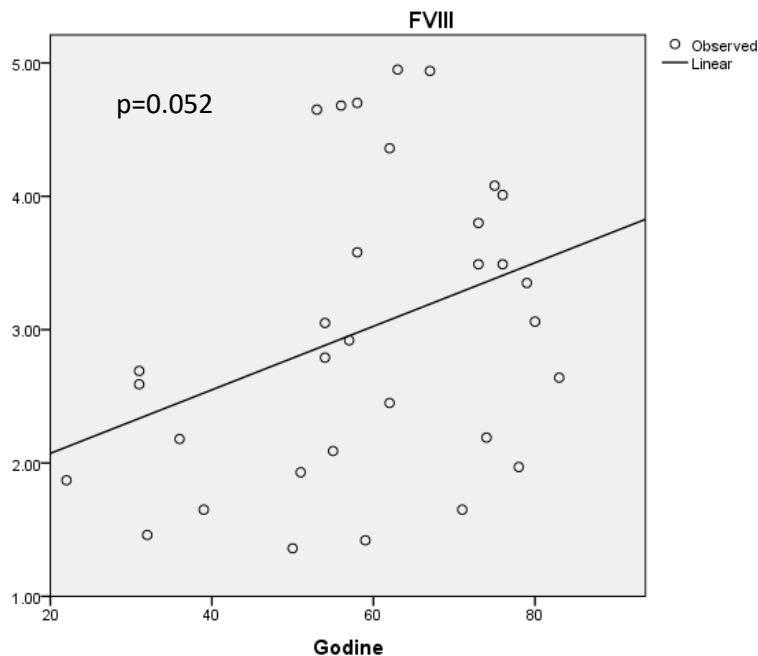
Табела 7: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени апиксабаном.

	Пол	Године	БМИ	ДМ
АТ	0.63 $p=0.731$	-0.266 $p=0.141$	-0.062 $p=0.833$	-0.114 $p=0.533$
ПЦ	0.146 $p=0.424$	0.103 $p=0.576$	-0.001 $p=0.996$	0.035 $p=0.848$
фибриноген	0.368 $p=0.050$	0.241 $p=0.208$	-0.157 $p=0.609$	-0.250 $p=0.192$
ФП	-0.020 $p=0.912$	-0.241 $p=0.184$	-0.030 $p=0.919$	-0.230 $p=0.206$
ФVII	0.165 $p=0.366$	-0.047 $p=0.800$	0.127 $p=0.664$	-0.046 $p=0.802$
ФVIII	-0.110 $p=0.547$	0.361 $p=0.043$	-0.103 $p=0.725$	0.262 $p=0.148$

Вредности у табели су приказане као коефицијент корелације (Пирсонова корелација за варијабле са нормалном расподелом и Спирманова корелација за варијабле без нормалне расподеле) и p вредност.

Користећи се проценом преко криве у регресионој анализи, добија се гранична статистичка значајност у корелацији ФVIII и година живота код пацијената лечених апиксабаном (Графикон 7)

Графикон 7. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између ФVIII и година живота код пацијената лечених апиксабаном.



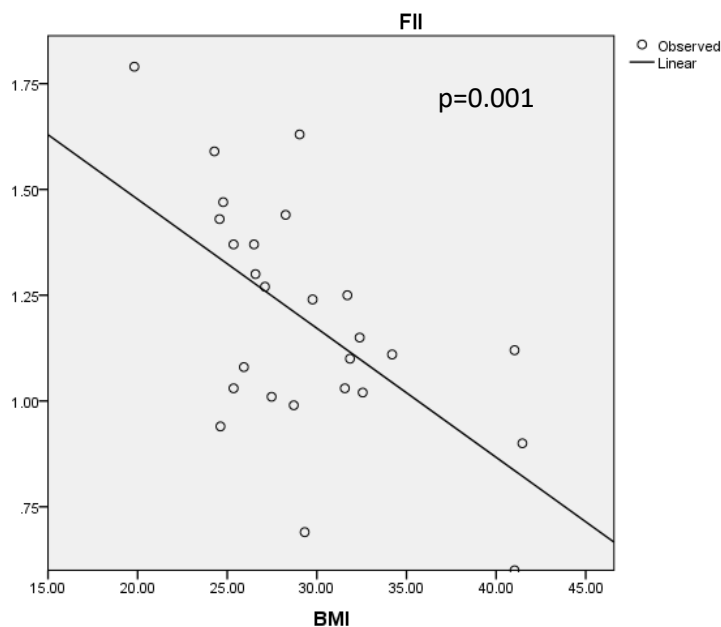
Табела 8: Корелација између мерених фактора коагулационе каскаде и основних карактеристика пацијената који су лечени дабигатраном.

	Пол	Године	БМИ	ДМ
АТ	0.117 $p=0.522$	-0.218 $p=0.232$	-0.229 $p=0.251$	0.201 $p=0.269$
ПЦ	0.196 $p=0.291$	-0.131 $p=0.483$	-0.137 $p=0.504$	0.237 $p=0.199$
фибриноген	0.103 $p=0.590$	0.170 $p=0.369$	0.070 $p=0.741$	0.380 $p=0.050$
ФII	0.349 $p=0.055$	-0.183 $p=0.323$	-0.594 $p=0.001$	-0.067 $p=0.722$
ФVII	0.158 $p=0.387$	-0.069 $p=0.708$	-0.302 $p=0.125$	0.178 $p=0.331$
ФVIII	-0.324 $p=0.071$	-0.274 $p=0.130$	0.055 $p=0.785$	-0.084 $p=0.648$

Вредности у табели су приказане као коефицијент корелације (Пирсонова корелација за варијабле са нормалном расподелом и Спирманова корелација за варијабле без нормалне расподеле) и p вредност.

Користећи се проценом преко криве у регресионој анализи, добија се гранична статистичка значајност у корелацији фибриногена и дијабетес мелитуса, а потврђена је значајност корелације између ФII и ВМИ код пацијената који су лечени дабигатраном (Графикон 8)

Графикон 8. Регресиона анализа – линеарни модел корелације између ФII и ВМИ код пацијената лечених дабигатраном.



ДИСКУСИЈА

Ово је прва клиничка студија пресека једног центра у којој су директно поређена три антикоагуланса из групе ДОАК-а: ривароксабан, апиксабан (директни инхибитори фактора Ха) и дабигатран (директни инхибитор тромбина). Резултати докторске дисертације су показали да пацијенти који су лечени апиксабаном, након месец дана имају значајно већу активност фактора коагулације II (тромбина) у односу на пацијенте који су лечени ривароксабаном и дабигатраном. Пацијенти на апиксабану такође имају значајно већу активност и фактора VII, али и протеина Ц у поређењу са пацијентима на ривароксабану, а значајна разлика постоји и у активности фактора VIII у односу на оне на дабигатрану. Дакле, иако сам назив „директни орални антикоагуланси“ сугерише једноставан механизам инхибиције циљног фактора коагулације, без присуства посредника, добијени резултати говоре у прилог томе да постоји различит утицај на друге факторе у коагулационој каскади чак и када се ради о директним блокаторима истог фактора коагулације, попут фактора Ха (ривароксабан и апиксабан).

Иако су у студију укључени консекутивни пацијенти са плућном тромбоемболијом, због чега је уједначеност њихових карактеристика теже контролисати него у рандомизованим студијама, постигнуте су статистички уједначене групе пацијената и по основним карактеристикама, али и по клиничким и лабораторијским карактеристикама за које се увек сумња да могу имати утицај на резултате мерења. Изоловани случај појаве статистичке разлике у нивоу тропонина који је био значајно виши на пријему код пацијената лечених касније дабигатраном није схваћен као параметар који битно ремети упоредивост група јер су други лабораторијски параметри који показују оптерећење десне коморе у акутној плућној емболији (*BNP*) били без статистички сигнификантне разлике између група. Свакако, одложено узорковање крви за мерење активности фактора коагулације, након 30 - 40 дана лечења (без значајне разлике између група), са циљем да се постигне стабилна терапија, знатно доприноси стварању упоредивих група пацијената у односу на дефинисане варијабле испитивања. Овим мерењем активности појединих фактора и протеина коагулације тек након постизања стабилне терапије ДОАК-ом, избегава се опасност од могућих флукуација у концентрацији и дистрибуцији лека у току акутне фазе лечења јер је и почетно дозирање другачије.(36,92,93) Такође, акутно и

субакутно стање болести, а можда и присуство индивидуалног инфламаторног одговора, могу имати утицај на тромбогени потенцијал.(94,95) Користећи се статистичким тестовима корелације, може се закључити да већина мерених фактора коагулационе каскаде није у значајној корелацији са најважнијим карактеристикама пацијената као што су године старости, пол, телесна маса или постојање дијабетес мелитуса. Па ипак, у изолованим случајевима примећена је значајна корелација, попут пада активности АТ са порастом старостне доби пацијената који су лечени ривароксабаном, пораст активности ФVIII код старијих пацијената лечених аликсабаном или пад активности ФII са порастом *BMI* пацијената лечених дабигатраном. Ово су веома занимљиви подаци које није лако објаснити обзиром да нам није у потпуности јасна интеракција самих ДОАК-а и фактора коагулационе каскаде, а потом ни евентуални утицај поменутих карактеристика. Врло је могуће да је примећени међусобни утицај између наведених карактеристика пацијената и одређених фактора коагулације потпомогнут различитим начином дозирања ДОАК-а (једанпут или двапут дневно) или чак могућим постојањем одређеног повратног одбрамбеног механизма самог организма (енг. *rebound*). Када је у питању значајна корелација између *BMI* и активности ФII, треба поменути резултате недавно објављене студије у којој је испитиван ефекат дабигатрана код изразито гојазних пацијената ($BMI > 40 \text{ kg/m}^2$ или $> 120 \text{ kg}$ телесне масе) са атријалном фибрилацијом. У овој студији је ефекат дабигатрана на композитни тромбоемболијски исход био снажнији у поређењу са варфарином, са значајно мање тромбоемболијских догађаја, али и значајнијим крварењем као компликацијом.(96) Ово указује да дабигатран код гојазних можда има јачи ефекат на инхибицију ФII у поређењу са пацијентима нормалне телесне масе.

Крв за лабораторијску анализу узимана је у време очекиване најниже концентрације лека у плазми како би се избегао могући утицај евентуално високих концентрација лека на тестове за мерење активности фактора коагулације.(61,88,95,97) С обзиром да се ради о мањим групама пацијената, приликом обраде података, водило се рачуна о примени адекватне статистичке анализе.(98)

За одређивање анти-Ха активности користили смо тест калибрисан помоћу нискомолекуларног хепарина, који је мање сензитиван у односу на тестове калибрисане аликсабаном или ривароксабаном, али су обе групе пацијената (на ривароксабану и

апиксабану) биле у терапијским концентрацијама, са анти-Ха активношћу која је далеко изнад лимита квантификације методе, а то је 0,10 IU/mL.(99)

Ако сагледамо ширу слику међусобне повезаности свих чиниоца у коагулационој каскади, укључујући чак и тромбоците, онда не можемо очекивати једноставан механизам дејства ДОАК-а, без обзира што њихов општи назив сугерише директно и непосредно антикоагулантно дејство. Наиме, директни инхибитори фактора Ха се разликују у односу на директне инхибиторе тромбина посматрајући њихов утицај на поједине фазе у процесу активираних коагулације. Инхибитори фактора Ха пре свега делују на фазу пропације, јер су инхибитори протромбиназа комплекса, док инхибитори тромбина делују на фазу иницијације и амплификације јер блокирајући тромбин врше опструкцију X-азе (теназе). То значи да анти-Ха лекови блокирају синтезу, али не и активност већ синтетисаног тромбина што и јесте потврђено у студији објављеној од стране Иеко и сарадника 2004. године, у време развоја синтетских директних инхибитора фактора Ха.(100) У поменутој студији коришћени су директни синтетски инхибитори фактора Ха названи *DH-9065a* и *JTV-803*, и аргатробан као инхибитор тромбина. У *in vitro* условима, истраживачи су показали да је инхибиција синтезе тромбина значајно већа у присуству ова два синтетска инхибитора фактора Ха него у присуству арготробана. С друге стране, активација тромбоцита помоћу иницијално формираног тромбина (без обзира на присуство инхибитора Ха) је била очувана (незначајно инхибирана у поређењу са контролном групом). Супротно томе, постојала је значајна инхибиција тромбином-индуковане активације тромбоцита након додавања арготробана. Након овог налаза истраживачи су закључили да се и поред присуства директног инхибитора фактора Ха може, до сада непознатим механизмом, формирати мала иницијална количина тромбина. Пошто тромбин има значајно већи афинитет за тромбоците него за фибриноген, та мала количина иницијално створеног тромбина је довољна за активацију тромбоцита без утицаја на фибриноген. То је доказ значајно очуване хемостазе услед очуване функције тромбоцита и поред присуства ова два испитивана синтетска инхибитора фактора Ха, која је доказивана и на хуманим и анималним моделима *in vivo*.(100) Ова чињеница би могла да у резултатима ове студије објасни постојање разлике у активности фактора II (тромбина) између пацијената на апиксабану и дабигатрану, тиме што је код пацијената на апиксабану значајно већа активност фактора II. Међутим та разлика код испитиваних пацијената

постоји и између оних на апиксабану и ривароксабану, а опет, нема значајне разлике између оних на ривароксабану и дабигатрану, што остаје нејасно. Чак и са клиничког аспекта, већа активност тромбина значи могућност веће активације тромбоцита који значајно могу допринети процесу хемостазе, а познато је да управо апиксабан има један од најбољих, ако не и најбољи безбедносни профил међу антикоагулансима из групе ДОАК.(101–104) Зашто и код пацијената на ривароксабану, који делује истим механизмом као апиксабан, није регистрована значајно већа активност фактора II у односу на дабигатран, већ и нижа (мада без статистички значајне разлике), за сада није јасно.

И поред наизглед истог механизма дејства и очекивано истог утицаја на међусобне односе у каскади коагулације, добијена је различита активност мерених фактора код пацијената који су лечени различитим анти-Ха леком. То наводи на претпоставку да и сам режим дозирања лека, једанпут или два пута дневно може бити један од фактора различитог дејства лека са истим механизмом дејства. У прилог оваквој тврдњи иде и податак да се давањем лека, са временом полу-живота око 12 сати, два пута дневно, смањује разлика између максималне и минималне концентрације у плазми те се постиже ефекат за који се може рећи да је перзистентан.(105–107) Насупрот томе, давање лека једанпут дневно добија се већа разлика између минималне и максималне концентрације, чиме се постиже интермитентни антикоагулантни ефекат, доводећи у питање чак и саму ефикасност у тренутку пред само узимање следеће дозе. Међутим, апиксабан се од ривароксабана не разликује само по начину дозирања, већ има и различите фармакодинамске и фармакокинетске особине.(107) Апиксабан у односу на ривароксабан има мању биорасположивост, али исто тако и готово потпуну неовисност од узимања хране, док присуство масти у obroку уз који се узима ривароксабан значајно утиче на биорасположивост ривароксабана. Екскреција апиксабана се значајно разликује од екскреције ривароксабана у проценту учесталости јетре и бубрега.(64,108) Све ово може утицати на мању или већу интер-индивидуалну варијабилност лека која код ривароксабана износи и до 30 - 40%. Са становишта стварних клиничких дешавања, у којима су пацијенти различите животне доби, тиме и различите реналне функције, те имају различите коморбидитете, навике у исхрани и однос према саветима лекара, није чудна појава постојања различитих ефеката ова два лека услед различитих фармакодинамских и фармакокинетских особина. Иако су нам познате ове чињенице бројних разлика између

апиксабана и ривароксабана, мада делују директном блокадом истог фактора коагулације, тешко је у овом тренутку објаснити тачан механизам којим ова два лека на различит начин утичу на целокупни однос свих фактора у коагулационој каскади и на разлике у активности одређених фактора које су добијене у овом истраживању.

Познато је да лекови из групе ДОАК-а при различитим концентрацијама у плазми имају другачији утицај на конвенционалне тестове хемостазе (*aPTT*, *PT*) показујући при максималним концентрацијама (након 3-4 сата од узимања) највећи ефекат на ове тестове, док је тај ефекат минималан или потпуно изостаје при најнижим концентрацијама, иако и тад антикоагулантно дејство још увек постоји.(109,110) Ова дозна зависност појединих тестова хемостазе, уз асинхронију са испољеним антикоагулантним ефектом лека, чини их неупотребљивим за мониторинг правилне дозираности ДОАК-а, мада показује комплексност у утицају самог ДОАК-а на сложене односе фактора коагулационе каскаде. Дабигатран због потпуне блокаде тромбина спречава тромбином-посредовану активацију тромбоцита и унутрашњег (контактног) пута коагулације (фаза амплификације). Отуда су вредности *aPTT* значајно продужене код давања дабигатрана. С друге стране, дабигатран нема значајан утицај на вредности *INR* јер не утиче битно на факторе укључене у спољашњи пут коагулације.(111,112) Апиксабан и ривароксабан пак, не утичу толико на фазу амплификације тј. на унутрашњи пут коагулације, те стога ни на вредности *aPTT*.(113,114) Па ипак, коришћењем тестова различите осетљивости, ривароксабан се увек показао осетљивијим на *aPTT* тест него апиксабан, што је и поред доказивања у бројним студијама увек остајало без одговора на питање зашто је то тако. Ово можда индиректно показује да због тога што постоји повећана активност фактора II, VIII па и VII које смо у овој студији измерили код пацијената на апиксабану у поређењу са друга два ДОАК-а, указује на већу количину тромбина код ових пацијената. Овај вишак тромбина је довољан да снажније активира тромбоците и фактор XI тј. унутрашњи пут коагулације и тако доведе до нормалних вредности *aPTT* теста. За разлику од апиксабана, ривароксабан, а посебно дабигатран снажније блокирају продукцију тј. саму функцију (дабигатран) тромбина те је активност унутрашњег пута коагулације мање или више нарушена. Слични резултати су добијени у *in vitro* условима са коришћењем тестова за мерење генезе тромбина, попут ендогени тромбински потенцијал и други, који су показали да апиксабан

у поређењу са ривароксабаном, и поред истог механизма деловања, има већу продукцију тромбина.(115)

Узмимо други пример мерење вредности *PT*-а (изражен најчешће кроз *INR*). Иако није прецизан и самим тим препоручен за контролу пацијената који узимају неки од ДОАК-а, *PT/INR* боље корелира са концентрацијама ривароксабана у плазми него аписабана, иако су оба директни инхибитори фактора Ха.(113,114) Одговор на ово питање је можда делимично дат у раније изреченој претпоставци о могућем утицају различитог дозирања, кроз доза/ефекат однос, на резултате појединих конвенционалних тестова хемостазе, или кроз већи тромбински потенцијал код пацијената на аписабану, али дефинитивно наводи на закључак о постојању различитог утицаја ова два ДОАК-а на активност фактора коагулације који се детектују тестовима за одређивање *PT/INR*, а то су фактор II, V, VII и X.(116) У овој студији, забележена је значајна већа активност фактора коагулације II и VII код пацијената на аписабану у поређењу са пацијентима на ривароксабану. Оба фактора коагулације снажно утичу на промене у вредности *PT/INR*, те је отуда јасно да су ове вредности чешће повишене код пацијената на ривароксабану него на аписабану. Будуће клиничке студије ће показати да ли се иницијално сензитиван модификовани тест за *PT* (*mPT*) може применити на мониторингу пацијената који се лече неким од ДОАК, посебно аписабаном.(61,117)

У студији у Јапану у којој су поређени пацијенти лечени са три различита ДОАК-а (ривароксабан, аписабан и дабигатран) није добијена значајна разлика у смислу тренда промена одређених коагулационих маркера, тј. није било разлике у променама активности антиромбина, протеина Ц, протеина С и Д-димера.(118) Ови резултати, иако нису рађени истом методологијом и на истој популацији болесника (као ни становништва), осим у случају протеина Ц, подударају се са резултатима ове докторске дисертације.

До сада нису учињене проспективне клиничке рандомизоване студије са директним поређењем ефикасности и безбедности између самих ДОАК-а у ПТЕ, већ је сваки ДОАК поређен са витамин К антагонистом.(32,36,92) Чак и између самих ових студија постоји доста разлика у погледу одабира пацијената и њихових основних и клиничких карактеристика што онемогућује да се на овакав начин међусобно пореде ДОАК-и. Ипак, у поређењу са витамин К антагонистом, аписабан је међу ДОАК-има имао најбољу

безбедност у смислу клинички сигнификантног као и великог крварења, без инфериорности у смислу антикоагулантног ефекта. Овакав ефекат апиксабана, иако узиман са резервом због другачије структуре пацијената него у сличним студијама са на пример ривароксабаном, није још јасан, али је врло вероватно да је процес хемостазе најбоље очуван у сложенем односу његовог антикоагулантног дејства тј. остварене блокаде фактора Ха и последичних односа са другим чиниоцима у коагулационој каскади укључујући можда и улогу самих тромбоцита. У овој докторској дисертацији, више вредности за активности фактора II, VII и VIII па и протеина Ц код пацијената на апиксабану, а уз нормалне вредности Д-димера, указују и на могуће постојање усходне регулације коагулационог система, као одговор на уједначен (перзистентан) ефекат апиксабана, без великих флукуација у дози/ефекту лека и уз снажно антикоагулантно дејство. Са друге стране, код ривароксабана и дабигатрана можда не долази до ове усходне регулације коагулационог система због много већих флукуација у фармакодинамским и фармакокинетским особинама, а постојање ових флукуација је показано у досадашњим објављеним студијама.(108,119,120)

Јоурди и сарадници су 2015. године, а касније са још више детаља и Ким и сарадници 2018. године, објавили интересантне резултате у којима су описали поређење фармакодинамике апиксабана и ривароксабана у идентичним *in vitro* условима.(115,121) За разлику од раније добијених вредности константе инхибиције (K_i) за хумани фактор Ха од 0,08 nM за апиксабан и 0,4 nM за ривароксабан, они су у лабораторијским идентичним условима добили да је за апиксабан $K_i=0,74\pm 0,03 nM$, а за ривароксабан $K_i=0,47\pm 0,02$, тј. да је афинитет ривароксабана за фактор Ха око 1,5 пута већи од апиксабана. Са становишта објашњења резултата ове студије, они су одредили још једну битну константу, а то је константа асоцијације (K_{on}) која је показала да ривароксабан чак четири пута брже инхибира фактор Ха од апиксабана. Ако се, по речима ових аутора, продужи полуживот фактора Ха за свега неколико милисекунди, то може проузроковати барем двадесет наредних ланчаних реакција. Дакле, у случају споријег апиксабана, дужи полуживот фактора Ха би значило и већу продукцију тромбина, а управо је то кључни налаз у овој студији. Ипак, ове студије имају и неколико недостатака, а један од њих је што су то контролисани лабораторијски услови те нису могли да се узму у обзир бројни други фактори који владају у *in vivo* условима, као и другачији режим дозирања ова два лека

приликом лечења пацијената, варијабилност у концентрацијама итд. У студији спроведеној од стране Иеко и сарадника, објављеној 2016. године, покушало се кроз израчунавање потенције лека, али узимајући у обзир много више варијабли, да се међусобно упореде различити ДОАК-и.(122) Наиме, истраживачи су користећи се познатим чињеницама о молекулској маси лека, биорасположивости, капацитету везивања за протеине плазме, константи инхибиције и прописаној дози, израчунавали потенцију, тј. степен инхибиције циљног фактора коагулације, за сваки ДОАК појединачно. Поређени су ривароксабан, апиксабан, едоксабан и дабигатран мада је поређење дабигатрана остало спорно због другачијег механизма дејства лека. Ови истраживачи су закључили да апиксабан заправо има највећу потенцију деловања и да се његово антикоагулантно дејство чак може сматрати перзистентним (поредивши га по томе са витамин К антагонистима) пре него интермитентним с обзиром да се даје два пута дневно. Са друге стране, ривароксабан има више интермитентно дејство. Примера ради, режим давања апиксабана у дози од 5 mg два пута дневно премашује 90% потенције ривароксабана када би се овај давао у дози од 18,68 mg два пута дневно. Иако ово питање потенције ДОАК-а и даље остаје отворено, сви ови резултати снажно сугеришу да међу њима постоје значајне разлике у нивоу антикоагулантног ефекта.

Иако до сада не постоје клиничке рандомизоване студије у којим су директно међусобно поређени ДОАК-и, прва студија на анималном моделу, где су међусобно упоређени апиксабан, ривароксабан и дабигатран објављена је од стране Вонг и сарадника 2009. године.(123) У овој студији коришћени су зечеви јер ови инхибитори, *in vitro*, код зечева имају сличну анти-Ха потенцију (апиксабан и ривароксабан) и антикоагулантну потенцију (дабигатран) као код људи. Ови аутори су показали да при превентивним и терапијским дозама, апиксабан и ривароксабан имају бољи однос ефекат/ризик него дабигатран. Иако су сва три антикоагуланса имала слично антитромботично дејство, апиксабан је време крварења при терапијској дози продужио за 1,1s, ривароксабан за 1,9s, а дабигатран за 4,4s што је била значајна разлика у односу на апиксабан. Аутор даље износи претпоставке да је то највероватније због тога што једино дабигатран утиче на активност тромбина, а да се код апиксабана и ривароксабана ипак ствара резидуална количина тромбина који успева да активира високосензитивне рецепторе на тромбоцитима. До идентичне претпоставке о већој активности тромбина код пацијената на

апиксабану смо дошли и ми у овој студији након добијених резултата. Наравно да је translација са анималног на хумани модел веома тешка и да је потребно урадити клиничку студију на људским испитаницима. Ипак, ова студија је прва клиничка студија на пацијентима са плућном тромбоемболијом која је упоредила директно ова три ДОАК-а.

Говорећи у контексту до сада учињених студија које су директно или индиректно поредиле међусобно ДОАК-е, не можемо да не поменемо две велике ретроспективне кохортне студије које су ДОАК-е поредиле код пацијената са невалвуларном атријалном фибрилацијом. Прва је објављена 2019. године од стране Грахама и сарадника, а другу су 2017. године објавили Носворти и сарадници.^(124,125) Грахам и сарадници су користили велику базу података америчких здравствених осигураника (*Medicare*) и студијом су обухваћени сви старији пацијенти преко 65 година који су у превенцији тромбоемболијске болести због невалвуларне атријалне фибрилације добијали или ривароксабан или дабигатран и међусобно упоређени у смислу ефикасности и безбедности. Студијом је обухваћен 118891 пацијент у периоду од 2011. до 2014. године. Резултати студије су показали да су пацијенти на ривароксабану чешће имали интракранијално крварење и велико екстракранијално крварење, укључујући и гастроинтестинално крварење, у поређењу са пацијентима на дабигатрану. Чак су старији преко 75 година на ривароксабану имали чешћу укупну смртност. Са друге стране, пацијенти на ривароксабану су имали мање исхемијских можданих удара, али је сума ризика и бенефита (нето клинички бенефит) била на страни ипак већег ризика у односу на бенефит, у поређењу са пацијентима на дабигатрану. Ова студија је изведена на великом броју пацијената, али спада у опсервационе, ретроспективне студије која је при том имала и кратак просечан период праћења од мање од 4 месеца и односи се на старију популацију. Ипак, истраживачи су закључили да је већа корист од дабигатрана него ривароксабана. У другој студији, Носворти и сарадници су такође користећи америчку базу података о здравственим осигураницима упоредили ефикасност/безбедност код пацијената који су за превенцију тромбоемболијске болести услед невалвуларне атријалне фибрилације лечени ривароксабаном или апиксабаном или дабигатраном. Они су поредили ривароксабан и апиксабан, ривароксабан и дабигатран и апиксабан и дабигатран. Период из ког су добијени подаци је од 2010. до 2015. године и укључио је више десетина хиљада пацијената. Истраживачи су закључили да је ефикасност сва три антикоагуланса у

превенцији тромбоемболијске болести подједнака, али да аликсабан носи значајно мањи ризик од крварења, а да ривароксабан носи значајно већи ризик од интракранијалног и екстракранијалног великог крварења. Ови подаци, морају се узети са резервом, јер велико је питање упоредивости група, због присутних недостатака оваквих ретроспективних студија. Па ипак, резултати корелирају са резултатима ове докторске дисертације. Наиме, код пацијената у овој докторској дисертацији, ривароксабан је заиста имао највећу инхибицију система коагулације, иако је та разлика статистички значајна само у поређењу са аликсабаном. Уз постојање ограничења овог истраживања у којој је обухваћен релативно мали број пацијената, можда се може очекивати да би се, на већем броју пацијената, та значајност разлике појавила и у поређењу са дабигатраном. Такође, аликсабан у резултатима показује најбоље ефекте који би ишли у корист очувања хемостазе, те је и очекиван овакав резултат најбоље безбедности овог лека у наведеним студијама. Оно што није у корелацији са претпоставкама из раније поменутих *in vitro* и *ex vivo* студија, као и *in vivo* студија на зечевима, је то да би се на основу тих резултата ипак очекивало да дабигатран има највеће крварење уз снажан антикоагулантни ефекат, услед комплетне инхибиције активности тромбина, последичне блокаде тромбином посредоване активације тромбоцита и унутрашњег пута коагулације. Ова докторска дисертација, па и друге две поменуте ретроспективне студије, користећи податке мерене *in vivo*, на људима, односно користећи клиничке податке, показују да је, барем кад је у питању ривароксабан, тај распоред снага другачији. Свакако, ова дисертација је рађена на другој популацији пацијената, који су имали плућну тромбоемболију, али сматрамо да је под дејством стабилне антикоагулантне терапије добијени резултат очекиван и код других пацијената, попут оних са невалвуларном атријалном фибрилацијом.

Из свега овога би онда могао проистећи и закључак да је аликсабан лек са боље избалансираним дејством, у смислу ефикасност/безбедност, у односу на друга два ДОАК-а, обезбеђујући бољу хемостазу уз довољан антикоагулантни ефекат. Ипак, овакав закључак би без претходних рандомизованих клиничких студија са директним међусобним поређењем ДОАК-а са акцентом на ефикасност и безбедност, био преурањен, а ставио би аликсабан у неравноправан и повлашћен положај у односу на друге ДОАК-е.

У досадашњој дискусији дотакли смо се неких битних претпоставки око механизма настанка ових статистички значајних разлика у активности фактора II, која је несумњиво највећа код пацијената на апиксабану. Али у резултатима су присутне и неке друге значајне разлике као што је већа активност фактора VII, VIII и антикоагулантног протеина Ц. Из до сада објављених радова лако можемо видети повезаност тромбина са активацијом ових фактора па и протеина Ц (преко тромбомодулина).(20) Зато мислимо да је главни налаз у овој докторској дисертацији пре свега разлика у активности фактора II, а да су све остале разлике резултат сложеног међусобног дејства тромбина и осталих фактора у коагулационој каскади. Тешко је објаснити зашто није присутна значајна разлика између апиксабана и ривароксабана у активности фактора VIII, односно апиксабана и дабигатрана у активности фактора VII и протеина Ц, јер се ови фактори такође активирају преко тромбина који је значајно повишен код апиксабана. Можда бисмо на већем броју пацијената ипак добили јасније разлике. Свакако, током праћења пацијената и са повећањем њиховог броја, значајност разлике у фактору II се рано јавила и одржавала као константа до краја студије. Овакав налаз, уз клиничке налазе скорашњих ретроспективних студија који снажно корелирају са налазом овог истраживања, охрабрује да је резултат добијен у овој докторској дисертацији тачан, иако добијен на релативно малом узорку, као и да није резултат могућих лабораторијских грешака које су описиване у литератури.(126)

Значај ове докторске дисертације је пре свега у доприносу за боље разумевања различитих деловања ДОАК-а на сложен систем коагулационе каскаде. Оваква сазнања која могу бити увод, али и допуна клиничким рандомизованим студијама, олакшавају нам да боље разумемо клиничке ефекте, а самим тим и корист ДОАК-а у специфичним ситуацијама њихове примене као и код различитих индикација. Циљ оваквих истраживања није да се нађе који је од ДОАК-а најбољи, јер ће сваки имати своје место у лечењу тромбоемболијске болести, већ шта можемо да очекујемо од сваког од њих у одређеној индикацији. Снажан антикоагулантни ефекат уз истовремено постигнуту идеалну безбедност још није постигнут ни код једног, али је неопходно да знамо колики су посебни домети у ефикасности и безбедности код сваког од њих. Верујем да апиксабан уз антикоагулантни ефекат има најбољу активацију система хемостазе, али није јасно да ли је у стањима појачане тромбогености то особина због које треба применити неки од друга два ДОАК-а. Ривароксабан и дабигатран имају различите механизме дејства, али у

результатима овог истраживања се нису значајно разликовали у добијеним налазима. Ипак, досадашњи клинички подаци говоре да те разлике можда ипак постоје. Даља истраживања су неопходна.

ЗАКЉУЧЦИ

1. Мерење активности фактора коагулационе каскаде и њихово поређење између пацијената након месец дана стабилне терапије једним од ДОАК-а (апиксабан, ривароксабан или дабигатран) показало је да постоје разлике чак и када су у питању лекови са истим механизмом дејства.
2. Пацијенти са плућном емболијом, након месец дана антикоагулантне терапије апиксабаном имају значајно већу активност тромбина у поређењу са пацијентима који су због исте индикације узимали ривароксабан или дабигатран.
3. Код пацијената на апиксабану такође су повишене активности и фактора VII и протеина Ц у односу на оне на ривароксабану, као и фактора VIII у поређењу са пацијентима на дабигатрану.
4. Концентрације Д-димера, фибриногена као и анти-Ха активност (за апиксабан и ривароксабан) нису се значајно разликовале између група што показује стабилан антикоагуланти ефекат испитиваних ДОАК-а.
5. Спровођење нове студије у којој би се испитао хемостатски потенцијал вишка активности тромбина код пацијената на апиксабану у односу на оне на ривароксабану пружило би нова сазнања о евентуалним разликама у безбедности између ова два антикоагуланса са истим механизмом дејства.

ЛІТЕРАТУРА

1. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics—2010 Update. *Circulation* [Internet]. 2010 Feb 23;121(7):948–54. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192666>
2. Ruppert A, Lees M, Steinle T. Clinical burden of venous thromboembolism. *Curr Med Res Opin* [Internet]. 2010 Oct 8;26(10):2465–73. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1185/03007995.2010.516090>
3. Dahlbäck B. Blood coagulation. *Lancet* [Internet]. 2000 May;355(9215):1627–32. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067360002225X>
4. Schenone M, Furie BC, Furie B. The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol* [Internet]. 2004 Jul;11(4):272–7. Available from: <http://journals.lww.com/00062752-200407000-00007>
5. Goldhaber SZ. Risk Factors for Venous Thromboembolism. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2010 Jun;56(1):1–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109710015251>
6. Baumgartner HR. The role of blood flow in platelet adhesion, fibrin deposition, and formation of mural thrombi. *Microvasc Res* [Internet]. 1973 Mar;5(2):167–79. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0026286273900691>
7. Lassila R, Badimon JJ, Vallabhajosula S, Badimon L. Dynamic monitoring of platelet deposition on severely damaged vessel wall in flowing blood. Effects of different stenoses on thrombus growth. *Arterioscler An Off J Am Hear Assoc Inc* [Internet]. 1990 Mar;10(2):306–15. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.ATV.10.2.306>
8. Epstein FH, Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med* [Internet].

- 1992 Jan 30;326(5):310–8. Available from:
<http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199201303260506>
9. RICHARDSON P. INFLUENCE OF PLAQUE CONFIGURATION AND STRESS DISTRIBUTION ON FISSURING OF CORONARY ATHEROSCLEROTIC PLAQUES. *Lancet* [Internet]. 1989 Oct;334(8669):941–4. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673689909537>
 10. Di Minno MND, Ambrosino P, Ambrosini F, Tremoli E, Di Minno G, Dentali F. Prevalence of deep vein thrombosis and pulmonary embolism in patients with superficial vein thrombosis: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2016 May;14(5):964–72. Available from:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.13279>
 11. Owens AP, Mackman N. Tissue factor and thrombosis: The clot starts here. *Thromb Haemost* [Internet]. 2010 Nov 23;104(09):432–9. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1160/TH09-11-0771>
 12. John E. Hall ACG. Hemostasis and blood coagulation. In: *TEXTBOOK OF MEDICAL PHYSIOLOGY*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences; 2010. p. 457–9.
 13. Wheeler AP, Rice TW. Coagulopathy in Critically Ill Patients. *Chest* [Internet]. 2010 Jan;137(1):185–94. Available from:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369210600323>
 14. Triplett DA. Coagulation and Bleeding Disorders: Review and Update. *Clin Chem* [Internet]. 2000 Aug 1;46(8):1260–9. Available from:
<https://doi.org/10.1093/clinchem/46.8.1260>
 15. Bos MHA, van 't Veer C, Reitsma PH. Molecular Biology and Biochemistry of the Coagulation Factors and Pathways of Hemostasis. In: Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, Levi MM, Press OW, Burns LJ, et al., editors. *Williams Hematology*, 9e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2015. p. 614–6. Available from:
<http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1121102570>

16. Opal SM, Kessler CM, Roemisch J, Knaub S. Antithrombin, heparin, and heparan sulfate. *Crit Care Med* [Internet]. 2002 May;30(Supplement):S325–31. Available from: <http://journals.lww.com/00003246-200205001-00024>
17. Quinsey NS, Greedy AL, Bottomley SP, Whisstock JC, Pike RN. Antithrombin: in control of coagulation. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2004 Mar;36(3):386–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1357272503002449>
18. Price GC, Thompson SA, Kam PCA. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *Anaesthesia* [Internet]. 2004 May;59(5):483–92. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2044.2004.03679.x>
19. Ejiofor JA. Anticlotting mechanisms I: Physiology and pathology. *Contin Educ Anesth Crit Care Pain*. 2013;13:87–92.
20. Palta S, Saroa R, Palta A. Overview of the coagulation system. *Indian J Anaesth* [Internet]. 2014 Sep;58(5):515–23. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25535411>
21. Bělohávek J, Dytrych V, Linhart A. Pulmonary embolism, part I: Epidemiology, risk factors and risk stratification, pathophysiology, clinical presentation, diagnosis and nonthrombotic pulmonary embolism. *Exp Clin Cardiol* [Internet]. 2013;18(2):129–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23940438>
22. Ae IAN, H A M M E R S T R Ø M J. Incidence and mortality of venous thrombosis: a population-based study.
23. Alikhan R, Peters F, Wilmott R, Cohen AT. Fatal pulmonary embolism in hospitalised patients: a necropsy review. *J Clin Pathol* [Internet]. 2004 Dec;57(12):1254–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15563663>
24. Konstantinides S V., Meyer G, Bueno H, Galié N, Gibbs JSR, Agno W, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European respiratory society (ERS) [Internet]. Vol. 41, *European Heart Journal*. Poland; 2020. p. 543–603. Available from: www.escardio.org/guidelines
25. Wendelboe AM, Raskob GE. Global Burden of Thrombosis: Epidemiologic Aspects. *Circ*

- Res [Internet]. 2016;118(9):1340–7. Available from: <http://circres.ahajournals.org>
26. Anderson FA, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism [Internet]. Vol. 107, *Circulation*. 2003. Available from: <http://www.circulationaha.org>
 27. Konstantinides S V, Meyer G, Becattini C, Bueno H, Geersing G-J, Harjola V-P, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of acute pulmonary embolism developed in collaboration with the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J* [Internet]. 2020;41(4):543–603. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31504429>
 28. Pollack C V, Schreiber D, Goldhaber SZ, Slattery D, Fanikos J, O’Neil BJ, et al. Clinical characteristics, management, and outcomes of patients diagnosed with acute pulmonary embolism in the emergency department: initial report of EMPEROR (Multicenter Emergency Medicine Pulmonary Embolism in the Real World Registry). *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2011 Feb 8;57(6):700–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21292129>
 29. Streiff MB, Agnelli G, Connors JM, Crowther M, Eichinger S, Lopes R, et al. Guidance for the treatment of deep vein thrombosis and pulmonary embolism. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2016 Jan 16;41(1):32–67. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11239-015-1317-0>
 30. Thaler J, Pabinger I, Ay C. Anticoagulant Treatment of Deep Vein Thrombosis and Pulmonary Embolism: The Present State of the Art. *Front Cardiovasc Med* [Internet]. 2015;2:30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26664901>
 31. Schulman S, Kakkar AK, Goldhaber SZ, Schellong S, Eriksson H, Mismetti P, et al. Treatment of acute venous thromboembolism with dabigatran or warfarin and pooled analysis. *Circulation*. 2014 Feb 18;129(7):764–72.
 32. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK, Mismetti P, Schellong S, Eriksson H, et al. Dabigatran versus Warfarin in the Treatment of Acute Venous Thromboembolism. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Dec 10;361(24):2342–52. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0906598>

33. Bauersachs R, Berkowitz SD, Brenner B, Buller HR, Decousus H, Gallus AS, et al. Oral Rivaroxaban for Symptomatic Venous Thromboembolism The EINSTEIN Investigators* The members of the writing committee (A B S T R A C T. N Engl J Med. 2010;363:2499–510.
34. Bailey AL. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. Vol. 28, Cardiology Review. 2012. p. 1287–97.
35. Weitz JI, Lensing AWA, Prins MH, Bauersachs R, Beyer-Westendorf J, Bounameaux H, et al. Rivaroxaban or Aspirin for Extended Treatment of Venous Thromboembolism. N Engl J Med. 2017;376(13):1211–22.
36. Agnelli G, Buller HR, Cohen A, Curto M, Gallus AS, Johnson M, et al. Oral Apixaban for the Treatment of Acute Venous Thromboembolism. N Engl J Med [Internet]. 2013 Jul 1;369(9):799–808. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1302507>
37. Agnelli G, Buller HR, Cohen A, Curto M, Gallus AS, Johnson M, et al. Apixaban for Extended Treatment of Venous Thromboembolism. NEJM.org N Engl J Med. 2013;8:699–708.
38. Bane CE, Gailani D. Factor XI as a target for antithrombotic therapy. Drug Discov Today. 2014 Sep 1;19(9):1454–8.
39. Hogg K, Weitz JI. Blood Coagulation and Anticoagulant, Fibrinolytic, and Antiplatelet Drugs. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 13e [Internet]. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2017. Available from: <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1162539182>
40. Harter K, Levine M, Henderson SO. Anticoagulation drug therapy: a review. West J Emerg Med. 2015 Jan;16(1):11–7.
41. D. Douketis J. Pharmacologic Properties of the New Oral Anticoagulants: A Clinician-oriented Review with a Focus on Perioperative Management. Curr Pharm Des [Internet]. 2010 Oct 1;16(31):3436–41. Available from:

<http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1381-6128&volume=16&issue=31&spage=3436>

42. Gresham C, Levine M, Ruha A-M. Case files of the medical toxicology fellowship at banner good samaritan medical center in Phoenix, AZ: A non-warfarin anticoagulant overdose. *J Med Toxicol* [Internet]. 2009 Dec;5(4):242–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/BF03178275>
43. Ageno W, Gallus AS, Wittkowsky A, Crowther M, Hylek EM, Palareti G. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 2012 Feb;141(2 Suppl):e44S-e88S.
44. Kelly JG, O'Malley K. Clinical Pharmacokinetics of Oral Anticoagulants. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 1979;4(1):1–15. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-197904010-00001>
45. Nutescu EA, Shapiro NL, Ibrahim S, West P. Warfarin and its interactions with foods, herbs and other dietary supplements. *Expert Opin Drug Saf* [Internet]. 2006 May 13;5(3):433–51. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14740338.5.3.433>
46. Wittkowsky AK. Drug Interactions Update: Drugs, Herbs, and Oral Anticoagulation. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2001;12(1):67–71. Available from: <https://doi.org/10.1023/A:1012742628628>
47. Nutescu EA, Burnett A, Fanikos J, Spinler S, Wittkowsky A. Pharmacology of anticoagulants used in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2016 Jan 16;41(1):15–31. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11239-015-1314-3>
48. Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals. Pradaxa (dabigatran) prescribing information. Ridgefield, CT; 2015.
49. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, Eikelboom J, Oldgren J, Parekh A, et al.

- Dabigatran versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Sep 17;361(12):1139–51. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0905561>
50. Eisert WG, Huel N, Stangier J, Wienen W, Clemens A, van Ryn J. Dabigatran: An Oral Novel Potent Reversible Nonpeptide Inhibitor of Thrombin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* [Internet]. 2010 Oct;30(10):1885–9. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/ATVBAHA.110.203604>
 51. Stangier J, Stähle H, Rathgen K, Fuhr R. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of the Direct Oral Thrombin Inhibitor Dabigatran in Healthy Elderly Subjects. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 2008;47(1):47–59. Available from: <http://link.springer.com/10.2165/00003088-200847010-00005>
 52. Finch A, Pillans P. P-glycoprotein and its role in drug-drug interactions. *Aust Prescr* [Internet]. 2014/08/04. 2014;37(4):137–9. Available from: <https://www.nps.org.au/australian-prescriber/articles/p-glycoprotein-and-its-role-in-drug-drug-interactions>
 53. van Ryn J, Huel N, Waldmann L, Wienen W. Dabigatran inhibits both clot-bound and fluid-phase thrombin in vitro: comparison to heparin and hirudin. In: *ARTERIOSCLEROSIS THROMBOSIS AND VASCULAR BIOLOGY*. LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS 530 WALNUT ST, PHILADELPHIA, PA 19106-3621 USA; 2008. p. E136–7.
 54. Weitz JI, Leslie B, Hudoba M. Thrombin Binds to Soluble Fibrin Degradation Products Where it Is Protected From Inhibition by Heparin-Antithrombin but Susceptible to Inactivation by Antithrombin-Independent Inhibitors. *Circulation* [Internet]. 1998 Feb 17;97(6):544–52. Available from: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.CIR.97.6.544>
 55. Arbelo E, Bax JJ, Blomström-Lundqvist C, Boriani G, Castella M, Dan G-A, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) ESC Committee for Practice Guidelines (CPG) and National Cardiac Societies document re.

Available from: www.escardio.org/guidelines

56. Xarelto (rivaroxaban) prescribing information [Internet]. Interactions. Titusville, NJ: Janssen Pharmaceuticals; 2015. p. 1–34. Available from: <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.janssenlabels.com/package-insert/product-monograph/prescribing-information/XARELTO-pi.pdf>
57. Kubitza D, Becka M, Zuehlsdorf M, Mueck W. Body weight has limited influence on the safety, tolerability, pharmacokinetics, or pharmacodynamics of rivaroxaban (BAY 59-7939) in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* [Internet]. 2007 Feb;47(2):218–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17244773>
58. Kubitza D, Becka M, Roth A, Mueck W. The influence of age and gender on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban--an oral, direct Factor Xa inhibitor. *J Clin Pharmacol* [Internet]. 2013 Mar;53(3):249–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23381840>
59. Bristol-Myers Squibb and Pfizer. Eliquis (apixaban) prescribing information. Princeton, NJ and New York, NY; 2015.
60. He K, Luetttgen JM, Zhang D, He B, Grace JE, Xin B, et al. Preclinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban, a potent and selective factor Xa inhibitor. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* [Internet]. 2011 Sep 2;36(3):129–39. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13318-011-0037-x>
61. Frost C, Wang J, Nepal S, Schuster A, Barrett YC, Mosqueda-Garcia R, et al. Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* [Internet]. 2013 Feb 1;75(2):476–87. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2012.04369.x>
62. Wang L, Zhang D, Raghavan N, Yao M, Ma L, Frost CE, et al. In vitro assessment of metabolic drug-drug interaction potential of apixaban through cytochrome P450 phenotyping, inhibition, and induction studies. *Drug Metab Dispos* [Internet]. 2010 Mar;38(3):448–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19940026>

63. Wang X, Tirucherai G, Marbury TC, Wang J, Chang M, Zhang D, et al. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of apixaban in subjects with end-stage renal disease on hemodialysis. *J Clin Pharmacol* [Internet]. 2016 May;56(5):628–36. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcph.628>
64. Byon W, Garonzik S, Boyd RA, Frost CE. Apixaban: A Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review. *Clin Pharmacokinet* [Internet]. 2019;58(10):1265–79. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40262-019-00775-z>
65. Wong PC, Pinto DJP, Zhang D. Preclinical discovery of apixaban, a direct and orally bioavailable factor Xa inhibitor. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2011 May 13;31(4):478–92. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11239-011-0551-3>
66. Raghavan N, Frost CE, Yu Z, He K, Zhang H, Humphreys WG, et al. Apixaban Metabolism and Pharmacokinetics after Oral Administration to Humans. *Drug Metab Dispos* [Internet]. 2009 Jan;37(1):74–81. Available from: <http://dmd.aspetjournals.org/lookup/doi/10.1124/dmd.108.023143>
67. Wang X, Mondal S, Wang J, Tirucherai G, Zhang D, Boyd RA, et al. Effect of Activated Charcoal on Apixaban Pharmacokinetics in Healthy Subjects. *Am J Cardiovasc Drugs* [Internet]. 2014 Apr 26;14(2):147–54. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s40256-013-0055-y>
68. Frost CE, Byon W, Song Y, Wang J, Schuster AE, Boyd RA, et al. Effect of ketoconazole and diltiazem on the pharmacokinetics of apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor. *Br J Clin Pharmacol*. 2015 May;79(5):838–46.
69. Luetzgen JM, Knabb RM, He K, Pinto DJP, Rendina AR. Apixaban inhibition of factor Xa: Microscopic rate constants and inhibition mechanism in purified protein systems and in human plasma. *J Enzyme Inhib Med Chem* [Internet]. 2011 Aug 1;26(4):514–26. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/14756366.2010.535793>
70. Jiang X, Crain EJ, Luetzgen JM, Schumacher WA, Wong PC. Apixaban, an oral direct factor Xa inhibitor, inhibits human clot-bound factor Xa activity in vitro. *Thromb Haemost* [Internet]. 2009 Apr 8;101(4):780–2. Available from:

https://www.unboundmedicine.com/medline/citation/19350128/Apixaban_an_oral_direct_factor_Xa_inhibitor_inhibits_human_clot_bound_factor_Xa_activity_in_vitro_

71. Raymond J, Imbert L, Cousin T, Dufлот T, Varin R, Wils J, et al. Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. Vol. 11, *Journal of Personalized Medicine* . 2021.
72. Lenoir C, Terrier J, Gloor Y, Gosselin P, Daali Y, Combescure C, et al. Impact of the Genotype and Phenotype of CYP3A and P-gp on the Apixaban and Rivaroxaban Exposure in a Real-World Setting. *J Pers Med* [Internet]. 2022 Mar 24;12(4):526. Available from: <https://www.mdpi.com/2075-4426/12/4/526>
73. Terrier J, Gaspar F, Fontana P, Daali Y, Reny J-L, Csajka C, et al. Drug-Drug Interactions with Direct Oral Anticoagulants: Practical Recommendations for Clinicians. *Am J Med* [Internet]. 2021 Aug;134(8):939–42. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934321002813>
74. Sanborn D, Sugrue A, Amin M, Mehta R, Farwati M, Deshmukh AJ, et al. Outcomes of Direct Oral Anticoagulants Co-Prescribed with Common Interacting Medications. *Am J Cardiol* [Internet]. 2022 Jan;162:80–5. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914921009425>
75. Lee JY, Oh I-Y, Lee J-H, Kim S-Y, Kwon SS, Yang H-J, et al. The increased risk of bleeding due to drug-drug interactions in patients administered direct oral anticoagulants. *Thromb Res* [Internet]. 2020 Nov;195:243–9. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0049384820304357>
76. Hanigan S, Das J, Pogue K, Barnes GD, Dorsch MP. The real world use of combined P-glycoprotein and moderate CYP3A4 inhibitors with rivaroxaban or apixaban increases bleeding. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2020 May 10;49(4):636–43. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11239-020-02037-3>
77. Fernandez S, Lenoir C, Samer CF, Rollason V. Drug-Drug Interactions Leading to Adverse Drug Reactions with Rivaroxaban: A Systematic Review of the Literature and Analysis of Vigibase. Vol. 11, *Journal of Personalized Medicine* . 2021.

78. Gronich N, Stein N, Muszkat M. Association Between Use of Pharmacokinetic-Interacting Drugs and Effectiveness and Safety of Direct Acting Oral Anticoagulants: Nested Case-Control Study. *Clin Pharmacol Ther* [Internet]. 2021 Dec 10;110(6):1526–36. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpt.2369>
79. Dale BJ, Chan NC, Eikelboom JW. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants. *Br J Haematol* [Internet]. 2016 Feb 1;172(3):315–36. Available from: <https://doi.org/10.1111/bjh.13810>
80. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ V, Lopes RD, Hylek EM, Hanna M, et al. Apixaban versus Warfarin in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Aug 27;365(11):981–92. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1107039>
81. Mueck W, Borris LC, Dahl OE, Haas S, Huisman M V., Kakkar AK, et al. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of once and twice-daily rivaroxaban for the prevention of venous thromboembolism in patients undergoing total hip replacement. *Thromb Haemost* [Internet]. 2008 Nov 24;100(09):453–61. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1160/TH07-12-0714>
82. Hawes EM, Deal AM, Funk-Adcock D, Gosselin R, Jeanneret C, Cook AM, et al. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: a cross-sectional pharmacodynamic study based on peak and trough plasma levels. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2013 Aug;11(8):1493–502. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.12308>
83. Buller HR, Lensing AWA, Prins MH, Agnelli G, Cohen A, Gallus AS, et al. A dose-ranging study evaluating once-daily oral administration of the factor Xa inhibitor rivaroxaban in the treatment of patients with acute symptomatic deep vein thrombosis: the Einstein–DVT Dose-Ranging Study. *Blood* [Internet]. 2008 Sep 15;112(6):2242–7. Available from: <https://ashpublications.org/blood/article/112/6/2242/24893/A-doseranging-study-evaluating-oncedaily-oral>
84. Schmitz EMH, Boonen K, van den Heuvel DJA, van Dongen JLJ, Schellings MWM, Emmen JMA, et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-

performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and coagulation assays for therapy monitoring of novel direct oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2014 Oct;12(10):1636–46. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jth.12702>

85. Chiang Spencer WZ and ZO. Mass Spectrometry and Applications. In: Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 24th ed. 2022. p. 60–73.
86. Cuker A, Siegal DM, Crowther MA, Garcia DA. Laboratory Measurement of the Anticoagulant Activity of the Non–Vitamin K Oral Anticoagulants. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 2014 Sep;64(11):1128–39. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109714044325>
87. Gouin-Thibault I, Flaujac C, Delavenne X, Quenet S, Horellou M-H, Laporte S, et al. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicentre French GEHT study. *Thromb Haemost* [Internet]. 2014 Feb;111(2):240–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24172843>
88. Dager WE, Gosselin RC, Kitchen S, Dwyre D. Dabigatran Effects on the International Normalized Ratio, Activated Partial Thromboplastin Time, Thrombin Time, and Fibrinogen: A Multicenter, In Vitro Study. *Ann Pharmacother* [Internet]. 2012 Dec 1;46(12):1627–36. Available from: <https://doi.org/10.1345/aph.1R179>
89. Gosselin RC, Francart SJ, Hawes EM, Moll S, Dager WE, Adcock DM. Heparin-Calibrated Chromogenic Anti-Xa Activity Measurements in Patients Receiving Rivaroxaban: Can This Test Be Used to Quantify Drug Level? *Ann Pharmacother* [Internet]. 2015 Jul;49(7):777–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25855705>
90. Becker RC, Yang H, Barrett Y, Mohan P, Wang J, Wallentin L, et al. Chromogenic laboratory assays to measure the factor Xa-inhibiting properties of apixaban--an oral, direct and selective factor Xa inhibitor. *J Thromb Thrombolysis* [Internet]. 2011 Aug;32(2):183–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21516308>
91. Konstantinides S V, Torbicki A, Agnelli G, Danchin N, Fitzmaurice D, Galiè N, et al.

2014 ESC Guidelines on the diagnosis and management of acute pulmonary embolism: The Task Force for the Diagnosis and Management of Acute Pulmonary Embolism of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by the European Respiratory Society (ERS). *Eur Heart J* [Internet]. 2014 Nov 14;35(43):3033–80. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu283>

92. Bailey AL. Oral rivaroxaban for the treatment of symptomatic pulmonary embolism. *Cardiol Rev* [Internet]. 2012 Mar 26;28(3):1287–97. Available from: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1113572>
93. Schulman S, Kakkar AK, Goldhaber SZ, Schellong S, Eriksson H, Mismetti P, et al. Treatment of Acute Venous Thromboembolism With Dabigatran or Warfarin and Pooled Analysis. *Circulation* [Internet]. 2014 Feb 18;129(7):764–72. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.113.004450>
94. Grimnes G, Isaksen T, Tichelaar YIGV, Braekkan SK, Hansen J-B. Acute infection as a trigger for incident venous thromboembolism: Results from a population-based case-crossover study. *Res Pract Thromb Haemost* [Internet]. 2018 Jan;2(1):85–92. Available from: <https://doi.org/10.1002/rth2.12065>
95. Cook D, Attia J, Weaver B, McDonald E, Meade M, Crowther M. Venous thromboembolic disease: An observational study in medical-surgical intensive care unit patients. *J Crit Care* [Internet]. 2000;15(4):127–32. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0883944100377012>
96. Huang C-W, Duan L, An J, Sim JJ, Lee M-S. Effectiveness and Safety of Dabigatran in Atrial Fibrillation Patients with Severe Obesity: a Real-World Retrospective Cohort Study. *J Gen Intern Med* [Internet]. 2021 Sep 20; Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s11606-021-07114-8>
97. Carreiro J, Ansell J. Apixaban, an oral direct Factor Xa inhibitor: awaiting the verdict. *Expert Opin Investig Drugs* [Internet]. 2008 Dec 1;17(12):1937–45. Available from: <https://doi.org/10.1517/13543780802528625>
98. Peat Barton, Belinda., J. *Medical Statistics : a Guide to Data Analysis and Critical*

- Appraisal. [Internet]. Chichester: John Wiley & Sons; 2008. Available from: http://www.123library.org/book_details/?id=3778
99. Gosselin RC, Adcock DM. The laboratory's 2015 perspective on direct oral anticoagulant testing. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2016 May 1;14(5):886–93. Available from: <https://doi.org/10.1111/jth.13266>
 100. Ieko M, Tarumi T, Takeda M, Naito S, Nakabayashi T, Koike T. Synthetic selective inhibitors of coagulation factor Xa strongly inhibit thrombin generation without affecting initial thrombin forming time necessary for platelet in hemostasis. *J Thromb Haemost*. 2004;2(4):612–8.
 101. Guo W-Q, Chen X-H, Tian X-Y, Li L. Differences In Gastrointestinal Safety Profiles Among Novel Oral Anticoagulants: Evidence From A Network Meta-Analysis. *Clin Epidemiol*. 2019;11:911–21.
 102. Chan Y-H, See L-C, Tu H-T, Yeh Y-H, Chang S-H, Wu L-S, et al. Efficacy and Safety of Apixaban, Dabigatran, Rivaroxaban, and Warfarin in Asians With Nonvalvular Atrial Fibrillation. *J Am Heart Assoc*. 2018 Apr;7(8).
 103. Larsen TB, Skjøth F, Nielsen PB, Kjældgaard JN, Lip GYH. Comparative effectiveness and safety of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and warfarin in patients with atrial fibrillation: propensity weighted nationwide cohort study. *BMJ* [Internet]. 2016 Jun 16;353:i3189. Available from: <http://www.bmj.com/content/353/bmj.i3189.abstract>
 104. Mamas MA, Batson S, Pollock KG, Grundy S, Matthew A, Chapman C, et al. Meta-Analysis Comparing Apixaban Versus Rivaroxaban for Management of Patients With Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Am J Cardiol* [Internet]. 2022 Mar;166:58–64. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914921011486>
 105. Vrijens B, Heidbuchel H. Non-vitamin K antagonist oral anticoagulants: considerations on once- vs. twice-daily regimens and their potential impact on medication adherence. *EP Eur* [Internet]. 2015 Apr 1;17(4):514–23. Available from: <https://doi.org/10.1093/europace/euu311>

106. Comté L, Vrijens B, Tousset E, Gérard P, Urquhart J. Estimation of the comparative therapeutic superiority of QD and BID dosing regimens, based on integrated analysis of dosing history data and pharmacokinetics. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2007;34(4):549–58.
107. Frost C, Song Y, Barrett YC, Wang J, Pursley J, Boyd RA, et al. A randomized direct comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of apixaban and rivaroxaban. *Clin Pharmacol*. 2014;6:179–87.
108. Mueck W, Stampfuss J, Kubitzka D, Becka M. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban. *Clin Pharmacokinet*. 2014 Jan;53(1):1–16.
109. Samama MM, Guinet C. Laboratory assessment of new anticoagulants. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2011;49(5):761–72. Available from: <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.134>
110. Turkoglu EI. NOACs and routine coagulation assays. How to interpret? Vol. 1, *International Journal of the Cardiovascular Academy*. No longer published by Elsevier; 2015. p. 41–2.
111. Ryn J van, Stangier J, Haertter S, Liesenfeld K-H, Wienen W, Feuring M, et al. Dabigatran etexilate – a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: Interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost* [Internet]. 2010 Nov 22;103(06):1116–27. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1160/TH09-11-0758>
112. Douxfils J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné J-M. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. *Thromb Haemost*. 2012;107(05):985–97.
113. Samama MM, Martinoli J-L, LeFlem L, Guinet C, Plu-Bureau G, Depasse F, et al. Assessment of laboratory assays to measure rivaroxaban—an oral, direct factor Xa inhibitor. *Thromb Haemost*. 2010;103(04):815–25.
114. Barrett YC, Wang Z, Frost C, Shenker A. Clinical laboratory measurement of direct factor

- Xa inhibitors: anti-Xa assay is preferable to prothrombin time assay. *Thromb Haemost.* 2010;104(12):1263–71.
115. Kim PY, Yeh CH, Dale BJ, Leslie BA, Stafford AR, Fredenburgh JC, et al. Mechanistic Basis for the Differential Effects of Rivaroxaban and Apixaban on Global Tests of Coagulation. *TH open companion J to Thromb Haemost.* 2018 Apr;2(2):e190–201.
 116. Burchiel KJ. International normalized ratio [Internet]. Vol. 114, *Journal of Neurosurgery*. StatPearls Publishing; 2011 [cited 2022 Jul 20]. p. 8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507707/>
 117. Barrett YC, Wang Z, Knabb RM. A novel prothrombin time assay for assessing the anticoagulant activity of oral factor Xa inhibitors. *Clin Appl Thromb.* 2013;19(5):522–8.
 118. Nagao T, Hunakubo H, Suzuki M, Kataoka T, Okumura S, Shinoda N, et al. Trends in physiological coagulation factors in Japanese patients receiving novel oral anticoagulants. *J arrhythmia.* 2017 Apr;33(2):117–21.
 119. Vanassche T, Verhamme P. The NOACs: pharmacodynamics and pharmacokinetics. In: DeCaterina R, editor. *ESC CardioMed* [Internet]. Oxford University Press; 2018. p. 264–8. Available from: <https://www.oxfordmedicine.com/view/10.1093/med/9780198784906.001.0001/med-9780198784906-chapter-55>
 120. Gong IY, Kim RB. Importance of Pharmacokinetic Profile and Variability as Determinants of Dose and Response to Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban. *Can J Cardiol* [Internet]. 2013 Jul;29(7):S24–33. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0828282X13002122>
 121. Jourdi G, Siguret V, Martin AC, Golmard J-L, Godier A, Samama C-M, et al. Association rate constants rationalise the pharmacodynamics of apixaban and rivaroxaban. *Thromb Haemost* [Internet]. 2015 Nov 22;114(07):78–86. Available from: <http://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1160/TH14-10-0877>
 122. Ieko M, Naitoh S, Yoshida M, Takahashi N. Profiles of direct oral anticoagulants and

clinical usage-dosage and dose regimen differences. Vol. 4, Journal of Intensive Care. 2016.

123. WONG PC, CRAIN EJ, WATSON CA, XIN B. Favorable therapeutic index of the direct factor Xa inhibitors, apixaban and rivaroxaban, compared with the thrombin inhibitor dabigatran in rabbits. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2009 Aug;7(8):1313–20. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1538-7836.2009.03503.x>
124. Noseworthy PA, Yao X, Abraham NS, Sangaralingham LR, McBane RD, Shah ND. Direct Comparison of Dabigatran, Rivaroxaban, and Apixaban for Effectiveness and Safety in Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Chest* [Internet]. 2016 Dec;150(6):1302–12. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0012369216526762>
125. Graham DJ, Baro E, Zhang R, Liao J, Wernecke M, Reichman ME, et al. Comparative Stroke, Bleeding, and Mortality Risks in Older Medicare Patients Treated with Oral Anticoagulants for Nonvalvular Atrial Fibrillation. *Am J Med* [Internet]. 2019 May;132(5):596-604.e11. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934319300518>
126. Magnette A, Chatelain M, Chatelain B, Ten Cate H, Mullier F. Pre-analytical issues in the haemostasis laboratory: guidance for the clinical laboratories. *Thromb J* [Internet]. 2016;14(1):49. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12959-016-0123-z>

Биографија

Јелена Цудовић је рођена у Београду 15. маја 1983. године где је завршила основну школу и гимназију „Свети Сава“, а потом и Фармацеутски факултет. Након завршетка студија радила је у приватној лабораторији „Завод за лабораторијску дијагностику Хексалаб“ у Београду, а потом у Центру војномедицинских установа Београд одакле одлази на специјализацију 2016. године. Специјалистичке студије из токсиколошке хемије на Фармацеутском факултету у Београду завршила је 2019. године са одличном оценом. У Одељењу за токсиколошку хемију, Института за фармакологију и токсикологију Центра за контролу тровања Војномедицинске академије запослена је од јануара 2020. године. Током своје каријере посебно се бавила лабораторијском дијагностиком лекова из групе директних оралних антикоагуланаса (ДОАК) код пацијената са плућном емболијом. До сада је објавила више научних радова (као први аутор и коаутор) из области тромбозе и хемостазе и учествовала на више домаћих и страних конгреса.

Публикације из области теме доктората:

1. Dzudovic J, Dzudovic B, Subota V, Antunovic M, Stavric M, Subotic B, Obradovic S. Differences between activities of coagulation factors after one month of therapy with different direct oral anticoagulant in pulmonary embolism patients. *J Clin Pharm Ther.* 2019 Apr;44(2):236-242.
2. Dzudovic J, Crevar Sakac M, Antunovic M, Repic A, Obradovic S, Djordjevic S, Savic J, Dzudovic B. Development and validation of LC-MS/MS method for determination of plasma apixaban. *Acta Chromatographica* 2021. Sep 34(3):332-337.