

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
BIOMEDICINOS MOKSLŲ INSTITUTO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS, MIKROBIOLOGIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO BAIGIAMASIS DARBAS

**GEROS LABORATORINĖS PRAKTIKOS PRINCIPŲ TAIKYMAS, VYKDANT
GYDYMO ANTIKOAGULIANTAIS STEBĖSENĄ ANTI-XA METODU**

Magistrantė SIGITA VINIAUTAITĖ _____
(parašas)

Darbo vadovas
asist. dr. V. Banys _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos, mikrobiologijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
doc. dr. D. Karčiauskaitė leidžiama ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

Vilnius, 2019

TURINYS

1. ĮVADAS.....	7
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	9
2.1. Netiesioginio veikimo antikoagulantai.....	9
2.1.1. Nefrakcionuotas heparinas.....	9
2.1.2. Mažos molekulinės masės heparinai.....	10
2.1.3. Fondaparinuksas	11
2.2. Tiesioginio veikimo antikoagulantai	12
2.2.1. Dabigatranas	13
2.2.2. Rivaroksabanas	14
2.2.3. Apiksabanas	16
2.2.4. Edoksabanas.....	17
2.3. Antikoagulantų priešnuodžiai normaliai krešėjimo veiklai atstatyti.....	18
2.3.1. Idaricuzimabas – pirmasis tiesioginių trombino inhibitorių priešnuodis.....	19
2.3.2. Andexanet alfa – pirmasis Xa faktoriaus inhibitorių priešnuodis.....	20
2.4. Kraujo krešėjimo įvertinimas ir stebėsena.....	21
2.4.1. ADTL, PL, TL ir fibrinogeno tyrimai.....	21
2.4.2. Anti-Xa tyrimas.	22
2.4.3. Ekarino chromogeninis tyrimas	23
2.5. Komplikacijos.....	24
3. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	28
3.1. Tyrimo objektas	28
3.2. Tiriamųjų imtis	28
3.3. Tyrimo metodai	29
3.4. Statistinė analizė	29
4. TYRIMO REZULTATAI	31

4.1. Anketinės apklausos rezultatai	31
4.2. Metodų patikrinimo ir įsisavinimo rezultatai	39
5. REZULTATŲ APTARIMAS	46
5.1. Apklausa	46
5.2. Fondaparinuksas	49
5.3. Rivaroksabanas	50
5.4. Apiksabanas	51
5.5. Dabigatranas	52
6. IŠVADOS	53
7. PASIŪLYMAI	53
LITERATŪROS SĄRAŠAS	54

SANTRAUKA

Geros laboratorinės praktikos principų taikymas, vykdant gydymo antikoagulantais stebėseną anti-Xa metodu

Vis daugėjant širdies ir kraujagyslių lygų atvejų, taip pat kyla ir antikoagulantų vartojimo poreikis. Gydymo naujos kartos antikoagulantais rutininė stebėseną nėra reikalinga, tačiau būtina kritinių situacijų atvejais, todėl labai svarbu pasirinkti tam labiausiai tinkantį ir patikimiausią laboratorinį tyrimą.

Tyrimo tikslas ir uždaviniai. Nustatyti gydytojų žinias apie laboratorijoje taikytinus metodus bei patikrinti fondaparinukso, rivaroksabano, apiksabano ir dabigatranio tyrimų procedūrų funkcionalumo charakteristikas, jas palyginti su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis ir teigiamų rezultatų atveju metodus įsisavinti.

Tyrimo metodika. Buvo vykdoma anoniminė anketinė apklausa ir apklausti 31 Lietuvoje dirbantis gydytojas, taip pat buvo vykdomas metodų patikrinimas ir įsisavinimas. Penkias dienas atlikta po penkis tyrimus su kiekvieno antikoagulianto (fondaparinukso, rivaroksabano ir apiksabano) dviejų lygių kokybės kontrolėmis (po 50 tyrimų kiekvienam vaistui). Dabigatranui buvo atlikta po 8 tyrimus su kiekvieno lygio kokybės kontrole (iš viso 16 tyrimų).

Rezultatai. Tik 52 proc. apklausoje dalyvavusių gydytojų žino, kad anti-Xa yra funkcinis poveikio į aktyvų X faktorių tyrimas ir net 68 proc. jų gydymo dabigatranu stebėsenai rinktųsi anti-Xa metodą, kalibruotą dabigatranui, nors tokios kalibracijos tyrimas neegzistuoja. Fondaparinukso tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcines charakteristikas ($p > 0,05$), rivaroksabano ir apiksabano tyrimo procedūros charakteristikų neatitinka ($p < 0,05$), tačiau neviršija pamatiniu metodu nustatytų įverčių, dabigatranio tyrimo procedūra, nepaisant mažo atliktų tyrimų skaičiaus, atitinka gamintojo nurodytas funkcines charakteristikas ($p > 0,05$).

Išvados. Gydytojams trūksta žinių apie antikoagulantų stebėsenai taikytinus tyrimų metodus ir jų taikymo tikslus. Visų antikoagulantų (fondaparinukso, rivaroksabano, apiksabano ir dabigatranio) tyrimų procedūros gali būti diegiamos ir naudojamos klinikinėje praktikoje.

Raktiniai žodžiai: antikoagulantai, anti-Xa, fondaparinuksas, rivaroksabanas, apiksabanas, dabigatranas, metodo įsisavinimas, stebėseną.

SUMMARY

Application of Good Laboratory Practice Principles in Monitoring Anticoagulants by Anti-Xa Method

Increasing rates of cardiovascular cases increase demand for anticoagulants. Generally, routine monitoring of DOAC's is not required, but is necessary in emergency situations, raising the need of appropriate and reliable laboratory services.

The aim. To find out doctors' knowledge about the research methods used for anticoagulant monitoring and the purposes of their application, to evaluate the functional characteristics of the test procedures of fondaparinux, rivaroxaban, apixaban and dabigatran, compared to the manufacturer's declared characteristics and, in case of positive results, to implement methods for clinical practice.

Methods. An anonymous questionnaire was conducted and 31 Lithuanian doctors were interviewed. 5 days 5 runs 2 level samples verification study was conducted for each anticoagulant (fondaparinux, rivaroxaban and apixaban; N = 50 for each drug). Dabigatran has been tested in 8 quality-control tests (N = 16).

Results. Only 52 % of physicians are aware that anti-Xa is a functional assay representing FXa inhibition and anti-Xa method calibrated for dabigatran was chosen by 68 % of respondents for monitoring of dabigatran, although no such calibration test is available. The fondaparinux assay corresponds to the manufacturer's functional characteristics ($p > 0.05$), the rivaroxaban and apixaban test characteristics do not match ($p < 0.05$), but do not exceed the reference method estimates, the dabigatran assay, despite small sample size, corresponds to the manufacturer ($p > 0.05$).

Conclusions. Doctors lack knowledge on methods for anticoagulants monitoring and purpose of it. Assays for DOAC's (fondaparinux, rivaroxaban, apixaban and dabigatran) can be implemented and used in clinical practice.

Key words: anticoagulants, anti-Xa, fondaparinux, rivaroxaban, apixaban, dabigatran, method verification, monitoring.

SANTRUMPOS

ADTL – aktyvinto dalinio tromboplastino laikas.

APCR – (angl. *activated protein C resistance*) atsparumo aktyvintam baltymui C tyrimas.

AT – antitrombinas.

CYP3A4 – citochromo peroksidazė P450 3A4.

CV – (angl. *coefficient of variation*) variacijos koeficientas.

ECA – (angl. *ecarin chromogenic assay*) ekarino chromogeninis tyrimas.

ECT – (angl. *ecarin clotting time*) ekarino krešėjimo laikas.

EMA – (angl. *European Medicines Agency*) Europos medicinos agentūra.

FDA – (angl. *Food and Drug Administration*) Amerikos maisto ir vaistų administracija.

GVT – giliųjų venų trombozė.

HIT – (angl. *heparin-induced thrombocytopenia*) heparino sukelta trombocitopenija.

HITTS – (angl. *heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis syndrom*) heparino sukelta trombocitopenija su tromboziniu sindromu.

INR – tarptautinis normalizuotas santykis.

MMMH – mažos molekulinės masės heparinai.

NH – nefrakcionuotas heparinas.

NVNU – nesteroidiniai vaistai nuo uždegimo.

PL – protrombino laikas.

SD – (angl. *standard deviation*) standartinis nuokrypis.

TF4 – trombocitų faktorius 4.

TL – trombino laikas.

TVA – tiesioginio veikimo antikoagulantai (angl. DOAC – *direct oral anticoagulant*).

UPLC-MS/MS – efektyviosios skysčių chromatografijos tandeminės masių spektrometrijos tyrimo metodas.

VCU – (angl. *Virginia Commonwealth University*) Virdžinijos visuomenės sveikatos universitetas.

VTE – venų tromboembolija.

IIa – II kraujo krešėjimo faktoriaus aktyvioji forma.

Xa – X kraujo krešėjimo faktoriaus aktyvioji forma.

1. ĮVADAS

Antikoagulantų skyrimas ir jų kontrolė tampa vis dažnesniu reiškiniu kasdieninėje gydytojo praktikoje. Antikoagulantai yra pagrindinis tromboembolinių sutrikimų prevencijos ir gydymo „įrankis“. Tromboembolijų prevencija pacientams su lėtiniu prieširdžių virpėjimu yra viena iš pagrindinių geriamųjų antikoagulantų skyrimo indikacijų. Daugiau negu 6 mln. europiečių ir 2,7 mln. amerikiečių kenčia nuo širdies ritmo sutrikimo. Apskaičiuota, kad per ateinančius 30 metų šis skaičius padidės 3 kartus [1]. Antikoagulantai taip pat skiriami venų tromboembolijų (VTE), įskaitant venų trombozę bei plaučių emboliją, profilaktikai ir gydymui. Pasaulyje kasmet užregistruojama apie 5 mln. naujų VTE atvejų, iš kurių apie 10 proc. komplikuojasi plaučių embolija. Taigi nefrakcionuotas heparinas (NH), mažos molekulinės masės heparinai (MMMH), tiesioginiai trombino inhibitoriai (pvz., dabigatranas) bei aktyvaus X (Xa) faktoriaus inhibitoriai – (pvz., fondaparinuksas, rivaroksabas, apiksabanas ir edoksabanas) yra ypač svarbūs, siekiant išvengti šių susirgimų ir juos gydyti.

Antikoagulantai, nors ir teikia didžiulę naudą, tačiau jų vartojimas gali sukelti ir daugybę nepageidaujamų reakcijų. Kraujavimas – viena iš pagrindinių komplikacijų, susijusių su šių vaistų vartojimu [2, 7]. Normaliam kraujo krešėjimo palaikymui turi būti išlaikyta griežta pusiausvyra tarp trombozų ir hemoragijų, tačiau ji lengvai paveikiama daugybės faktorių, tokių kaip paciento amžius, sergamumas daugiau nei viena liga, kartu vartojami kiti vaistai, kai kuriais atvejais įtakos taip pat turi dieta bei farmakogenetika. Kraujavimo rizika priklauso nuo vartojamo antikoagulianto tipo, vaisto dozių, vaisto vartojimo tikslo (profilaktika ar gydymas) bei gydymo trukmės.

Remiantis 2018 metų Europos širdies ritmo asociacijos rekomendacijomis gydymo tiesioginio veikimo antikoaguliantais rutininė stebėseną nėra reikalinga, tačiau augant šių vaistų populiarumui, neišvengiamai daugėja ir situacijų kai jų stebėseną yra būtina, pvz., didelė kraujavimo rizika, būtina neatidėliotina chirurginė procedūra, kraštutiniai didelis paciento kūno svoris ar įtariamas vaisto perdozavimas [3].

Naujos kartos geriamųjų antikoagulantų (Xa inhibitorių) stebėsenai tinkamiausias tyrimas yra anti-Xa metodas, kalibruotas konkrečiam vaistui, tačiau šiuo metu Lietuvoje minėto tyrimo neatlieka nei viena laboratorija. Atsižvelgiant į tai Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų Laboratorinės medicinos centro Biochemijos laboratorijoje buvo priimtas sprendimas įdiegti naujus anti-Xa tyrimus, skirtus šių vaistų stebėsenai. Vadovaujantis ISO 15189:2013 standarto reikalavimais buvo atliktas tyrimų metodų patikrinimas ir įsisavinimas,

kurio metu buvo tikrinama, ar tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcionalumo charakteristikas, ir ar gali metodai būti naudojami rutininėje praktikoje [4].

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas. Atsižvelgiant į tiesioginio veikimo antikoagulantų tyrimų poreikį, nustatyti gydytojų žinias apie laboratorijoje taikytinus metodus bei patikrinti ir įsisavinti fondaparinukso, rivaroksabano, apiksabano ir dabigatrano tyrimų metodus.

Uždaviniai:

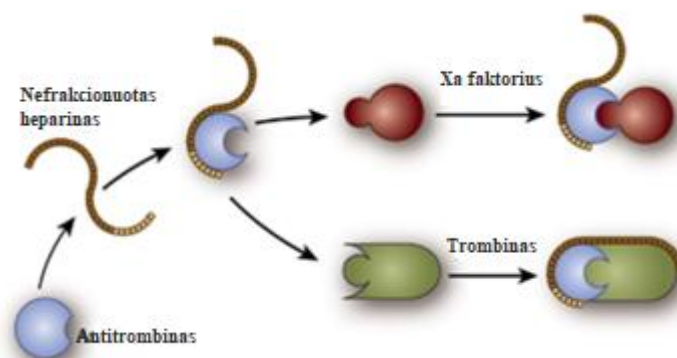
1. Išsiaiškinti, kokios yra gydytojų žinios apie antikoagulantų stebėsenai taikytinus tyrimų metodus ir jų taikymo tikslus.
2. Įvertinti fondaparinukso tyrimo procedūros funkcionalumo charakteristikas, jas palyginti su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis ir teigiamų rezultatų atveju metodą įsisavinti.
3. Įvertinti rivaroksabano tyrimo procedūros funkcionalumo charakteristikas, jas palyginti su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis ir teigiamų rezultatų atveju metodą įsisavinti.
4. Įvertinti apiksabano tyrimo procedūros funkcionalumo charakteristikas, jas palyginti su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis ir teigiamų rezultatų atveju metodą įsisavinti.
5. Įvertinti dabigatrano tyrimo procedūros funkcionalumo charakteristikas, jas palyginti su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis ir teigiamų rezultatų atveju metodą įsisavinti.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. Netiesioginio veikimo antikoagulantai

2.1.1. Nefrakcionuotas heparinas

Nefrakcionuotas heparinas (NH) – tai aktyvaus X bei II faktorių inhibiciniu aktyvumu pasižymintis vaistas. Jis veikia per plazmoje esantį antitrombiną (AT), kuris slopina trombino (IIa) ir Xa faktoriaus veikimą. Heparinas, susijungęs su AT, greitina šį procesą, stabdo fibrinogeno vartimą fibrinu ir taip sutrikdo kraujo krešėjimo kaskadą (1 pav.). Inaktyvuodamas trombiną, heparinas ne tik apsaugo nuo fibrino susidarymo, bet taip pat slopina trombino sukeltą krešėjimo faktorių (V, VIII, IX, XIII) aktyvaciją, taip dar labiau slopindamas kraujo krešėjimą [5].



1 pav. Nefrakcionuoto heparino veikimo mechanizmas [6].

Kadangi nefrakcionuotas heparinas pakankamai senas vaistas, jo veiksmingumas veninės tromboembolijos (VTE) gydyme ir prevencijoje įrodytas ir abejonių nekelia, tačiau atsiradus mažos molekulinės masės heparinams (MMMH) bei fondaparinuksui, jo suvartojimas ženkliai sumažėjo dėl naujų vaistų patogesnio vartojimo ir mažesnio komplikacijų dažnio. Dažniausiai šis vaistas skiriamas giliųjų venų trombozės (GVT) prevencijai, kai dėl inkstų pažeidimų negalima vartoti MMMH [8].

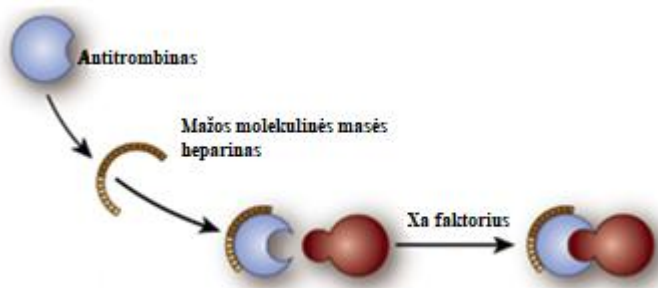
Pagrindinius heparino apribojimus sukelia nuo antitrombino nepriklausomas heparino jungimasis prie plazmos baltymų, trombocitų išskiriamų baltymų ir endotelio ląstelių, todėl atsiranda kintamas antikoaguliacinis vaisto poveikis ir atsparumo heparinui reiškiniai. Kiti vaisto apribojimai yra heparino nesugebėjimas inaktyvuoti Xa faktorių, esantį protrombinazės komplekse bei trombino, susijungusio su fibrinu ar subendotelio paviršiais. Svarbu paminėti ir gerai žinomą bei pavojingą jo komplikaciją – heparino sukeltą trombocitopeniją (angl. *heparin-*

induced thrombocytopenia – HIT) – dėl heparino jungimosi su trombocitų faktoriumi 4 (TF4) sukeliama organizmo antikūnų sintezė prieš savus trombocitus [5, 8]. Vartojant hepariną taip pat dažnos ir alerginės reakcijos, kurios neretai apsunkina ligos eigą ir paciento būklę.

Kadangi kiekvieno paciento antikoaguliacinis atsakas į NH skirtingas, todėl yra taikoma standartinė praktika – stebėti heparino poveikį, matuojant aktyvinto dalinio tromboplastino laiką (ADTL) ir koreguoti vaisto dozę, atsižvelgiant į tyrimo rezultatus. Siektinas ADTL prailgėjimas gydant heparinu – 1,5 - 2 kartai. Ši praktika nėra tinkama, nes komerciniai ADTL reagentai į hepariną reaguoja skirtingai, todėl patikimai palyginti jų tarpusavyje nėra galimybės. Buvo sukurtos įvairios heparino dozės koregavimo nomogramos, tačiau nė viena iš jų nėra pritaikoma visiems ADTL reagentams, todėl terapinis intervalas turi būti atitinkamai pritaikytas kiekvienam iš jų individualiai. Alternatyvus būdas teisingai stebėti gydymą NH – laboratorijos ADTL tyrimų ir anti-Xa tyrimų rezultatų koreliacijos analizė, kurios dėka būtų naudojamas apskaičiuotas įstaigai specifiškas ADTL terapinis intervalas NH stebėsenai [5].

2.1.2. Mažos molekulinės masės heparinai

Tai nefrakcionuoto heparino depolimerizacijos metu gauti tam tikro ilgio fragmentai. Visi antikoaguliaciniai, farmakokinetiniai ir kiti biologiniai skirtumai tarp nefrakcionuoto heparino ir mažos molekulinės masės heparinų gali būti paaiškinami santykinai mažesnėmis MMMH prijungimo prie antitrombino ir trombino galimybėmis. Lyginant su NH, MMMH turi mažesnę gebėjimą inaktyvuoti trombiną, nes trumpesni fragmentai negali prisijungti tuo pačiu metu prie AT ir prie trombino, tačiau, nepaisant trumpesnės grandinės, jie pasižymi tokiu pat aktyviu Xa faktoriaus slopinimu (2 pav.). Mažos molekulinės masės heparinų poveikio į Xa ir IIa faktorius santykis lygus 2: 1 ir 4: 1, priklausomai nuo jų molekulinės dydžio [5].



2 pav. Mažos molekulinės masės heparino veikimo mechanizmas [6].

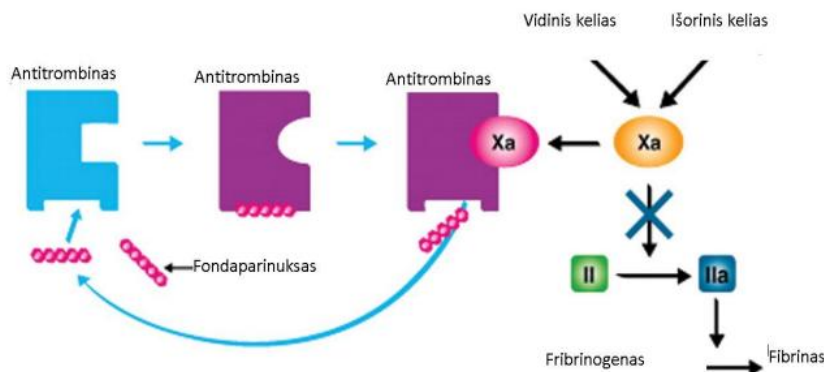
MMMH taip pat pasižymi mažesniu polinkiu jungtis prie plazmos baltymų bei trombocitų, todėl jų farmakokinetika labiau nuspėjama. Dėl šios savybės jų rutininė stebėseną

nėra būtina. MMMH klinikinėje praktikoje dažniausiai sėkmingai vartojami GVT prevencijai bei gydymui, skiriami pacientams, turintiems mechaninius širdies vožtuvus [8].

MMMH pusinės eliminacijos periodas yra 4 - 5 valandos ir išskiriami beveik 100 proc. per inkstus, todėl šie antikoagulantai netinka pacientams, kuriems yra sutrikusi inkstų funkcija. Inkstų pakenkimas lemia antikoagulianto kaupimąsi organizme, o tai labai didina komplikacijų dažnį [9]. Būtina paminėti, kad, kaip ir nefrakcionuotas heparinas, MMMH gali sukelti trombocitopeniją. Ji dažniausiai pasireiškia 5 - 21 gydymo hepariniais diena, todėl visais atvejais rekomenduojama kartoti kraujo tyrimus dėl galimos trombocitopenijos [8].

2.1.3. Fondaparinuksas

Fondaparinuksas – tai sintetinis selektyvus netiesioginis Xa faktoriaus inhibitorius. Susijungęs su fiziologiniu kraujo krešėjimo proceso slopintoju – antitrombinu, fondaparinuksas sustiprina jo inhibicinį poveikį, nukreiptą į Xa krešėjimo faktorių, 300 kartų. Xa faktoriaus neutralizavimas nutraukia kraujo krešėjimo kaskadą, slopina trombino susidarymą ir taip stabdo trombozų vystymąsi (3 pav.).



3 pav. Fondaparinukso veikimo mechanizmas [10].

Fondaparinuksas pasižymi silpnesnėmis alerginėmis reakcijomis, lyginant su nefrakcionuotu heparinu, nes gaminamas ne iš gyvų organizmų. Jis neveikia trombino (IIa) ir trombocitų agregacijos, todėl šio vaisto farmakokinetika daug lengviau nuspėjama nei heparino, be to, jam nebūdinga grėsminga heparino sukelta trombocitopenija, nes nesijungia su trombocitų faktoriumi 4 (TF4). Dėl šios priežasties fondaparinuksas kaip alternatyva heparinui yra skiriamas pacientams HIT atvejais [8, 11].

Švirkščiamas po oda fondaparinuksas yra absorbuojamas 100 proc. ir maksimalų antikoaguliacinį poveikį pasiekia per maždaug 2 - 3 valandas. Esant normaliai inkstų funkcijai, fondaparinuksas šalinamas su šlapimu nepakitusio vaisto formos. Sveikiems iki 75 metų amžiaus

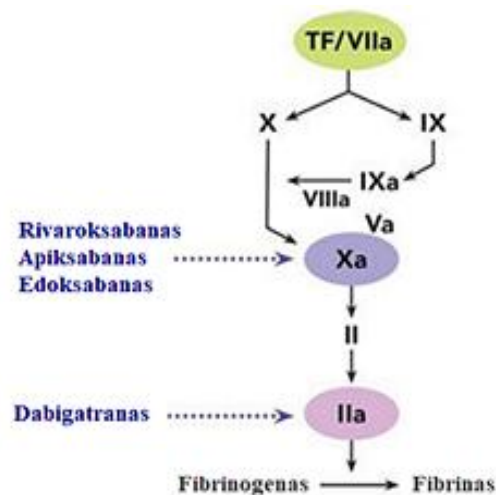
asmenims apie 77% vienkartinės vaisto dozės pasišalina per 72 valandas. Pusinės eliminacijos laikas yra 17 - 21 val. [12].

Fondaparinuxo efektyvumą GVT prevencijoje parodė ARTEMIS tyrimas, tačiau šio tyrimo metu, vartojant fondaparinuxą, buvo stebėta šiek tiek didesnė žaizdos kraujavimo po operacijos tikimybė, dėl to jo skyrimas tarp chirurgų nėra toks populiarus, nors veikimas, pasak tyrimo, yra geresnis nei MMMH [13]. MATISSE tyrimo duomenimis, fondaparinuxas taip pat puikiai veikia ir pradiniam GVT gydymo etape [14]. Patvirtintos vaisto skyrimo indikacijos yra: venų tromboembolijos prevencija pacientams, kuriems atlikta apatinių galūnių ortopedinė chirurgija (pvz., klubo lūžis, klubo sąnario keitimas ar kelio operacija); siekiant išvengti VTE pacientams, kuriems yra didelė tromboembolinių komplikacijų rizika po pilvo srities operacijų; gydant giliųjų venų trombozę ir plaučių emboliją; nestabilios krūtinės anginos ir miokardo infarkto gydymui.

Vartojant terapines vaisto dozes (2,5 mg) fondaparinuxas neveikia įprastinių krešėjimo tyrimų, pvz., aktyvinto dalinio tromboplastino laiko, protrombino laiko / tarptautinio normalizuoto santykio (INR), todėl, norint nustatyti vaisto koncentraciją kraujo plazmoje kritinio kraujavimo ar įtariamo vaisto perdozavimo atvejais, turėtų būti atliekamas anti-Xa tyrimas, kalibruotas fondaparinuxui [11, 12, 15].

2.2. Tiesioginio veikimo antikoagulantai

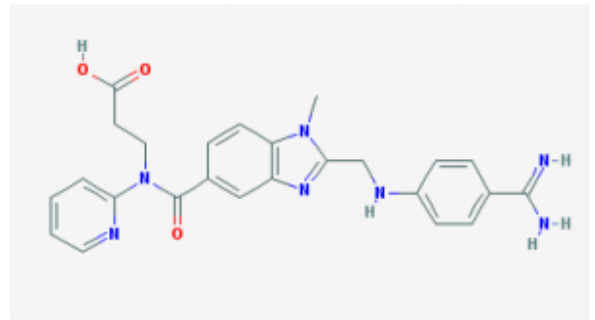
Naujos kartos geriamieji antikoagulantai – rivaroksabanas, apiksabanas, edoksabanas (tiesioginiai Xa krešėjimo faktoriaus inhibitoriai) ir dabigatranas (tiesioginis IIa krešėjimo faktoriaus inhibitorius) – rinkoje pasirodė nuo 2008 metų. Šių antikoagulantų veikimo principas pagrįstas tiesioginiu vaistų poveikiu į aktyvius krešėjimo faktorius (IIa ir Xa), todėl jų farmakokinetinės savybės yra gerai nuspėjamos ir vaistai yra kur kas lengviau pritaikomi gydymui, nes nereikalauja nuolatinės laboratorinės stebėsenos bei specifinio dozavimo (4 pav.).



4 pav. Naujos kartos antikoagulantų taikiniai krešėjimo faktoriai [16].

2.2.1. Dabigatranas

Dabigatranas (5 pav.) – tai pirmasis tiesioginis IIa faktoriaus (trombino) inhibitorius, kuris buvo patvirtintas ir pradėtas skirti pacientams nuo 2008 metų. Vaistas konkurenciniu būdu jungiasi prie aktyviosios trombino srities ir slopina ne tik su fibrinu susijungusį, bet ir laisvą trombiną [17, 18]. Tuo



5 pav. Dabigatrano cheminė struktūra [20].

jis skiriasi nuo netiesioginių trombino inhibitorių (pvz., MMMH), kurie slopina tik laisvą trombiną. IIa faktoriaus inhibitorius stabdo trombo formavimąsi neleisdamas fibrinogenui virsti fibrinu, taip pat slopina trombino sukeltą trombocitų agregaciją [8].

Vaistas organizme pasisavinamas ir paverčiamas aktyvia forma labai greitai, tačiau maksimali įsisavinimo vertė tik 6 - 7 proc., todėl dabigatrano rekomenduojama dozė yra didelė (150 mg du kartus per parą) [17]. Maksimalus antikoaguliacinis poveikis pasiekamas per 0,5 - 2 val. Tačiau, jei jis vartojamas pooperaciniu periodu, poveikis pasireiškia tik po 6 valandų, nes vaistą veikia virškinimo trakto parezė ir anestezija. [18, 21]. Vaisto pusinis eliminacijos periodas svyruoja nuo 12 iki 14 valandų. Didžioji dalis (apie 80 proc.) nepakitusio dabigatrano yra šalinama per inkstus su šlapimu, likusi dalis kepenyse konjuguojama su glukurono rūgštimi ir šalinama su tulžimi [18]. Vaistas iš organizmo visiškai pašalinamas per maždaug 168 valandas, vyresniame amžiuje gali užtrukti ilgiau dėl su amžiumi blogėjančios inkstų funkcijos.

Duomenų apie dabigatrano vartojimo saugumą jaunesniems nei 18 metų žmonėms nepakanka. Jo poveikis netirtas ir su nėščiosiomis, tačiau žinoma, jog atlikus tyrimą su žiurkių patelėmis, žymiai padidėjo negyvų palikuonių skaičius ir padažnėjo kraujavimai iš gimdos. Taip pat nustatyta, kad šis vaistas perduodamas su pienu laktacijos periodu. Nors tyrimas atliktas tik su gyvūnais, tačiau moterims nėštumo ir žindymo laikotarpiu patartina nutraukti dabigatrano vartojimą [23, 24].

Patvirtintos dabigatrano skyrimo indikacijos yra pirminė venų tromboembolijos profilakta, prieširdžių virpėjimas, insulto ir sisteminės embolijos profilaktika atliekant planines didžiųjų sąnarių keitimo operacijas [25]. Taip pat šis vaistas gali būti skiriamas pacientams, kurie turėjo insultą, sutrikusią kairiojo skilvelio funkciją ar pacientams, kuriems pripažintas širdies nepakankamumas [8, 26].

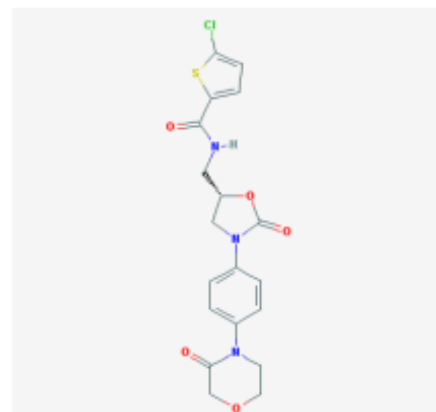
Dabigatrano farmokinetika yra gerai žinoma ir jį saugu vartoti su daugeliu vaistų, todėl rutininė kraujo krešėjimo rodiklių kontrolė nereikalinga, tačiau rekomenduojama kas 6 - 12 mėnesių tikrinti inkstų bei kepenų funkciją [27, 29]. Dabigatrano farmakokinetikai didelę įtaką

turi stiprus inkstų funkcijos pažeidimas (kai kreatinino klirensas < 30 ml/min.), todėl tokiu atveju Europoje ir Kanadoje šio vaisto vartojimas yra nerekomenduojamas. Sunkių kepenų ligų atvejais, esant padidėjusiai kraujavimo rizikai, pavyzdžiui, dėl virškinimo trakto opos bei pacientams, vartojantiems antikoaguliantus ar antiagregantus, dabigatranas taip pat nėra skiriamas, nes šis vaistas lemia didesnę kraujavimo riziką [28].

Tiesioginis trombino inhibitorius turi patvirtintą specifinę priešnuodį – idarucizumabą, todėl esant kritiniam kraujavimui ar perdozavus galima neutralizuoti vaisto poveikį [28, 30]. Pacientams, vartojantiems dabigatraną, rekomenduojama prieš operacijas nutraukti jo vartojimą prieš 24 valandas, o jei yra didelė kraujavimo rizika – prieš 48 valandas.

2.2.2. Rivaroksabanas

Rivaroksabanas (6 pav.) – tai pirmasis tiesioginis Xa faktoriaus inhibitorius, kuris buvo sukurtas Vokietijoje ir 2008 metais įregistruotas Bendrijos vaistinių preparatų registre. Vaistas veikia selektyviai surišdamas protrombinazės kompleksą ir blokuodamas kraujo krešėjimo kaskadą taip apsaugodamas organizmą nuo naujų krešulių susidarymo, tačiau jau susidariusiems krešuliams įtakos neturi (jų netirpdo). Rivaroksabanas pasižymi savybe slopinti tiek protrombinazės komplekse esantį, tiek prie



6 pav. Rivaroksabano cheminė struktūra [20].

trombocitų prisijungusį, tiek ir laisvą Xa faktorių, o netiesioginiai Xa faktoriaus inhibitoriai (pvz., fondaparinuxas) slopina tik protrombinazės komplekse esantį Xa faktorių [17, 28]. Rivaroksabano veikimo pradžia gana greita – koncentracijos maksimumą pasiekia per 2 - 4 valandas, o pusinis eliminacijos laikas – apie 10 valandų, nors pagyvenusių žmonių gali siekti iki 13 valandų. Vaisto farmakokinetika ir farmakodinamika yra nuspėjama ir proporcinga suvartotai dozei [31, 32]. 10 mg vaisto dozės biologinis pasisavinimas yra didesnis nei 80 proc., tačiau padidinus ją iki 15 - 20 mg, pasisavinimas sumažėja iki maždaug 66 proc. [25]. Rivaroksabano poveikis yra negrįžtamas [28]. Iš organizmo jis šalinamas dviem būdais: du trečdaliai (apie 66 proc.) – su šlapimu per inkstus (36 proc. iš jų nepakitusios formos, likusi dalis – neaktyvių metabolitų forma), likęs trečdalis – su tulžimi (kurių 9 proc. sudaro nepakitusi forma ir 25 proc. neaktyvūs metabolitai).

Rivaroksabanas lyginant su visais registruotais naujaisiais antikoaguliantais patvirtintų indikacijų turi daugiausiai ir yra pirmasis geriamasis vaistas, skiriamas giliųjų venų trombozei ir plaučių embolijos profilaktikai bei gydymui klinikinėje praktikoje. Taip pat

skiriamas ūminio koronarinio sindromo atvejais trombozių profilaktikai, indikuotinas insulto bei sisteminės embolizacijos profilaktikai, esant su vožtuvų liga nesusijusiam prieširdžių virpėjimui, venų trombozės prevencijai po klubo ar kelio sąnario keitimo operacijos [28]. Atliktas III fazės ATLAS ACS 2 TIMI tyrimas parodė reikšmingai sumažėjusią insulto ir miokardo infarkto riziką, vartojant rivaroksabaną, lyginant su placebo [25, 33].

Rivaroksabano vartojimo saugumas dar nėra pilnai ištyrinėtas, todėl jis nerekomenduojamas asmenims iki 18 metų amžiaus, taip pat moterims nėštumo metu dėl padidėjusios kraujavimo rizikos, taip pat žindymo laikotarpiu, kadangi atliktų tyrimų su gyvūnais rezultatai parodė, jog vaistas ir jo metabolitai gali būti aptinkami motinos piene. Taip pat nepatartina Xa faktoriaus inhibitorių vartoti asmenims, sergantiems sunkiu inkstų funkcijos nepakankamumu (< 15 ml/min.), kepenų nepakankamumu bei skrandžio ar žarnyno ligomis dėl padidėjusios kraujavimo rizikos [28]. Rivaroksabanas nerekomenduojamas, kai pacientui diagnozuota nekontroliuojama hipertenzija ar vartojami kiti antikoagulantai.

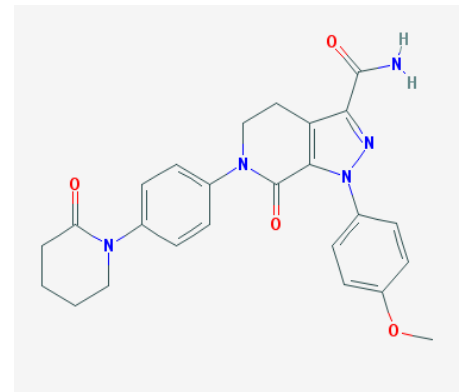
Vartojant rivaroksabaną įprastinė kraujo krešėjimo rodiklių stebėseną nėra būtina dėl nuspėjamos vaisto farmakokinetikos ir farmakodinamikos, tačiau inkstų, kepenų ir hemoglobino tyrimai turėtų būti tikrinami nuolat, o nustačius rodiklių pablogėjimą, vaisto vartojimas turi būti nutraukiamas [25, 28]. Amerikos asociacijos sveikatos sistemos tinklapyje įspėjama, apie žymiai padidėjusią trombų susidarymo ir insulto išsivystymo riziką kai gydymas rivaroksabanu yra nutraukiamas per anksti. Taip pat atlikto ROCKET tyrimo metu buvo pastebėta, kad pacientų grupėje, kurie buvo gydomi rivaroksabanu, išeminių įvykių padaugėjo nutraukus jo vartojimą. Dėl šių priežasčių, keičiant antikoagulantus ar nutraukus jų vartojimą, yra būtina papildoma antikoaguliacija [34].

Naujojo antikoagulianto sąveikų tarp vaistų nėra daug, tačiau jos yra labai reikšmingos. Pavyzdžiui, rivaroksabano antikoaguliacinį veikimą stiprina kartu vartojami CYP3A4 inhibitoriai, esant sutrikusiai inkstų funkcijai. Kartu vartojami antiagregantai ar NVNU taip pat stiprina antikoagulianto poveikį ir didina kraujavimo riziką. ROCKET AF tyrime kaip kraujavimo rizikos veiksnys buvo įvardintas aspirinas, vartojamas kartu su rivaroksabanu [34].

Rivaroksabanas, kaip ir dabigatranas, taip pat turi specifinį priešnuodį – andexanet alfa, kuris gali būti vartojamas kritinių kraujavimų bei vaisto perdozavimo atvejais. Nepavykstant sustabdyti kraujavimo, taip pat galima skirti aktyvuotą protrombino komplekso koncentratą ar rekombinantinį aktyvų VII faktorių, tačiau jų poveikis klinikinėse situacijose yra sunkiai nuspėjamas [17, 25].

2.2.3. Apiksabanas

Tiesioginis aktyvuoto X faktoriaus inhibitorius. 2012 metais patvirtintas Europoje, 2013 metais – Kinijoje, o 2014 metais – Jungtinėse Amerikos Valstijose. Apiksabanas (7 pav.) yra geriamasis antikoaguliantas, kuris jungiasi prie Xa faktoriaus, sutrikdo protrombino vartimą trombinu ir todėl fibrinogenas nebegali būti verčiamas fibrinu. Taip užkertamas kelias naujų krešulių susidarymui. Naujojo antikoagulianto biologinis prieinamumas yra maždaug 50 procentų, o



7 pav. Apiksabano cheminė struktūra [20].

didžiausia jo koncentracija po pavartojimo susidaro labai greitai – praėjus 3 - 4 valandoms. Pusinės eliminacijos laikas maždaug 12 valandų, o tai reiškia, kad prieš chirurgines operacijas reikalingos pertraukos yra žymiai trumpesnės [45]. Apiksabano šalinimas iš organizmo vyksta keliais būdais [17, 45]. Raghavan N. ir kitų 2008 m. atliktas tyrimas parodė, kad apie ketvirtadalis suvartoto apiksabano pašalinama metabolitų pavidalu – apie 50 proc. su išmatomis, kita dalis (apie 27 proc.) pašalinama su šlapimu pro inkstus. Taip pat papildomai preparatas mažomis dalimis šalinamas su tulžimi ar tiesioginės ekskrecijos į žarnyną būdu [46].

Apiksabanas skiriamas pacientams siekiant sumažinti insulto ir sisteminės embolijos atsiradimo ar pasikartojimo riziką, ypač po atliktos klubo ar kelio sąnario pakeitimo operacijos, giliųjų venų trombozės gydymui, taip pat ligoniams, sergantiems prieširdžių virpėjimu. Vis daugėja klinikinių apiksabano veiksmingumo tyrimų įvairiose klinikinėse situacijose. Lassen MR ir kiti 2010 m. atliko tyrimą, kurio metu buvo lyginamas apiksabano ir enoksaparino (vienas iš mažos molekulinės masės heparinų) veiksmingumas veninės trombozės profilaktikai po kelio protezavimo operacijos. Rezultatai parodė apiksabano pranašumą bei nustatė, kad apiksabanas nedidina staigaus kraujavimo rizikos. Kito tyrimo metu nustatyta, kad gydant apiksabanu, insulto ir sisteminės embolijos profilaktika buvo reikšmingai veiksmingesnė lyginant su aspirinu ir nedidina kraujavimo rizikos [17, 35, 47].

Apiksabanas kontraindikuotinas pacientams, turintiems sunkių kepenų pažeidimų, kadangi preparatas yra siejamas su aminotransferazių padidėjimu serume (3 ar daugiau kartų), pasireiškia 1 - 2 proc. pacientų, gydomų apiksabanu. Taip pat vaistas gali padidinti kraujavimo riziką nėštumo metu. Atlikus tyrimą su pelėmis nustatyta, jog teratogeniškumo vaistas nesukelia, tačiau siejamas su vaisingumo sumažėjimu [24]. Apiksabano vartojimo saugumas vaikams dar neįvertintas, todėl jį galima vartoti tik nuo 18 metų. Xa faktoriaus inhibitorius neskiriamas pacientams, turintiems dirbtinius vožtuvus, esant padidintai kraujavimo rizikai. Dėl didelio

mirtinų hemoragijų dažnio apiksabanas negali būti vartojamas kartu su kitais antikoaguliantais [35].

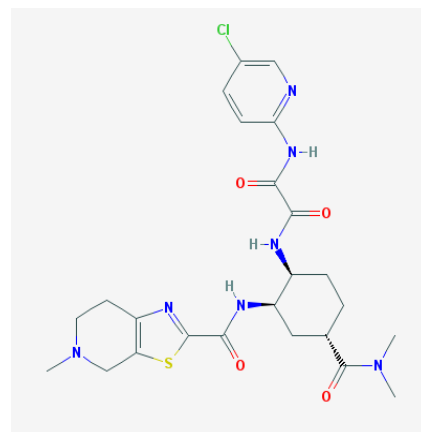
Kaip ir kitų naujųjų antikoaguliantų, apiksabano farmakokinetika yra gerai nuspėjama, todėl rutininiai kraujo krešėjimo tyrimai yra nebūtini. Apiksabanas yra vartojamas du kartus per parą. Trombų susidarymo profilaktikai po klubo arba kelio sąnario pakeitimo operacijų, taip pat pacientams su sutrikusia inkstų veikla yra skiriama 2,5 mg dozė, kitais atvejais dažniausiai skiriama 5 mg.

Apiksabanas kaip ir rivaroksabanas turi tą patį specifinį priešnuodį – andexanet alfa, kuris gali būti vartojamas kritinių situacijų atvejais [17, 19]. Apiksabanas mažai sąveikauja su kitais vaistais ar augaliniais preparatais, tačiau atlikti tyrimai rodo, kad vartojimas kartu su antiagregantais kaip aspirinu bei priešūždegiminiais vaistais gali padidinti kraujavimo riziką.

2.2.4. Edoksabanas

2015 metais buvo užregistruotas naujas selektyvus Xa faktoriaus inhibitorius – edoksabanas (8 pav.). Šis vaistas yra serino proteazė, kuri slopina laisvąjį Xa faktorių ir protrombinazės aktyvumą ir taip krešėjimo kaskadoje mažina trombino sintezę bei ilgina krešėjimo laiką. Edoksabano farmakodinaminis poveikis prasideda greitai, per 1 - 2 valandas, o pusinės eliminacijos laikas siekia 9 - 10 valandų. Apie 62 proc. vaisto dozės yra pasisavinama organizmo, o likusi dalis – šalinama per inkstus su šlapimu nepakitusio vaisto pavidalu. Atliekant protrombino laiko ir aktyvinto dalinio tromboplastino laiko tyrimus, įrodyta, kad naujasis Xa faktoriaus inhibitorius akivaizdžiai prailgina krešėjimo laiką, tačiau šie krešėjimo tyrimai nėra efektyvūs ir informatyvūs stebint šio vaisto antikoaguliacinį poveikį [49 - 51].

Edoksabanas patvirtintas insulto bei sisteminės embolijos gydymui ir profilaktikai. Taip pat skiriamas GVT ir plaučių embolijos gydymui bei esant tokiems rizikos veiksniams, kaip aukštas kraujo spaudimas, vyresnis amžius, cukrinis diabetas, anksčiau patirtas insultas ar praeinantis išeminis širdies priepuolis ir panašiai. Rekomenduojama vaisto dozė yra 60 mg, tačiau 30 mg dozė skiriama asmenims, kurie turi vidutinio sunkumo ar sunkų inkstų sutrikimą, sveria mažiau nei 60 kg, arba jei kartu vartoja P-glikoproteino inhibitorius: ciklosporiną, dronedaroną, eritromiciną ar ketokonazolą (didina edoksabano koncentraciją) [50]. Lytis ar amžius dozei įtakos neturi. Taip pat ir vartojamas maistas. Vaisto perdozavimo atveju specifinio



8 pav. Edoksabano cheminė struktūra [20].

priešnuodžio prieš farmakodinaminį edoksabano poveikį dar nėra. Pirmosiomis valandomis, remiantis standartiniu vaistų perdozavimo gydymu, galima duoti aktyvintos anglies, o jei kraujavimas yra kritinis ir jo negalima sustabdyti tokiomis priemonėmis, kaip transfuzija, naudojamas trombocitų faktoriaus 4 protrombino komplekso koncentratas. Tokiu būdu edoksabano poveikis panaikinamas praėjus 30 minučių po infuzijos pabaigos [49, 51].

Nors edoksabanas yra susijęs su nereikšmingu aminotransferazių padidėjimu serume gydymo metu, tačiau kliniškai aiškaus ūmaus kepenų pakenkimo jį vartojant dar neužregistruota. Pacientams, sergantiems sunkia kepenų liga, ypač susijusia su koagulopatija ar didesne kraujavimo rizika, šio vaisto vartoti nerekomenduojama, tačiau jei kepenų pažeidimas yra nesunkus – galima vartoti atsargiai įprastą vaisto dozę. Serino proteazės kaip ir kitų antikoagulantų negalima skirti, kai yra kliniškai reikšmingas kraujavimas, dėl įvairaus pobūdžio sužalojimų, virškinimo trakto opų, piktybinių navikų, neseniai patirtos stuburo ar galvos smegenų traumos, kraujagyslių aneurizmos ar panašiai. Taip pat pacientai turėtų vengti vartoti šį vaistą kai yra taikomas ilgalaikis gydymas NVNU ar vartojamas aspirinas, nes jie kartu žymiai padidina kraujavimo riziką [51, 52].

Nėra atlikta jokių tyrimų kaip edoksabanas veikia vaikų ar paauglių organizmuose, o su nėščiosiomis tyrimai buvo atlikti tik su gyvūnais, kurie parodė toksinį poveikį reprodukcijai bei didelę skvarbą pro placentą, taip pat vaistas gerai prasiskverbia į motinos pieną, todėl žindyvės neturėtų vartodamos šį vaistą žindyti savo kūdikio.

Kaip ir visi kiti antikoagulantai, edoksabanas gali iššaukti sunkią kraujavimo būklę, todėl pastebėjus kraujavimą, šio vaisto vartojimą reikėtų kuo greičiau nutraukti, todėl slaptam kraujavimui nustatyti ypač naudinga periodiškai atlikti hemoglobino koncentracijos tyrimus. Esant bet kokiai nepaaiškinamai hipotenzijai ar hemoglobino rodiklių sumažėjimui, reikia nedelsiant ieškoti kraujavimo vietos. Prieš pradėdant vartoti edoksabaną, būtina atlikti kepenų bei inkstų funkcijos tyrimus, taip pat periodiškai juos kartoti, taikant ilgalaikį gydymą antikoagulantu [49, 51].

2.3. Antikoagulantų priešnuodžiai normaliai krešėjimo veiklai atstatyti

Naujos kartos antikoagulantų efektyvumas yra ne ką prastesnis nei heparino, o saugumas ir farmakokinetinės savybės daug palankesnės medicinos praktikai, tačiau pagrindiniu galvosūkiu tapo normalaus krešėjimo atstatymas kritinio kraujavimo atveju. Būtent dėl šios priežasties kai kurie gydytojai vengia skirti naujuosius antikoagulantus savo pacientams.

Protrombino komplekso koncentratas (krešėjimo faktoriai II, IX, X ± VII) kaip priešnuodis įprastai yra naudojamas esant kritiniam kraujavimui varfariną geriantiems

pacientams. Eerenberg ir kt. 2011 metais atlikto tyrimo metu nustatė, jog protrombino komplekso koncentratas taip pat atstato normalų protrombino laiką (PL) ir pacientams, vartojantiems dabigatraną ar rivaroksabaną, tačiau neturėjo įtakos kitiems kraujo krešėjimo parametrams: aktyvinto dalinio tromboplastino laikui (ADTL), ekarino krešėjimo laikui (angl. ECT) bei trombino laikui (TL) [3, 611]. Krešėjimo faktorių koncentratas taip pat turi mažą infekcijos pernašos ir alerginės reakcijos tikimybę, kadangi krešėjimo faktoriai yra išskirti iš svetimos plazmos, todėl jo panaudojimas normalaus krešėjimo funkcijos atstatymui buvo tik dalinai tinkamas metodas ir patikimo kraujo krešėjimo atkūrimo mechanizmo pacientams, vartojantiems naujos kartos geriamuosius antikoaguliantus, neturėjo [61].

2.3.1. Idaricuzimabas – pirmasis tiesioginių trombino inhibitorių priešnuodis

2015 metais pasirodė daugybė straipsnių, kuriuose buvo aprašytas tiesioginis dabigatrano priešnuodis, kurio veikimas pagrįstas monokloninio antikūno (idaricuzimabo) tiesioginiu prisijungimu prie dabigatrano taip slopinant jo antikoaguliacinį poveikį [30, 62]. Eksperimentiniai tyrimai parodė, kad šio priešnuodžio jungimasis prie dabigatrano yra maždaug 300 kartų stipresnis nei dabigatrano jungimasis prie trombino. Sveikiems žmonėms, vartojantiems dabigatraną, priešnuodis visiškai panaikino antikoaguliacinį jo poveikį [63]. Klinikinio tyrimo metu, kuriame dalyvavo 90 respondentų vartojančių dabigatraną, dėl kritinio kraujavimo (n = 51) ar dėl reikalingos skubios invazinės procedūros (n = 39), idarucizumabas panaikino dabigatrano veikimą beveik akimirksniu [63, 30]. Po 4 val. nuo priešnuodžio suvartojimo krešėjimo rodikliai normalizavosi 100 proc. pacientų, o po 12 val. rodikliai išliko normalūs beveik 90 proc. pacientų. Tęsiant idarucizumabo vartojimą buvo nustatyti penki nepageidaujami trombozės reiškiniai (5,5 proc.), iš kurių vienas pasireiškė per pirmas 72 val. nuo priešnuodžio vartojimo pradžios. Jokių kitų šalutinių poveikių nebuvo nustatyta.

Remiantis tyrimų duomenimis galima teigti, kad idarucizumabas yra saugus kraujo krešėjimą atkuriantis preparatas. Jis jungiasi tik prie dabigatrano molekulės, neutralizuodamas šio vaisto antikoaguliacinį poveikį, ir nesukelia kitų kraujo krešėjimo sutrikimų. 2015 m. lapkričio 26 d. Europos Komisija idarucizumabą leido naudoti, kai būtina greitai neutralizuoti antikoaguliacinį dabigatrano poveikį skubių operacijų, invazinių procedūrų metu ar iškilus pavojui paciento gyvybei dėl nekontroliuojamo kraujavimo.

2.3.2. Andexanet alfa – pirmasis Xa faktoriaus inhibitorių priešnuodis

Andexanet alfa („Andexxa“ / „Ondexxya“) yra specifinis priešnuodis, skirtas neutralizuoti tiesioginių ir netiesioginių Xa faktoriaus inhibitorių antikoaguliacinę poveikį. Tai rekombinantinis Xa faktoriaus analogas, baltymas, kuris jungiasi prie aktyvaus X faktoriaus inhibitorių, tačiau yra katalitiškai neaktyvus ir neaktyvina protrombino [35, 36]. Andexanet prisijungia ir užslopina Xa faktoriaus inhibitorius kraujagyslių spindyje, tokiu būdu atkurdamas endogeninio Xa faktoriaus aktyvumą ir mažindamas antikoaguliacinę poveikį.

2018 metų gegužės 3 d. – JAV Maisto ir vaistų administracija (angl. *Food and Drug Administration* – FDA) patvirtino Portola Pharmaceuticals sukurtą vaistą „Andexxa“ ir davė leidimą pradėti jo komercinę kampaniją Jungtinėse Amerikos Valstijose. Tai pirmas ir vienintelis Xa faktoriaus inhibitorių priešnuodis, skiriamas pacientams, gydomiems rivaroksabanu ir apiksabanu, kai reikalingas normalaus kraujo krešėjimo atstatymas organizme gyvybei pavojingo ar nekontroliuojamo kraujavimo atvejais [37]. „Andexxa“ patvirtinimas buvo paremtas dviejų trečios fazės „ANNEXA“ tyrimų (ANNEXA-R ir ANNEXA-A) duomenimis, kurie buvo paskelbti „The New England Journal of Medicine“ 2015 metais. Šių tyrimų metu buvo vertinamas „Andexxa“ saugumas ir veiksmingumas, neutralizuojant rivaroksabano ir apiksabano antikoaguliacinę poveikį sveikiems savanoriams. Rezultatai parodė, kad „Andexxa“ greitai ir efektyviai nuslopino Xa faktoriaus inhibitorių aktyvumą. Vidutinis aktyvumo sumažėjimas nuo pradinio lygio buvo 97 proc. rivaroksabano atveju ir 92 proc. vartojant apiksabaną [37, 38]. FDA, atlikdama vaisto peržiūrą ir patvirtinimą, taip pat įvertino tarpinius duomenis, gautus iš atviro tęstinio ANNEXA-4 tyrimo, atliekamo su 185 pacientais, kuriems pasireiškė sunkus kraujavimas. Duomenys parodė, kad „Andexxa“ greitai ir reikšmingai sumažino Xa faktoriaus inhibitorių aktyvumą, kai buvo vartojama vienkartinė jo dozė ir išlaikė poveikį po to sekusios 120 minučių infuzijos metu. Vidutinis rivaroksabano poveikio sumažėjimas nuo pradinio lygio buvo 90 proc., o apiksabano – 93 proc. [39, 40].

2019 metų vasario mėnesį Europos medicinos agentūros (angl. *European Medicines Agency* – EMA) Žmonėms skirtų vaistų komitetas rekomendavo suteikti sąlyginį leidimą prekiauti andexanet alfa („Ondexxya“) Europos Sąjungoje. Šis siūlymas bus nusiųstas Europos Komisijai (angl. *European Commission*), kad būtų priimtas sprendimas dėl leidimo prekiauti vaistu.

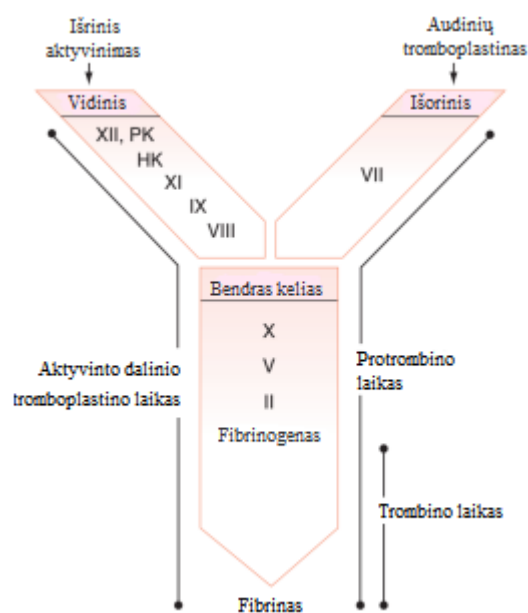
Andexanet alfa veikimas nebuvo tirtas, kai Xa faktoriaus inhibitoriai yra skiriami prieš operaciją ar kitas invazines procedūras, nėra pakankamai klinikinių duomenų, patvirtinančių jo vartojimo saugumą ir efektyvumą pacientams, vartojantiems ne apiksabaną ar rivaroksabaną, o kitus Xa faktoriaus inhibitorius, taip pat yra duomenų, kad po gydymo

„Ondexxya“ išauga trombų susidarymo rizika [41]. Atsižvelgiant į tai, turi būti toliau vykdomi tyrimai vaisto veiksmingumo ir saugumo patvirtinimui.

2.4. Kraujo krešėjimo įvertinimas ir stebėseną

2.4.1. ADTL, PL, TL ir fibrinogeno tyrimai

Aktyvinto dalinio tromboplastino laikas (ADTL – angl. *partial thromboplastin time*) ir protrombino laikas (PL – angl. *prothrombin time*) yra du pagrindiniai kraujo krešėjimo tyrimai atliekami siekiant įvertinti kraujo krešėjimo kaskados funkciją. Abu kartu jie atspindi visus krešėjimo faktorių aktyvinimosi kelius, kurie skirstomi į vidinį (angl. *intrinsic*), išorinį (angl. *extrinsic*) ir bendrąjį (angl. *common*). Tam tikroje kaskados vietoje vidinis ir išorinis krešėjimo faktorių aktyvinimosi keliai susijungia į bendrąjį kelią. ADTL atspindi vidinio ir bendrojo, o PL – išorinio ir bendrojo kelio krešėjimo faktorių veiklą (9 pav.).



9 pav. Supaprastint kraujo krešėjimo kaskadų shema[44].

Šie tyrimai atliekami siekiant išsiaiškinti, ar yra krešėjimo faktoriaus (-ių) stoka. Interpretuojant abiejų tyrimų (ADTL ir PL) rezultatus kartu galima atskirti, kuris iš krešėjimo aktyvinimosi kelių yra sutrikęs ir kurių faktorių galimai stinga. Pavyzdžiui, jeigu ADTL yra pailgėjęs, o protrombino laikas atitinka pamatinių biologinių verčių intervalą, tikėtina, kad stokojama kažkurio iš vidinio kelio faktorių (XII, XI, IX, VIII ir pan.). Priešingu atveju, jei pailgėjęs protrombino laikas, o ADTL išlieka normalus – tikėtina, kad problemų yra išoriniame krešėjimo aktyvinimosi kelyje. Jei pailgėjusį krešėjimo laiką rodo abu rutininiai krešėjimo tyrimai – reikėtų pasidomėti bendrojo kelio faktorių būkle, tačiau prieš tai būtina išmatuoti trombino laiką (TL – angl. *thrombin time*), siekiant atmesti fibrino polimerizacijos sutrikimus bei nustatyti funkcinį paties fibrinogeno aktyvumą.

Gydymo nefrakcionuotu heparinu stebėsenai įprasta taikyti rutininį krešėjimo tyrimą ADTL. Jo rezultatai, gydant nefrakcionuotu heparinu, turėtų būti apytiksliai 1,5 - 2,0 kartus ilgesni nei numatyta sveikų / negydomų antikoaguliantais asmenų pamatinė biologinė vertė, tačiau įrodymai, kad pasikliaujant šiuo intervalu galima patikimai prognozuoti trombozinius ar kraujavimo atvejus, yra silpni ir abejotini [44]. ADTL tyrimą taip pat veikia

daugybė procesų iki tyrimų ir pačios analizės kintamųjų, kurie nesusiję su nefrakcionuoto heparino antikoaguliaciniu poveikiu, dar labiau sumažindami jo potencialią vertę gydymo nefrakcionuotu heparinu stebėsenai.

ADTL pailgėjimas nebūtinai reiškia, kad kraujas yra veikiamas antikoaguliantais. Pavyzdžiui, pacientams, turintiems lupus antikoaguliantus, gali būti gerokai pailgėjęs ADTL, nors padidėjusi ne kraujavimo, o trombozės rizika. Pacientams, kuriems trūksta XII faktoriaus, prekalkreino arba didelės molekulinės masės kininogeno, paprastai yra labai pailgėję ADTL, tačiau jie neturi kraujavimo pavojaus ir nėra apsaugoti nuo venų tromboembolijos (VTE) [42].

Aktyvinto dalinio tromboplastino laiko pailgėjimo laipsnis, priklausomai nuo vaisto koncentracijos, skiriasi tarp skirtingų ADTL metodų, todėl klaidinga manyti, kad tam tikras ADTL pailgėjimo laipsnis gydant heparinu gali būti prilyginamas tam tikram antikoaguliaciniam poveikiui [43]. Atsižvelgiant į tai, rekomenduojama nustatyti kiekvieno ADTL reagento individualų terapinį intervalą, pagal išmatuotą NH koncentraciją kraujo plazmoje. Ši rekomendacija rodo, kad ADTL iš tikrųjų veikia kaip „netikras“ heparino koncentracijos nustatymo tyrimas, tačiau gydytojai ir toliau klaidingai jį naudoja fiziologinio heparino poveikio įvertinimui.

ADTL daugelį metų išlaikė populiarumą dėl įvairių priežasčių, įskaitant mažas sąnaudas, bendrą techninį patikimumą, paprastumą ir greitį, prieinamumą ir tinkamos alternatyvos nebuvimą. Nepaisant to, abejonės dėl ADTL efektyvumo vykdant heparino stebėseną išliko dešimtmečius ir toliau kaupiasi, todėl ADTL keitimas tiesioginiu heparino aktyvumo nustatymo tyrimu buvo patrauklus variantas, kuris tapo dar patrauklesnis dėl naujausių technologijų pažangos ir atsiradus anti-Xa tyrimui [42].

2.4.2. Anti-Xa tyrimas.

Heparino (tiek nefrakcionuoto, tiek ir mažos molekulinės masės) bei fondaparinkso koncentraciją galima išmatuoti atliekant anti-Xa tyrimą. Tai funkcinis antitrombino (AT) ir nefrakcionuoto heparino (NH), mažos molekulinės masės heparinų (MMMh) ar fondaparinkso komplekso poveikio į aktyvų X faktorių tyrimas. Taip pat šiuo tyrimu galima nustatyti ir naujos kartos geriamųjų antikoaguliantų koncentraciją kraujo plazmoje. Šiuo atveju anti-Xa tyrimo metu matuojamas tiesioginis rivarokسابano, apiksabano ar edoksabano poveikis į aktyvų X faktorių.

Metodo principas: įprasta aktyvios X faktoriaus molekulės funkcija kraujo plazmoje yra skaidyti savo natūralų substratą protrombiną. Skaitymo metu gaminasi trombinas – fermentas, kuris skatina fibrino krešulio susidarymą. Veikiant antikoaguliantams, kraujo

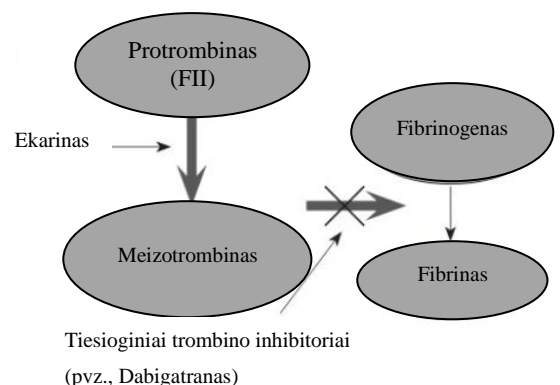
plazmoje vyksta dvi konkurencinės reakcijos: substrato skaidymas, veikiant Xa faktoriui, ir Xa faktoriaus slopinimas, veikiant heparino ar fondaparinkso ir antitrombino kompleksui arba tiesiogiai naujos kartos antikoagulantams. Panašiu principu pagrįstas ir anti-Xa tyrimo metodas – paciento kraujo plazma (su galimai ten esančiu antikoaguliantu) yra sumaišoma su žinomu kiekiu chromogeninio substrato ir į mišinį pridedamas žinomas kiekis Xa faktoriaus. Tuo pačiu metu kraujo plazmoje vyksta dvi reakcijos: substrato hidrolizė, veikiant Xa faktoriui, ir Xa faktoriaus slopinimas, veikiant antikoagulantams (jei jų yra kraujo plazmoje). Praėjus tam tikram laikui konkurencinės reakcijos pasiekia pusiausvyrą (išeikvojami reakcijoms reikalingi komponentai). Kolorimetriniu metodu yra nustatomas suskaidyto chromogeninio substrato kiekis, t.y. susidaręs paranitroanilinas, kuris yra atvirkščiai proporcingas kraujo plazmoje esančio antikoagulianto koncentracijai.

Tiriant nefrakcionuoto heparino ar mažos molekulinės masės heparinų koncentraciją, atsakymai pateikiami tarptautiniais vienetais (angl. *international units*) mililitre (IU/ml). Įvairių tyrėjų duomenimis, pacientų, nevartojančių heparino, rezultatai turėtų būti mažesni nei 0,1 IU/ml, kai gydoma nefrakcionuotu heparinu – 0,3 - 0,7 IU/ml, o mažos molekulinės masės hepariniais – 0,4 - 2,0 IU/ml (ribos priklauso nuo pasirinkto vaisto). Fondaparinkso atsakymai pateikiami mikrogramais mililitre (µg/ml), o rivaroksabano, apiksabano ir edoksabano – nanogramais mililitre (ng/ml). Šiems vaistams specifinių terapinių intervalų nėra.

2.4.3. Ekarino chromogeninis tyrimas

Naujųjų antikoagulantų rivaroksabano, apiksabano ir edoksabano taikinyje yra Xa faktorius, todėl vaisto poveikį galima įvertinti jau aptartu anti-Xa tyrimu, tačiau dabigatrano taikinyje yra IIa faktorius (trombinas), todėl šio vaisto poveikiui vertinti atliekamas anti-IIa tyrimas – ekarino chromogeninis tyrimas (angl. *ecarin chromogenic assay* – ECA). Ekarinas yra metaloproteazė – protrombiną aktyvuojanti medžiaga, išsikirta iš *Echis carinatus* gyvačių nuodų [64].

Tyrimo metodas yra pagrįstas protrombino skilimu, kurį inicijuoja ekarinas. Aktyvacijos metu susidarę produktai (daugiausia meizotrombinas), veikia kaip fermentai ir skatina chromogeninio substrato skaidymą ir paranitroanilino susidarymą. Kraujo plazmoje esant tiesioginiams trombino inhibitoriams (pvz., dabigatranas),



10 pav. Ekarino krešėjimo laiko metodo principas [65].

substrato skaidymas yra slopinamas (10 pav.) Reakcijos slopinimo stiprumas tiesiogiai priklauso nuo inhibitorių koncentracijos, t.y. kuo didesnė inhibitorių koncentracija yra kraujo plazmoje, tuo stipriau slopinamas substrato skilimas ir tuo mažesnis kiekis paranitroanilino susidaro reakcijos pabaigoje. Reakcijos mišinio optinis tankis matuojamas apšvietus jį 405 nm bangos ilgio šviesa, apskaičiuojamas susidariusio paranitroanilino kiekis, kuris yra atvirkščiai proporcingas tiesioginių trombino inhibitorių, t.y. dabigatranio, koncentracijai kraujo plazmoje.

2.5. Komplikacijos

Dažniausia heparino sąlygota komplikacija yra heparino sukelta trombocitopenija (angl. HIT – *heparin-induced thrombocytopenia*) – tai yra gyvybei pavojinga klinikinė būklė, kuri dažnai paradoksiškai gali komplikuotis tromboze (angl. *heparin-induced thrombocytopenia with thrombosis syndrome* – HITTS) [17, 19, 48]. HIT pasireiškimo dažnis – 1 - 5 proc., tačiau įvertinti jį yra gana sunku, kadangi jis priklauso nuo vartoto heparino tipo, suvartotos vaisto dozės, gydymo trukmės bei klinikinės būklės [18, 48]. HIT dažniau sąlygoja heparinas pagamintas iš jaučių plaučių (3,4 proc.) nei iš kiaulių žarnų (1 proc.), taip pat dažniau pasireiškia vartojant gydomąsias vaisto dozes (2,4 - 3 proc.) nei profilaktines (0,3 - 0,5 proc.). HIT dažnesnė pacientams vartojantiems heparinus, kuriems atliekama chirurginė intervencija, lyginant su kitais ligoniais, taip pat dažnesnė ligoniams po ortopedinių operacijų nei po širdies ir kraujagyslių operacijų. Išimtis – po širdies persodinimo operacijos pacientams, vartojantiems hepariną, HIT pasireiškia 11 proc. atvejų [19, 23, 28]. Mažos molekulinės masės heparinai HIT sukelia ypač retai (0 - 0,5 proc.), pvz., 1986–1993 metais Prancūzijoje daugiau kaip 15 mln. ligonių buvo gydyti vienu iš MMMH preparatų (nadroparinu) ir HIT pasireiškė tik 137 (< 0,001 proc.) iš jų [19].

Kraujavimas yra viena iš dažniausių antikoagulantų sukeltamų komplikacijų [53]. Jis yra skirstomas į vidinį ir išorinį bei lengvą ir sunkų. Kraujavimas iš dantenu, nosies, žaizdų ar makšties yra priskiriamas lengvam kraujavimui, taip pat ir atsiradusios pavienės kraujosruvos bei galūnių patinimas. Stipriu kraujavimu yra laikoma melena (kraujas išmatose), kraujavimas iš tiesiosios žarnos, kraujas šlapime, vėmimas ar atkosėjimas krauju, taip pat atsiradęs kraujas vidiniuose organuose. Abu kraujavimai tiek lengvas, tiek sunkus yra pavojingi žmogaus gyvybei. Jeigu kraujavimas nėra laiku pastebimas, nesiimama atitinkamų priemonių jį stabdyti ir laiku nėra nutraukiamas antikoagulantų vartojimas – tai dažnai gali pasibaigti paciento mirtimi. Pavojingiausias, žinoma, yra vidinis kraujavimas, kurį diagnozuoti nėra taip paprasta. Pavyzdžiui, kraujavimas prasidėjęs vidaus organuose, gali pasireikšti tokiais nespecifiniais simptomais kaip labai sumažėjęs kraujo spaudimas, bendras silpnumas, galvos svaigimas,

alpimas, padažnėjęs širdies ritmas, galvos skausmas, dusulys, krūtinės skausmas ar krūtinės angina [54]. Dažnai gali atsirasti nepaaiškinamos kraujosruvos, taip pat būdingas labai sumažėjusi hemoglobino koncentracija.

Kasmet apie ketvirtadalis pacientų, vartojančių varfariną, atsisako šio vaisto dėl sukeltos didelės kraujavimo rizikos [25, 34]. 2007 metais Hughes M. ir kitų atliktame tyrime buvo išskirti pagrindiniai kraujavimus lemiantys rizikos veiksniai: senyvas amžius, nekontroliuojama hipertenzija, anksčiau buvęs miokardo infarktas ar išeminės širdies ligos istorija, anemija ar anksčiau pasireiškę kraujavimo epizodai, kitų vaistų vartojimas, taip pat alkoholio vartojimas bei genetiniai veiksniai [25, 53]. Howard M. ir kiti 2017 metais atliko tyrimą, kuris parodė, jog didelė dalis nepageidaujamų reakcijų pasireiškė kai antikoagulantai buvo vartojami kartu su priešuždegiminiais vaistais [55]. Antikoagulantų skyrimas yra labai apriojamas dėl didesnės rizikos intrakranijinės hemoragijos atsiradimui, t.y. kraujo išsiliejimui į smegenis, tačiau naujausi tyrimai rodo, jog, pvz. varfarino keliamo rizika siekia vos 0,3 - 0,6 proc. ir nuo aspirino žymiai nesiskiria (0,2 proc.) [28]. 2010 metais Lassen MR ir kt. savo tyrimu parodė, kad apiksabanas buvo susijęs su mažesne kraujavimo rizika nei varfarinas [56]. 2010 metais atliktas ROCKET AF tyrimas parodė mažesnę intrakranijinių bei mirtinų kraujavimų išsivystymo galimybę vartojant rivaroksabaną lyginant su vitamino K antagonistu [57]. Conolly ir kt. 2009 m. atliko tyrimą ir pateikė išvadas, kad dabigatranas taip pat sukelia mažiau intrakranijinių kraujavimų nei varfarinas, tačiau atsiranda didesnė rizika atsirasti miokardo infarktui nei vartojant kitus antikoaguliantus [58]. Keletas kitų tyrimų taip pat parodė didelę miokardo infarkto išsivystymo riziką vartojant dabigatraną [59, 29]. Giugliano Robert P. ir kt. 2013 metais buvo atliktas tyrimas su edoksabanu, kuris parodė, kad, kaip ir kiti naujos kartos antikoagulantai, edoksabanas žymiai mažiau sukėlė kraujavimų nei vitamino K antagonistai, tačiau didelės vaisto dozės dažniau išprovokavo kraujavimus iš virškinimo trakto nei vartojant varfariną [50].

Virškinamojo trakto ligos taip pat yra vienos iš dažniausiai pasitaikančių nepageidaujamų reakcijų. Jos pasireiškia dispepsijos reiškiniais, pilvo pūtimu, skausmu, viduriavimu, vidurių užkietėjimu, pykinimu ir pan. Yra žinoma, jog varfarinas turi didelės įtakos virškinimo trakto pažeidimų atsiradimui, tačiau WASPO (2007) tyrimas, atliktas su vyresnio amžiaus pacientais parodė, jog dėl virškinimo sutrikimų dažniau tekdavo nutraukti aspiriną, o ne varfariną [28]. Conolly ir kt. 2009 metais atliko tyrimą su dabigatranu, siekiant nustatyti jo poveikį virškinimo traktui. Tyrimo rezultatai parodė, jog, lyginant su kitais antikoaguliantais, dabigatranas ypač neigiamai veikia virškinimo trakto būklę ir jį pažeidžia per pus dažniau nei varfarinas, todėl dabigatrano vartoti nerekomenduojama pacientams, sergantiems virškinimo trakto ligomis [58, 29]. 2010 metais atlikti trečios fazės Rocket tyrimai su rivaroksabanu taip pat

parodė neigiamą jo įtaką virškinimo traktui, tačiau tokių didelių pažeidimų kaip su dabigatranu nebuvo užfiksuota [25, 57]. Edoksabanas, kaip ir kiti naujos kartos antikoagulantai, pasižymi neigiamu poveikiu į virškinimo traktą, todėl jų vartojimas pacientams, turintiems virškinimo trakto pažeidimų, yra nerekomenduojamas [50].

Visame pasaulyje viena iš pagrindinių vaistų vartojimo nutraukimo priežasčių yra kepenų pažeidimai. Antikoagulantai, kaip ir kiti vaistai, yra metabolizuojami kepenyse, todėl gali sukelti kepenų fermentų pokyčius, rodančius kepenų pažeidimą. Naujieji geriamieji antikoagulantai nėra pakankamai įvertinti klinikinėje praktikoje, todėl dažnai pacientams, turintiems kepenų nepakankamumą ar bet kokią kitą kepenų pažeidimą, jų vartojimas yra nerekomenduojamas. Po klinikinių tyrimų, pradėjus vartoti rivaroksabaną realioje praktikoje, buvo nustatyta didelė kepenų pažeidimo rizika, todėl šio vaisto vartojimas yra draudžiamas, esant bet kokio laipsnio kepenų pakenkimui. Pagal 2016 metais susistemintą ataskaitą rivaroksabanas 3,8 proc. visų jį vartojusių pacientų sukėlė kepenų pažeidimą, o tarp vartojusių dabigatraną – 1,8 proc. pasireiškė sunkesni kepenų pažeidimo atvejai. Klinikinės studijos ne visada gali atspindėti realią situaciją, todėl kiekvieno atvejo individuali analizė yra būtina prieš skiriant antikoagulantų terapiją [25, 35].

Prie kitų dažnai pasitaikančių nepageidaujamų poveikių, atsirandančių vartojant antikoagulantus, priskiriami inkstų funkcijos sutikimai, anemija, alerginės reakcijos, įskaitant ir anafilaksiją, raumenų skausmai, burnos džiuvimas, tachikardija bei audinių nekrozė [25, 59]. 2010 metais Van Ryn J. ir kiti atliko tyrimą, kurio metu lygino dabigatraną ir varfariną sukeltamų nepageidaujamų poveikių stiprumą ir dažnį. Tyrimo rezultatai parodė, kad net 9 proc. dalyvių, vartojusių dabigatraną, turėjo nutraukti vaisto vartojimą dėl pasireiškusių labai sunkių nepageidaujamų reakcijų, o varfariną – 6,8 proc. vartojusiųjų. Hemoragijų bei intrakranijinio kraujavimo pavojus nustatytas žymiai mažesnis grupėje, vartojusioje dabigatraną, o mirčių, ūminių koronarinių sindromų bei nenormalių kepenų funkcijos rodiklių nustatymo dažnis abiejose grupėse buvo panašus [29]. RE-NOVATE II tyrimo metu dabigatranas taip pat buvo lyginamas ir su enoksaparinu, šio tyrimo rezultatai parodė, jog vienos dabigatraną dozės saugumas ir efektyvumas yra toks pat kaip mažos molekulinės masės heparinų, tačiau po antros vaisto dozės – mirčių skaičius atitinkamai šiek tiek padidėja [60]. Su edoksabanu buvo atliktas ENGAGE AF-TIMI 48 tyrimas, kuris nustatė, kad net apie 30 proc. vaistą vartojusių pacientų pasireiškė vienokios ar kitokios nepageidaujamos reakcijos. Dažniausios iš jų buvo padidėjęs kraujavimas iš makšties, taip pat iš nosies ar į kitus audinius, rečiau – anemijos, bėrimai, nenormalūs kepenų rodikliai [50]. Vartojant rivaroksabaną dažniausiai pasitaikančios nepageidaujamos reakcijos buvo pykinimas, vidurių užkietėjimas ar viduriavimas [25].

Apibendrinant – pagrindinė šių vaistų sukeliama nepageidaujama reakcija yra kraujavimas, kuris gali atsirasti bet kurioje organizmo vietoje ir laiku nepastebėtas tapti mirties priežastimi. Nors dažnai gydytojai, siekdami išvengti nepageidajamų antikoagulantų sukeltų reakcijų, pasirenka skirti kitus vaistus (pvz., antitrombocitinius), tačiau reikia nepamiršti, jog antikoagulantų indėlis mažinant mirštamumą nuo tromboembolijų yra žymiai didesnis nei nepageidajamų reakcijų pasireiškimo galimybė. Tai reiškia, jog jų nauda atsveria keliamą riziką [19, 28]. Vyresnis pacientų amžius taip pat dažnai yra prilyginamas kontraindikacijai, tačiau tyrimais buvo įrodyta, kad antikoagulantų teikiama nauda yra didesnė už nepageidajamų reakcijų riziką net pacientams, kurių amžius 85 metai ir vyresni [19]. Reikėtų pabrėžti, jog atlikus klinikinius tyrimus, naujos kartos geriamieji antikoagulantai nors ir parodė geresnius rezultatus lyginant su varfarinu, ypač dėl intrakranijinių kraujavimų, tačiau išlieka klausimas dėl šių vaistų saugumo pacientams, sergantiems daugiau nei viena liga ir vartojantiems didelių vaistų kiekius, todėl būtina jų stebėseną, siekiant pamatyti faktinį rizikos ir naudos santykį realioje praktikoje, o ne tik ikiklinikiniuose ir klinikiniuose tyrimuose. Iki šiol taip pat dar nėra visiškai išsiaiškinta, kaip naujos kartos antikoagulantai veikia esant kepenų ar inkstų funkcijos sutrikimams, nėra ištirtas vaistų saugumas nėščiosioms, vaikams, žindyvėms bei onkologiniams ligoniams ir virškinimo trakto pažeidimai yra didesni nei tikėtasi vartojant naujos kartos geriamuosius antikoagulantus nei varfariną, todėl labai svarbu yra suprasti jų veikimo mechanizmą, sąveiką su kitais vaistais ir galimą poveikį paciento sveikatai kiekvienu individualiu atveju [25, 50, 57].

3. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

3.1. Tyrimo objektas

Tyrimas buvo pradėtas nuo mokslinės literatūros, susijusios su magistro baigiamojo darbo tema, analizės įvairiuose Vilniaus universiteto bibliotekos informacijos ištekliuose, duomenų bazėse bei Lietuvos bibliotekų kataloguose. Mokslinių straipsnių pasirinkta tema buvo ieškoma PubMed ir Google Scholar duomenų bazėse. Atlikus šiuos veiksmus ir susipažinus su darbo tema, buvo sudarytas darbo planas: iškeltas tyrimo tikslas, suformuluotos užduotys, nuspręsta kokie tyrimo metodai bus naudojami darbe, sukurta anti-Xa metodo patikrinimo ir įsisavinimo (angl. *verification*) strategija bei pasirinkta tiriamųjų populiacija anketinei apklausai. Internetinė apklausa buvo atliekama 2018 metų lapkričio – 2019 metų balandžio mėnesiais, o metodo patikrinimas ir įsisavinimas atliktas 2019 metų balandžio 13 – 20 dienomis. Vėliau gauti duomenys buvo susisteminti, atlikta jų statistinė analizė ir pateiktos išvados.

3.2. Tiriamųjų imtis

Anketinei apklausai pasirinkta tikslinė populiacija buvo visi Lietuvoje dirbantys licencijuoti gydytojai. Atliekant tyrimą sudaryta tikimybinė paprastoji atsitiktinė imtis, t. y. visų populiacijos elementų galimybės priklausyti imčiai buvo visiškai vienodos. Anketą sudarė 16 klausimų, į kuriuos atsakė 34 respondentai – įvairių specialybių atstovai. 3 respondentai (medicinos biologai) iš statistinės analizės buvo pašalinti, kadangi gydymo antikoaguliantais skyrimas ir gydymo stebėsenos vykdymas nėra jų kompetencija.

Vykdamas anti-Xa metodo patikrinimą ir įsisavinimą buvo naudojamos dabigatrano, fondaparinkso, rivaroksabano ir apiksabano komercinės dviejų lygių kokybės kontrolės. Visos naudotos kontrolės buvo vieno gamintojo – Diagnostica Stago (Prancūzija). Penkis dienas buvo atliekama po penkis tyrimus kiekvienam naujos kartos antikoaguliantui, t.y. iš viso po 50 tyrimų (25 tyrimai su pirmo lygio ir 25 tyrimai su antro lygio kokybės kontrolėmis) kiekvienam vaistui atskirai, išskyrus dabigatraną, kuriam buvo atlikta tik 16 tyrimų (8 tyrimai su pirmo lygio ir 8 tyrimai su antro lygio kokybės kontrolėmis).

3.3. Tyrimo metodai

Tyrimė buvo naudojamas kiekybinio tyrimo metodas – anoniminė anketinė apklausa. Apklausa vyko internetu, todėl tyrimė dalyvavę asmenys galėjo klausimyną pildyti jiems tinkamiausiu laiku, buvo išsaugomas asmens anonimiškumas bei išvengiama galimos įtakos. Respondentams internetinė nuoroda buvo platinama per profesines organizacijas. Klausimyną sudarė 1 atviro tipo (pateikiamas klausimas, į kurį atsakymą respondentai turėjo parašyti patys) ir 15 uždaro tipo klausimų (pateikiamas klausimas ir galimi atsakymo variantai, iš kurių respondentai galėjo pasirinkti vieną ar kelis labiausiai tinkamus atsakymus).

Metodo patikrinimui ir įsisavinimui buvo naudojami anti-Xa ir ekarino chromogeninio tyrimo metodai, kurių principai plačiau aprašyti šio magistro baigiamojo darbo literatūros apžvalgoje (*Žr. 2.6.2. Anti-Xa tyrimas ir 2.6.3. Ekarino chromogeninis tyrimas*). Dabigatrano kokybės kontrolės buvo tiriamos taikant ekarino chromogeninio tyrimo metodą, o fondaparinukso, rivaroksabano ir apiksabano – anti-Xa. Prieš tyrimą kiekvienam antikoagulantui buvo atlikta jam specifinė kalibracija, naudojant reagentus su žinoma antikoagulianto koncentracija. Dabigatranui buvo atlikta penkių taškų kalibracija (0 ng/ml, 48 ng/ml, 97 ng/ml, 169 ng/ml, 252 ng/ml), apiksabanui – keturių taškų (0 ng/ml, 88 ng/ml, 224 ng/ml, 437 ng/ml), fondaparinuksui – trijų taškų (0 μg/ml, 0,93 μg/ml, 1,87 μg/ml) ir rivaroksabanui – keturių taškų (0 ng/ml, 95 ng/ml, 240 ng/ml, 466 ng/ml) kalibracijos. Tyrimo metu taip pat naudoti reagentai: Liquid anti-Xa substratas ir Xa faktoriaus koncentratas; ECA II protrombinas, substratas ir ekarino koncentratas; desorbentas; CaCl₂; mėginių skiedimo skystis. Visų naudotų kalibrantų ir reagentų gamintojas buvo tas pats – Diagnostica Stago (Prancūzija).

Visi tyrimai buvo atliekami automatiniu krešėjimo analizatoriumi STA Compact Max (Diagnostica Stago, Prancūzija).

3.4. Statistinė analizė

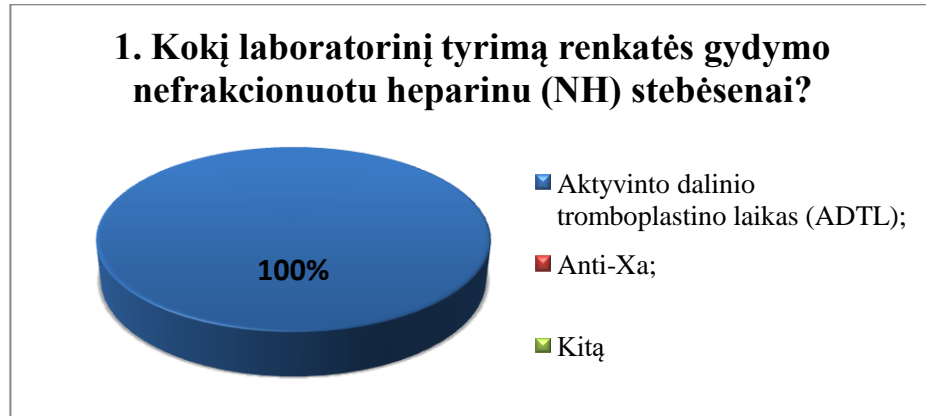
Anketinės apklausos duomenys buvo susisteminti ir išanalizuoti, sudarant lenteles bei diagramas, naudojant Microsoft Excel ir Microsoft Word (12.0 versija, Microsoft corporation, 2007) programas.

Atliekant metodo patikrinimą ir įsisavinimą buvo naudojama dispersinė analizė ANOVA, sukurta Kallner Anders (6.84 versija, Švedija, 2009-05-29). Tolimesnė statistinė duomenų analizė buvo atliekama naudojant MedCalc programinę įrangą (19.0 versija,

MedCalc Software bvba, 2019). Išskirčių (angl. outliers) nustatymui pasitelktas Grubb's testas (GraphPad, JAV). Standartiniai nuokrypiai (angl. *standard deviations* – SD) bei variacijos koeficientai (angl. *coefficients of variation* – CV) palyginti atliekant F-testą. Visų testų statistinis reikšmingumas buvo nustatytas, kai $p < 0,05$.

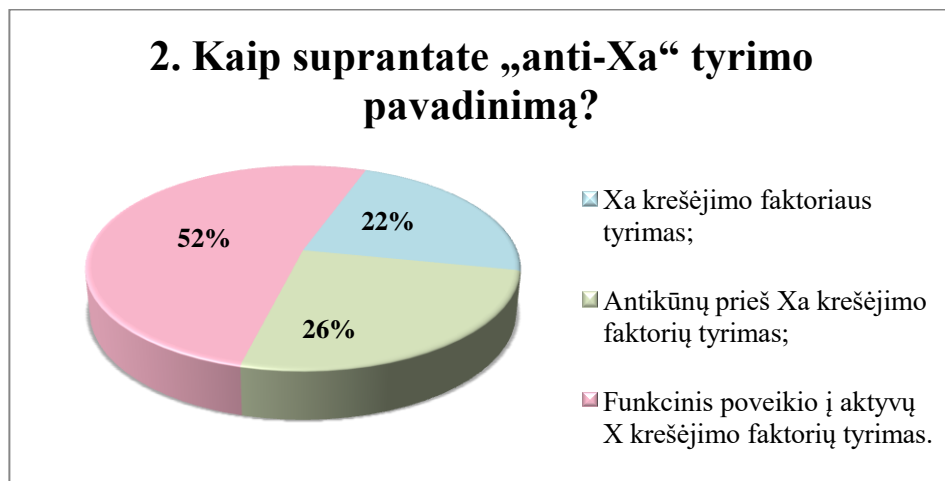
4. TYRIMO REZULTATAI

4.1. Anketinės apklausos rezultatai



11 pav. Tyrimai naudojami gydymo nefrakcionuotu heparinu (NH) stebėsenai.

Pirmuoju klausimu buvo siekiama išsiaiškinti kurį kraujo krešėjimo tyrimą gydytojai renka vykdydami gydymo nefrakcionuotu heparinu (NH) stebėseną. 11 paveiksle pavaizduota skritulinė diagrama parodo, jog visi tyrime dalyvavę respondentai (100 proc.) pasirinko aktyvinto dalinio tromboplastino laiką (ADTL).

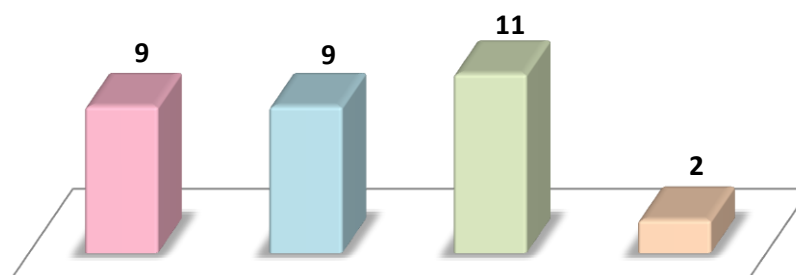


12 pav. Anti-Xa tyrimo pavadinimo reikšmė.

Antruoju klausimu buvo norima išsiaiškinti kokios yra apklausoje dalyvavusių gydytojų žinios apie anti-Xa tyrimą ir jo veikimo principą, todėl buvo paklausta kaip jie supranta šio tyrimo pavadinimą. 52 proc. respondentų pasirinko teisingą atsakymą, kad tai funkcinis poveikio į aktyvų X krešėjimo faktorių tyrimas, tačiau net 48 proc. gydytojų mano, kad tai paties Xa krešėjimo faktoriaus ar antikūnų prieš šį faktorių tyrimas.

3. Kaip manote, ar Jūsų pasirinktas tyrimo metodas gydymo NH stebėsenai yra tinkamiausias?

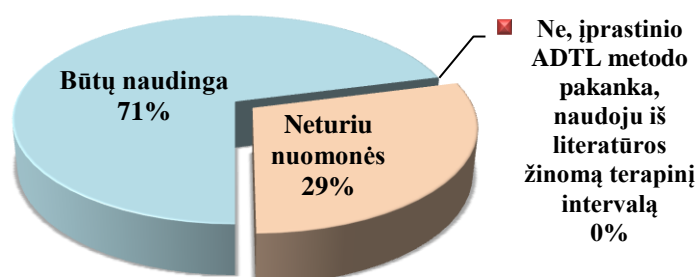
■ Taip; ■ Ne; ■ Abejoju / nežinau; ■ Nesidomiu. Jei reikia, pasiklausiu laboratorijos.



13 pav. Nuomonė apie gydymo NH stebėsenai pasirinkto tyrimo tinkamumą.

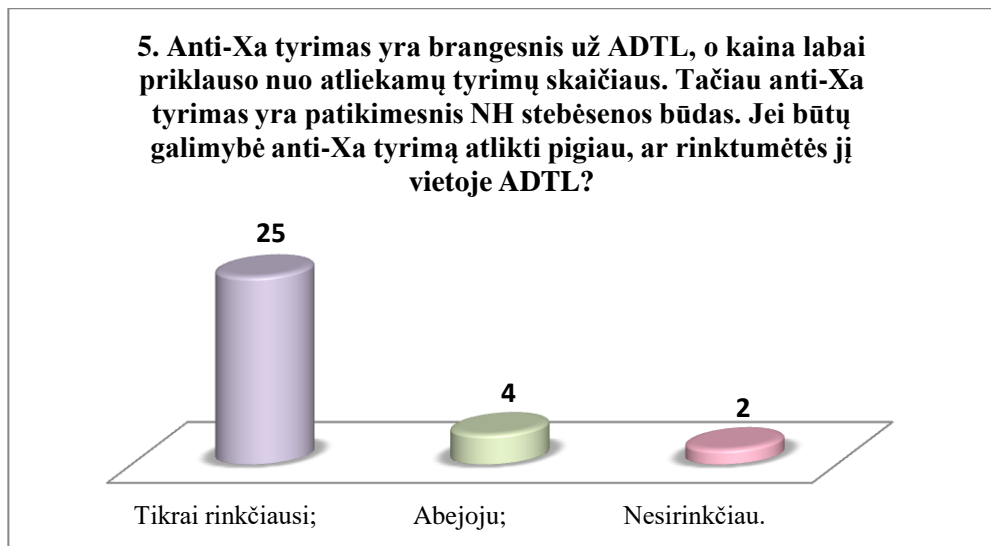
Šiek tiek mažiau nei trečdalis apklausos dalyvių, paklaustų ar, jų manymu, jų pasirinktas tyrimas gydymo nefrakcionuotu heparinu stebėsenai yra tinkamiausias, atsakė teigimai ir yra užtikrinti savo pasirinkimu, tačiau net 20 iš 31 (daugiau nei pusė) respondentų mano, kad ADTL nėra geriausias pasirinkimas ar abejoja jo tinkamumu.

4. Ar pageidautumėte, kad laboratorija apskaičiuotų įstaigai tinkantį laboratorijos ADTL metodo terapinį intervalą pagal ADTL ir anti-Xa tyrimų koreliacijos analizę?



14 pav. ADTL terapinio intervalo apskaičiavimo, naudojant anti-Xa tyrimą, poreikis

Paklausus respondentų ar jie pageidautų, kad laboratorija atliktų ADTL ir anti-Xa tyrimų koreliacijos analizę bei nustatytų atitinkamą aktyvinto dalinio trombotoplastino laiko terapinį intervalą, daugiau nei du trečdaliai (71 proc., t.y. 22 respondentai) atsakė, kad tai tikrai būtų naudinga, o likusi dalis (29 proc., t.y. 9 respondentai) – neturi nuomonės šiuo klausimu.



15 pav. Tyrimo pasirinkimo priklausomybė nuo kainos.

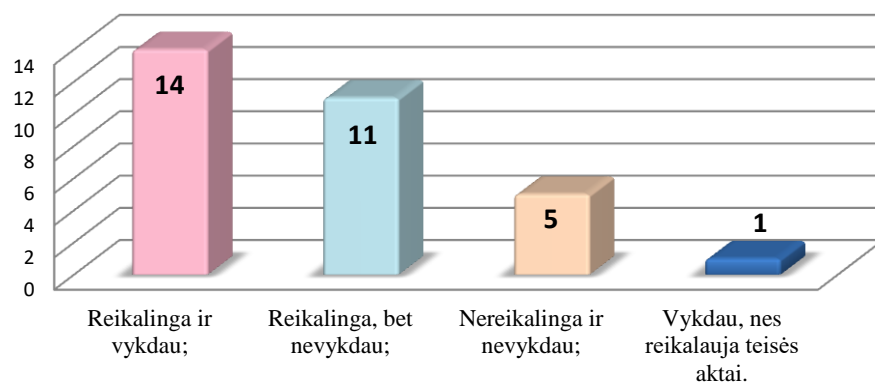
Penktas klausimas buvo užduotas siekiant išsiaiškinti ar respondentai vietoje ADTL rinktųsi anti-Xa metodą, jei būtų sumažinta jo kaina. Rezultatai parodė, kad net 25 iš 31 (daugiau nei trys ketvirtadaliai) apklausos dalyvio pasirinktų anti-Xa tyrimą, esant žemesnei jo kainai, 5 respondentai dėl pasirinkimo abejoja, o 2 nurodė, kad kainos sumažinimas, jų tyrimo pasirinkimo nepakeistų.

Siekiant išsiaiškinti respondentų atskymų penktame klausime pasirinkimo priežastis, buvo užduotas sekantis klausimas „**6. Jei anti-Xa tyrimo gydymo NH stebėsenai nesirinktumėte, pakomentuokite keliais žodžiais savo pasirinkimą.**“.

Du respondentai (iš keturių) penktame klausime pasirinkę atsakymą „Abejoju“, savo pasirinkimą pagrindė tuo, kad gydymo NH stebėseną dažniausiai yra vykdoma ambulatoriškai ir stacionare šių tyrimų pririekia retai (gydytojas ortopedas traumatologas), taip pat, kad šis tyrimas nėra aktualus respondento specialybei (gydytojas ortopedas traumatologas).

Respondentai, kurie atsakė, jog gydymo NH stebėsenai anti-Xa tyrimo nesirinktų, net jei jis būtų pigesnis, kaip priežastį nurodė, kad darbo praktikoje savo pacientams nefrakcionuoto heparino neskiria (gydytojas chirurgas ir gydytojas anesteziologas reanimatologas).

7. Vadovaujantis rekomendacijomis, gydymo mažos molekulinės masės heparinu (MMMH) stebėseną rutininėse situacijose nėra reikalinga, tačiau būtina specialiose klinikinėse situacijose. Kokia jūsų nuomonė apie MMMH stebėseną?



16 pav. Respondentų nuomonė apie gydymo MMMH stebėsenos reikalingumą.

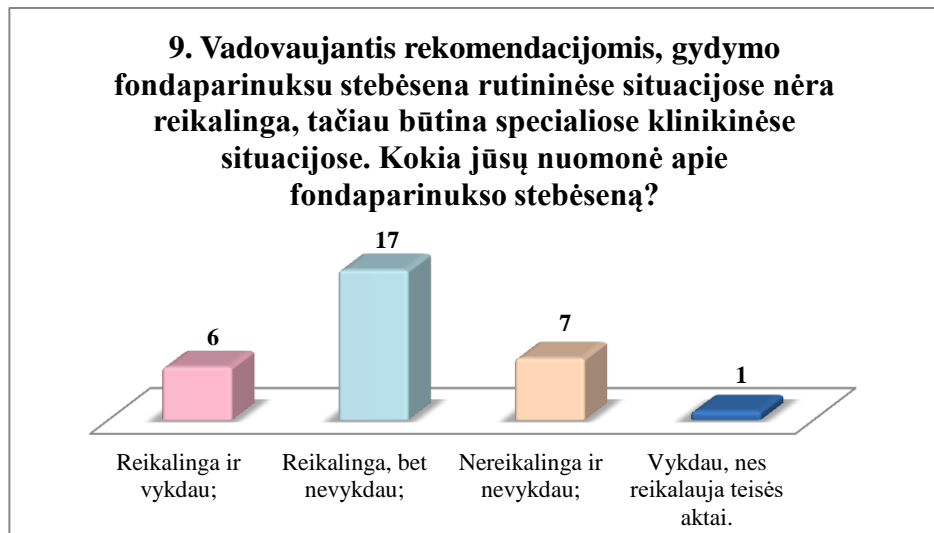
Remiantis 2018 metų Europos širdies ritmo asociacijos rekomendacijomis rutininė gydymo mažos molekulinės masės hepariniais stebėseną nėra reikalinga, tačiau paklausus respondentų, kokia jų nuomonė apie tai, beveik pusė (14 respondentų) atsakė, jog stebėseną yra reikalinga ir, nepaisant rekomendacijų, ją vykdo [3]. 11 apklausoje dalyvavusių gydytojų taip pat mano, kad gydymo stebėseną yra reikalinga, tačiau jos nevykdo. 1 respondentas teigia, vykdamas, nes to reikalauja teisės aktai ir tik 5 apklausos dalyviai stebėsenos nevykdo, nes, jų nuomone, ji nėra reikalinga.

8. Kurių iš išvardintų situacijų atvejais, kai asmuo gydomas MMMH, skirtumėte stebėseną anti-Xa tyrimo metodu?



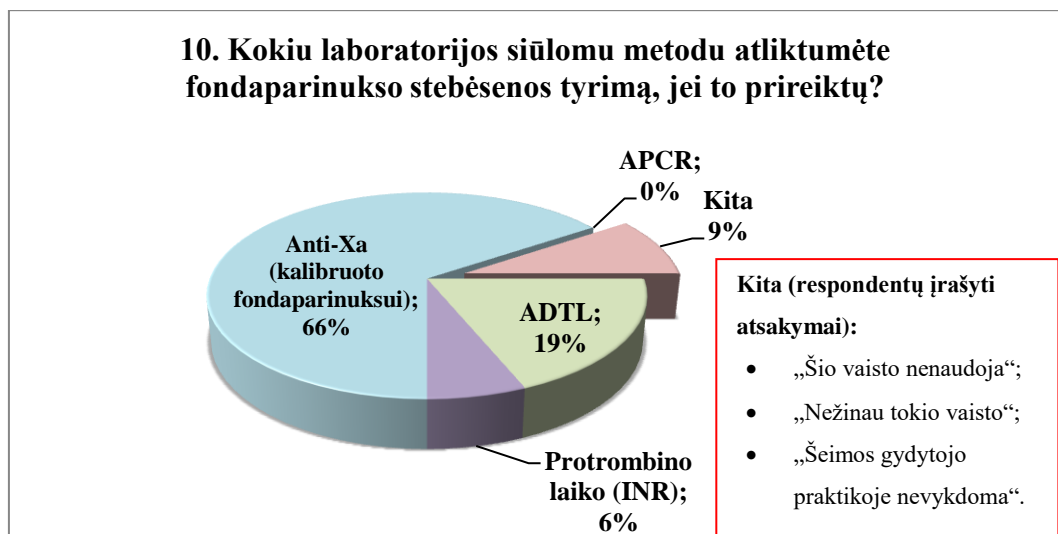
17 pav. Gydymo MMMH stebėsenos indikacijos.

Sekančiu klausimu buvo siekiama išsiaiškinti kokioms situacijoms esant respondentai skiria/skirtų gydymo mažos molekulinės masės heparinai stebėseną (buvo galima pasirinkti kelis atsakymų variantus). Tarp atsakymų buvo įterptos dvi (raudonai pažymėtos) situacijos, kurių atvejais MMMH stebėseną nėra taikytina, tačiau šiuos variantus pasirinko net 18 respondentų.



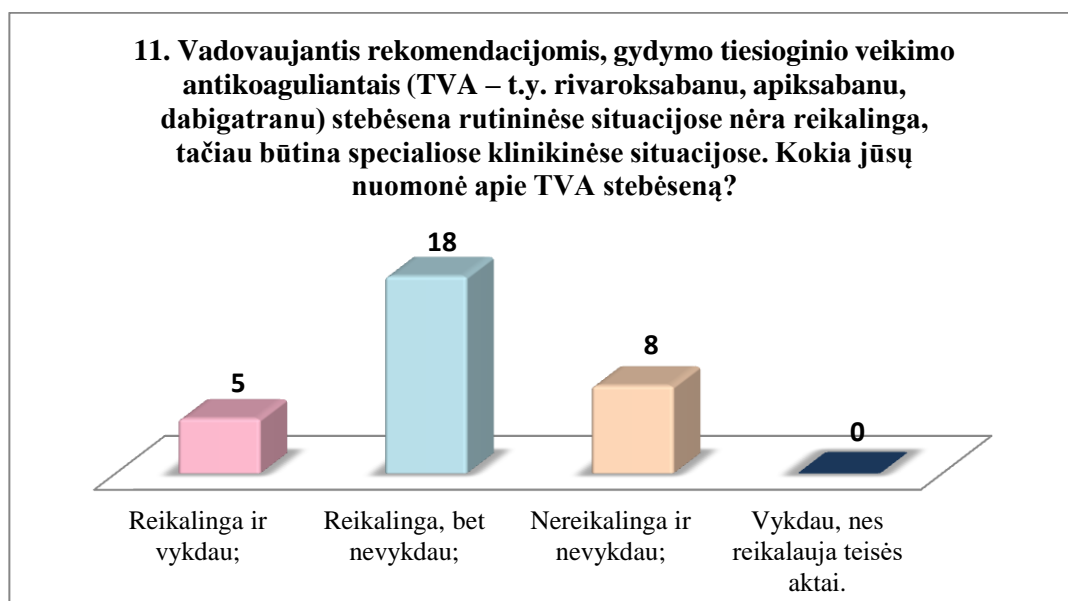
18 pav. Respondentų nuomonė apie gydymo fondaparinksu stebėsenos reikalingumą.

Uždavus klausimą apie gydymo fondaparinksu stebėseną dauguma, t.y. net 23 respondentai iš 31, atsakė jog gydymo stebėseną yra reikalinga, tačiau tik 6 iš jų ją vykdo. 1 respondentas vykdo, nes reikalauja teisės aktai ir tik 7 pritaria rekomendacijoms ir stebėsenos nevykdo.



19 pav. Gydymo fondaparinksu stebėsenai tinkamiausio metodo pasirinkimas.

Respondentams taip pat buvo užduotas klausimas kokių laboratorijos siūlomu metodu jie atliktų gydymo fondaparinksu stebėseną. 66 proc. atsakiusių rinkęsi anti-Xa tyrimą kalibruotą fondaparinksu, 19 proc. – aktyvinto dalinio tromboplastino laiko (ADTL) ir 6 proc. – protrombino laiko nustatymo metodus, o 9 proc. respondentų, pasirinkusių atsakymo variantą „Kita“, nurodė, kad šio vaisto nenaudoja, savo praktikoje nevykdo gydymo fondaparinksu stebėsenos ir kad išvis nežino šio vaisto.



20 pav. Respondentų nuomonė apie gydymo TVA stebėsenos reikalingumą.

2018 metų Europos širdies ritmo asociacijos rekomendacijos nurodo, kad gydymo tiesioginio veikimo antikoagulantais rutininė stebėseną taip pat nėra reikalinga, tačiau apklausos rezultatai rodo, kad daugiau nei du trečdaliai respondentų mano, jog stebėseną visgi reikalinga, bet ją vykdo tik 5 iš jų. 8 apklausos dalyviai stebėsenos nevykdo, nes mano kad ji nėra reikalinga [3].

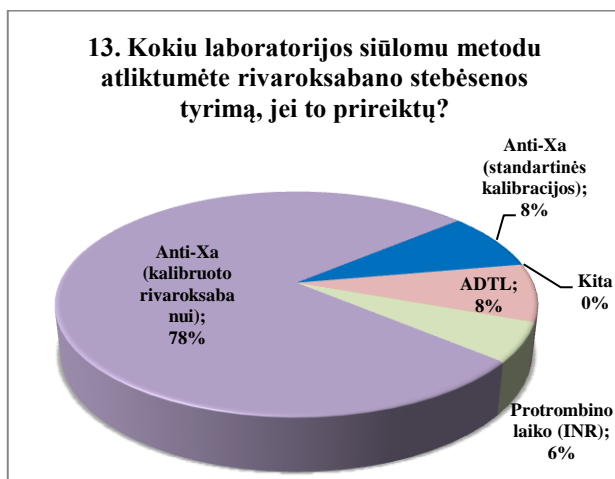
12. Kurių iš išvardintų situacijų atvejais, kai asmuo gydomas TVA, skirtumėte laboratorinę stebėseną?



21 pav. Gydomo TVA stebėsenos indikacijos.

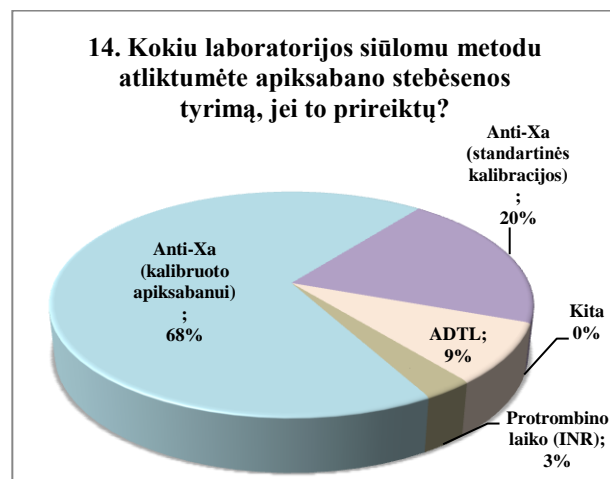
Respondentams buvo užduotas klausimas ir apie gydymo TVA stebėsenos skyrimą tam tikrų situacijų atvejais. Tarp atsakymo variantų buvo įterptos tos pačios dvi situacijos (pažymėtos raudonai), kurioms esant gydymo antikoagulantais stebėseną nėra reikalinga, ir šiuo atveju jas pasirinko 13 tyrimo dalyvių.

13. Kokių laboratorijos siūlomų metodų atliktumėte rivaroksabano stebėsenos tyrimą, jei to prireiktų?



22 pav. Gydomo rivaroksabanu stebėsenai tinkamiausio metodo pasirinkimas.

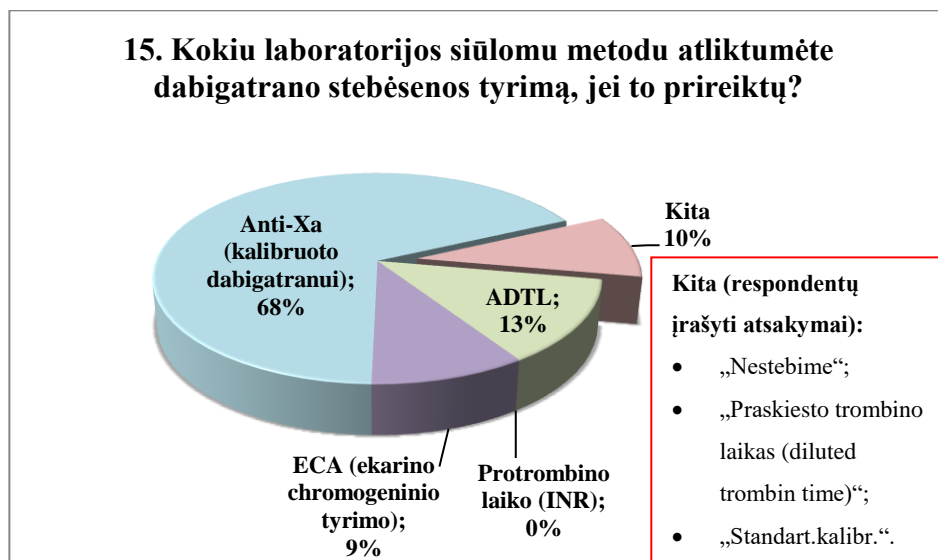
14. Kokių laboratorijos siūlomų metodų atliktumėte apiksabano stebėsenos tyrimą, jei to prireiktų?



23 pav. Gydomo apiksabanu stebėsenai tinkamiausio metodo pasirinkimas.

Norint sužinoti kurią laboratorijos siūlomą tyrimą užsakytų respondentai, vykdydami gydymo rivaroksabanu ar apiksabanu stebėseną, buvo užduoti 13 ir 14 klausimai (22 pav. ir 23 pav.). Abiem atvejais dauguma (78 proc. respondentų rivaroksabano ir 68 proc.

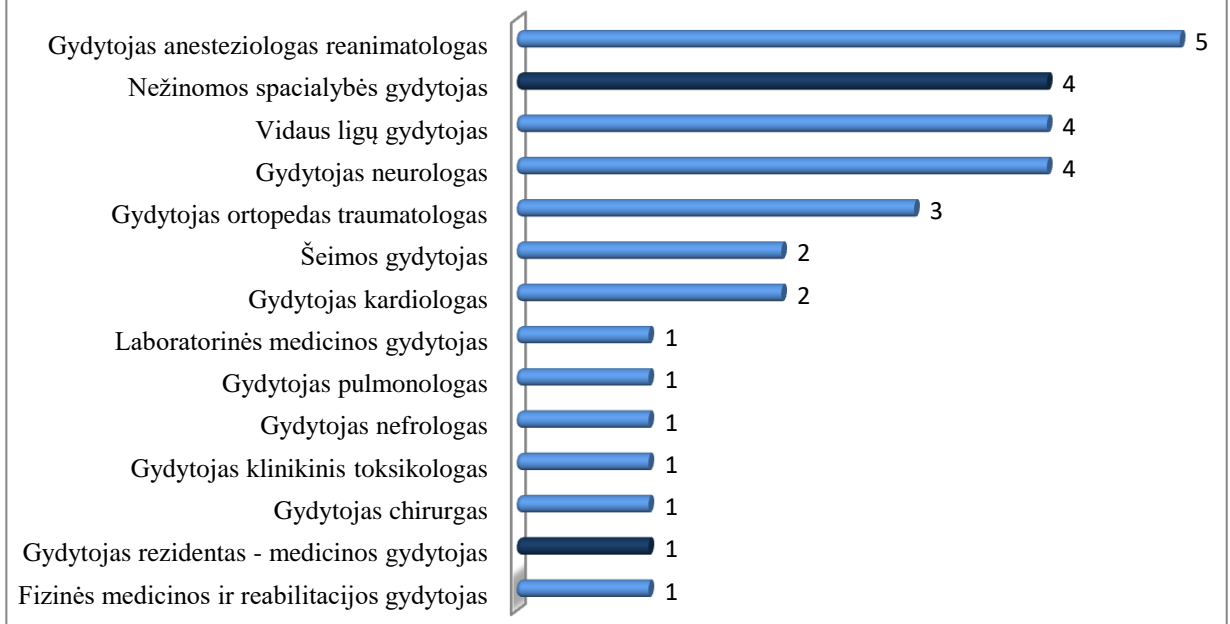
respondentų apiksabano stebėsenai) rinkęsi anti-Xa tyrimą, kalibruotą atitinkamam antikoagulantui, taip pat abiem atvejais dalis (atitinkamai 8 proc. ir 20 proc.) respondentų pasirinko standartinės kalibracijos anti-Xa tyrimo metodą, ADTL (atitinkamai 8 proc. ir 9 proc.) bei protrombino laiko nustatymo tyrimą (atitinkamai 6 proc. ir 3 proc.).



24 pav. Gydomo dabigatranu stebėsenai tinkamiausio metodo pasirinkimas.

Uždavus tokį pat klausimą apie gydymo dabigatranu stebėsenai tinkamiausią tyrimą, 68 proc. apklausos dalyvių pasirinko anti-Xa, kalibruotą dabigatranui. Ekarino chromogeninį (ECA) ir ADTL tyrimus pasirinko atitinkamai 9 proc. ir 13 proc. apklausos dalyvių, o keletas respondentų (iš 10 proc.), pasirinkusių atsakymo variantą „Kita“, nurodė praskiesto trombino laiko tyrimą bei standartinės kalibracijos anti-Xa tyrimą.

16. Nurodykite, kokia yra jūsų profesinė kvalifikacija.

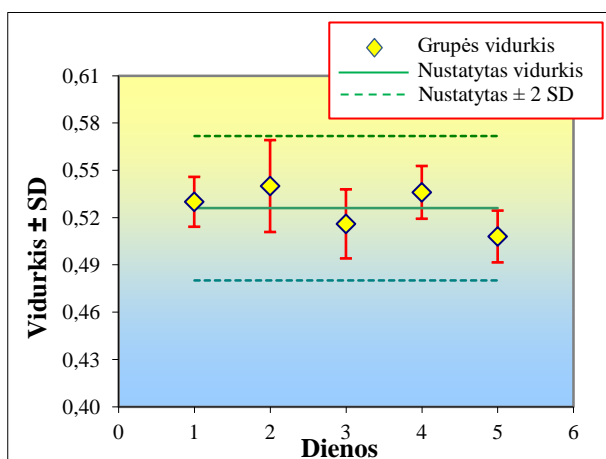


25 pav. Respondentų profesinė kvalifikacija.

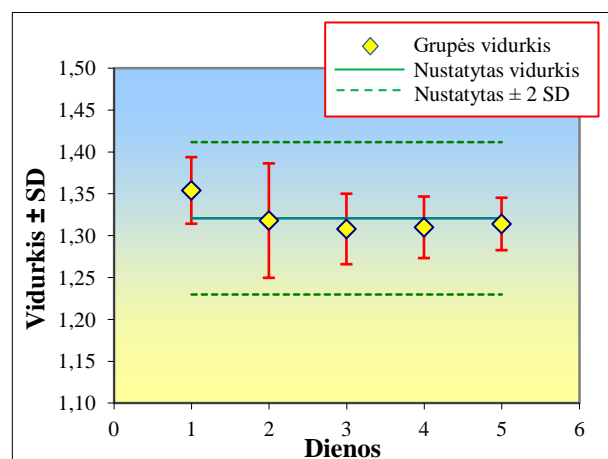
Paskutiniajame anketos klausime buvo paprašyta gydytojų nurodyti savo profesinę kvalifikaciją. Rezultatai rodo, kad apklausoje dalyvavo mažiausiai 12-os skirtingų specialybių atstovai, tačiau tikslaus skaičiaus pasakyti nėra galimybės, nes net 5 respondentai savo konkrečios specialybės nenurodė, tarp jų buvo ir vienas gydytojas rezidentas.

4.2. Metodų patikrinimo ir įsisavinimo rezultatai

Fondaparinuksui penkias dienas atlikta po penkis tyrimus su abiejų lygių kokybės kontrolėmis. Visi gauti rezultatai atitiko gamintojų nurodytas kontrolių ribas (1 lygio kontrolės – 0,47 - 0,65 $\mu\text{g/ml}$, 2 lygio – 1,25 - 1,53 $\mu\text{g/ml}$) ir išsidėstė gana glaudžiai (26 ir 27 pav.). Naudojant A. Kallner sukurtą metodiką, buvo apskaičiuoti tyrimo pakartojamumo ir laboratorinio tikslumo standartiniai nuokrypiai bei variacijos koeficientai, jie sulyginami su gamintojo nurodytais ir apskaičiuotos p reikšmės. Rezultatai parodė, jog gamintojo nurodytos ir šio tyrimo metu apskaičiuotos SD ir CV vertės statistiškai reikšmingai nesiskiria (1 ir 2 lentelė).



26 pav. Fondaparinuxo 1 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.



27 pav. Fondaparinuxo 2 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.

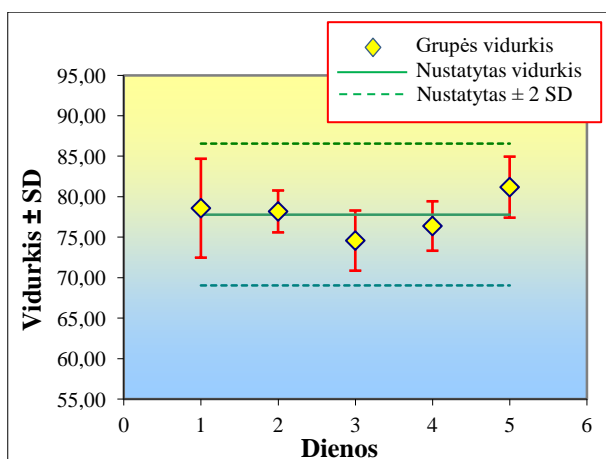
1 lentelė. Fondaparinuxo 1 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo	Išmatuota	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (µg/ml)		0,54 (N = 21)	0,53 (N = 25)	0,107
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (µg/ml)	0,02 (N = 21)	0,021 (N = 25)	0,832
	CV (%)	3,5 (N = 21)	3,92 (N = 25)	0,756
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (µg/ml)	0,02 (N = 10)	0,023 (N = 25)	0,53
	CV (%)	3,3 (N = 10)	4,4 (N = 25)	0,373

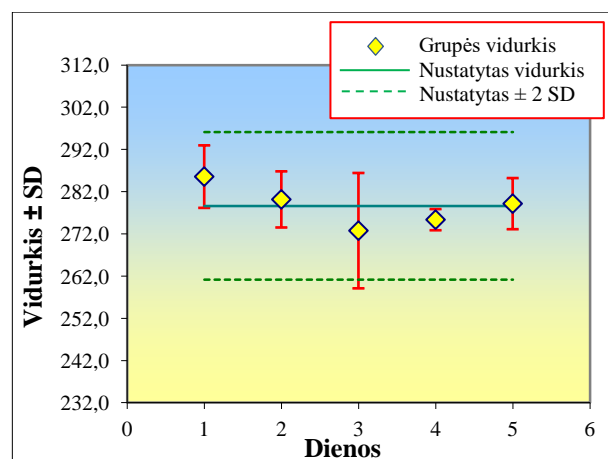
2 lentelė. Fondaparinukso 2 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo	Išmatuota	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (µg/ml)		1,36 (N = 21)	1,34 (N = 25)	0,089
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (µg/ml)	0,03 (N = 21)	0,045 (N = 25)	0,07
	CV (%)	2,6 (N = 21)	3,44 (N = 25)	0,386
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (µg/ml)	0,03 (N = 10)	0,045 (N = 25)	0,206
	CV (%)	2,3 (N = 10)	3,44 (N = 25)	0,21

Tyrimų, atliktų su rivaroksabano kokybės kontrolėmis, rezultatai taip pat atitiko gamintojo nurodytas kontrolių ribas (1 lygio kontrolės – 62 - 100 ng/ml, 2 lygio – 251 - 345 ng/ml) ir buvo pakankamai glaudūs (28 ir 29 pav.). Apskaičiavus tyrimo pakartojamumo ir laboratorinio tikslumo standartinius nuokrypius bei variacijos koeficientus ir sulyginus juos su gamintojų nurodytomis vertėmis, nustatyta, kad tarp antro lygio kokybės kontrolių rezultatų (tyrimo metu gautų ir gamintojo nurodytų) statistiškai reikšmingų skirtumų nėra, tačiau pirmo lygio kontrolių rezultatai statistiškai reikšmingai skiriasi visais atvejais, išskyrus pakartojamumo variacijos koeficientą.



28 pav. Rivaroksabano 1 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.



29 pav. Rivaroksabano 2 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.

3 lentelė. Rivaroksabano 1 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

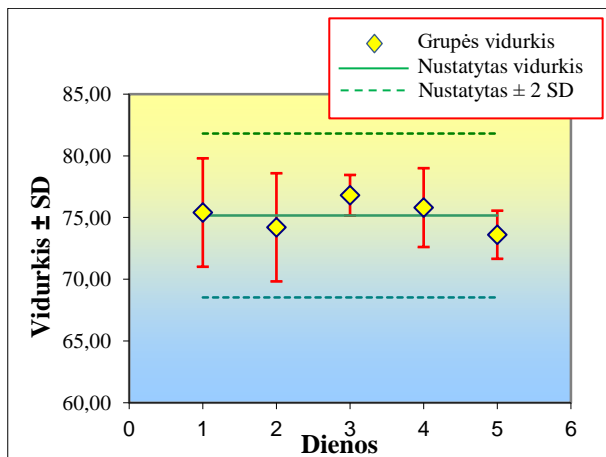
		Nurodyta gamintojo (N = 22)	Išmatuota (N = 25)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		86	85	0,306
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	2,2	4,032	0,007
	CV (%)	2,9	4,376	0,061
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	2,5	5,18	0,001
	CV (%)	3,3	5,6	0,017

4 lentelė. Rivaroksabano 2 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

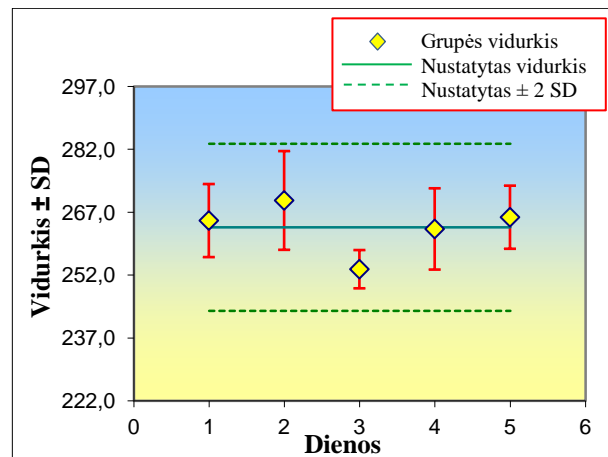
		Nurodyta gamintojo (N = 22)	Išmatuota (N = 25)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		308	304	0,061
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	5,8	8,11	0,125
	CV (%)	8,5	8,75	0,9
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	1,9	2,91	0,053
	CV (%)	2,8	3,14	0,6

Apiksabano gamintojo nurodytos kokybės kontrolių ribos yra: 1 lygio – 56 - 94 ng/ml, 2 lygio – 231 - 321 ng/ml. Penkias dienas atlikus po penkis tyrimus su kiekvienu lygio apiksabano kokybės kontrolėmis nustatyta, kad visi gauti tyrimų rezultatai atitinka šias gamintojų nurodytas ribas ir išsidėsto pakankamai glaudžiai (30 ir 31 pav.). Apskaičiuotos šio tyrimo pakartojamumo ir laboratorinio tikslumo SD ir CV vertės buvo sulygintos su gamintojų

nurodytomis vertėmis ir apskaičiuota p reikšmė (5 ir 6 lentelės). Gauti rezultatai parodo, kad statistiškai reikšmingo skirtumo tarp šio tyrimo ir gamintojo nurodytų SD ir CV verčių nėra, išskyrus 2 lygio kokybės kontrolės laboratorinio tikslumo standartinę nuokrypį, kuris yra statistiškai reikšmingai didesnis nei gamintojų nurodytas.



30 pav. Apiksabano 1 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.



31 pav. Apiksabano 2 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.

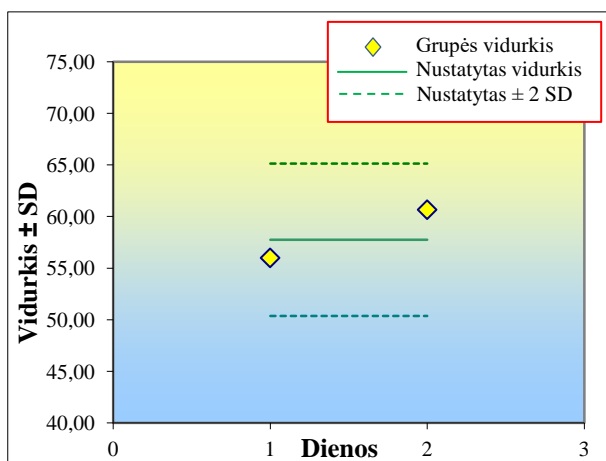
5 lentelė. Apiksabano 1 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo (N = 20)	Išmatuota (N = 25)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		78	77	0,3
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	3	3,32	0,658
	CV (%)	3	3,32	0,658
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	3,9	4,42	0,583
	CV (%)	4,3	4,4	0,93

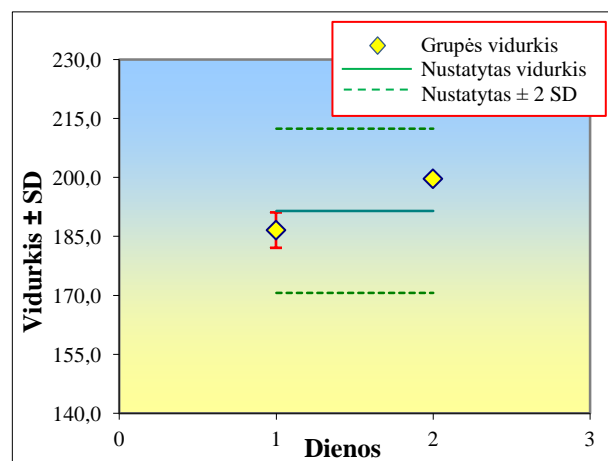
6 lentelė. Apiksabano 2 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo (N = 20)	Išmatuota (N = 25)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		280	276	0,09
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	6	8,79	0,094
	CV (%)	7	9,96	0,121
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	2,0	3,34	0,026
	CV (%)	2,6	3,78	0,1

Dabigatrano kokybės kontrolių tyrimai buvo kartojami dvi dienas ir iš viso atlikta po 8 tyrimus su kiekvieno lygio kontrole, jų rezultatai vėliau buvo palyginti su gamintojų nurodytomis kontrolių ribomis (1 lygio – 42 - 71 ng/ml, 2 lygio – 170 - 236 ng/ml) ir nustatyta, kad visi rezultatai šias ribas atitiko ir išsidėstė labai glaudžiai (32 ir 33 pav). Šio tyrimo pakartojamumo ir laboratorinio tikslumo SD ir CV vertės statistiškai reikšmingai nuo gamintojo nurodytų verčių nesiskiria (7 ir 8 lentelės).



32 pav. Dabigatrano 1 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.



33 pav. Dabigatrano 2 lygio kokybės kontrolės 5 dienų matavimų neglaudumo grafinis išsidėstymas.

7 lentelė. Dabigatrano 1 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo (N = 20)	Išmatuota (N = 8)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		59	58	0,105
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	2,1	1,94	0,883
	CV (%)	3,1	3,69	0,512
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	3,6	3,36	0,907
	CV (%)	5,2	6,4	0,444

8 lentelė. Dabigatrano 2 lygio kokybės kontrolės rezultatų charakteristikų palyginimas su gamintojo deklaruojamomis charakteristikomis.

		Nurodyta gamintojo (N = 20)	Išmatuota (N = 8)	Apskaičiuota p reikšmė
Vaisto koncentracijos vidurkis (angl. <i>mean</i>) (ng/ml)		203	200	0,053
Pakartojamumas (angl. <i>repeatability</i>)	SD (ng/ml)	4,0	5,72	0,204
	CV (%)	6,2	10,46	0,067
Laboratorinis tikslumas (angl. <i>intralaboratory precision</i>)	SD (ng/ml)	2,0	2,99	0,155
	CV (%)	3,1	5,41	0,051

5. REZULTATŲ APITARIMAS

5.1. Apklausa

Remiantis Virdžinijos visuomenės sveikatos universiteto Sveikatos sistemos (VCU Health™) 2017 metų rekomendacijomis gydymo nefrakcionuotu heparinu stebėseną turi būti vykdoma atliekant ADTL ar heparinui kalibruotą anti-Xa tyrimą [66]. Tyrimo metu atliktos apklausos rezultatai parodė, jog visi respondentai vieningai gydymo NH stebėsenai rinktųsi ADTL (11 pav.) Tai dažniausias šiam tikslui naudojamas tyrimas visame pasaulyje, tačiau daugelis veiksnių gali įtakoti jo rezultatus ir apsunkinti vertinimą. Aktyvinto dalinio tromboplastino laikas pailgėja, esant kraujo krešėjimo faktorių stokai ar dėl pažeistos hemostatinės sistemos bei sutrumpėja jei yra padidėjęs VIII faktoriaus ar fibrinogeno kiekis. Be to, ADTL gali būti pailgėjęs ir kai nėra kraujavimo pavojaus, pvz., pacientui, turinčiam XII faktoriaus trūkumą, ar esant lupus antikoagulantams [67]. Alternatyva – taikyti gydymo NH stebėsenos vykdymui anti-Xa metodą, kuris tiesiogiai išmatuoja heparino funkcinį aktyvumą slopinant krešėjimo faktorius. Šis tyrimas pasižymi mažesniu kintamumu ir minimalia biologinių veiksnių (pvz., kraujo krešėjimo faktorių stoka, lupus antikoagulantai ar padidėjęs VIII faktoriaus kiekis) įtaka tyrimo rezultatams [68].

Norint išsiaiškinti gydytojų žinias apie aptariamą anti-Xa metodą ir jo veikimo principą, apklausos dalyviams buvo užduotas klausimas – „Kaip suprantate „anti-Xa“ tyrimo pavadinimą?“. Iš trijų pateiktų galimų atsakymų teisingą variantą, kad tai yra funkcinis poveikio į Xa faktorių tyrimas, pasirinko 52 proc. respondentų, tačiau likę 48 proc. klaidingai mano, kad tai – aktyvaus X krešėjimo faktoriaus ar antikūnų prieš jį tyrimas (12 pav.).

Kaip jau buvo minėta anksčiau, ADTL tyrimas nėra pakankamai patikimas gydymo heparinu stebėsenai, tačiau paklausus respondentų ar, jų nuomone, stebėsenos vykdymui jų pasirinktas tyrimas, t.y. ADTL, yra tinkamiausias, net 9 gydytojai (iš viso apklausta – 31) atsakė teigiamai ir yra užtikrinti savo pasirinkimo teisingumu. Tai kelia klausimą, ar šie gydytojai turi pakankamai žinių apie aptariamą tyrimo metodą bei jo ypatybes. Atsakymai taip pat parodė, kad 9 respondantai žino, jog ADTL nėra tinkamiausias tyrimas stebėsenos vykdymui, 11 – abejoja arba nežino, o tai leidžia manyti, jog prireikus vykdyti gydymo NH stebėseną šie gydytojai pasikonsultuotų su laboratorijos darbuotojais, o 2 respondantai pažymėjo, jog tuo nesidomi ir prireikus pasiklaus laboratorijos specialistų (13 pav.).

Siekiant išspręsti kylančias problemas dėl ADTL tyrimo rezultatų variacijos, laboratorijoms rekomenduojama apskaičiuoti savo ADTL terapinį intervalą, pagal koreliaciją su anti-Xa metodu išmatuotu heparino gebėjimu neutralizuoti fiksuotą Xa faktoriaus kiekį, kuris yra

pridedamas į tiriamąją plazmą [67]. Respondentams buvo užduotas klausimas – „Ar pageidautumėte, kad laboratorija apskaičiuotų įstaigai tinkantį laboratorijos ADTL metodo terapinį intervalą pagal ADTL ir anti-Xa tyrimų koreliacijos analizę?“, į kurią dauguma, t.y. 71 proc. (22 respondantai), atsakė teigiamai ir mano, kad tai būtų naudinga, o 29 proc. (9 respondantai) šiuo klausimu nuomonės neturi (14 pav.). Tarp šių 9 respondentų 5 buvo tie patys gydytojai, kurie mano, jog ADTL tyrimas yra tinkamiausias gydymo NH stebėsenos vykdymui, todėl koreliacijos analizė nėra būtina, nes visiškai pasitiki įprastu ADTL terapiniu intervalu, o likę 4 respondantai, neturintys nuomonės apie tyrimų koreliacijos analizės reikalingumą, nebuvo užtikrinti ir ADTL tyrimo tinkamumu, todėl galima spręsti, kad gydytojams trūksta informacijos.

ADTL metodo populiarumą, vykdant gydymo nefrakcionuotu heparinu stebėseną, lemia jo geras prieinamumas, lengvas automatizavimas ir kaina [68]. Anti-Xa tyrimas yra brangesnis už ADTL, tačiau kaina labai priklauso nuo atliekamų tyrimų skaičiaus. 9 lentelėje pateiktos vidutinė anti-Xa tyrimo kainos, apskaičiuotos įvertinus tik reagentų ir kokybės kontrolių savikainas, t.y. neatsižvelgiant į naudotinių specifinių kalibrantų, kitų priemonių bei darbo jėgos sąnaudas (eurais). Iš pateiktų duomenų matoma, kad vienu metu tiriant dešimties pacientų mėginius anti-Xa metodo kaina vidutiniškai siekia 18 eurų, jei vienu metu tiriami tik dviejų pacientų mėginiai, kaina išauga 2 kartus, o atliekant tyrimus pavieniams pacientams – net 3 kartus, todėl siekiant sumažinti metodo kainą ir taip padidinti jo populiarumą, tyrimai turėtų būti atliekami koncentruotai, t.y. ne pavieniams pacientams, o pacientų grupėms, pvz., tam tikromis savaitės dienomis, išskiriant tyrimus pagal kalibracijas konkreitiems antikoaguliantams.

9 lentelė. Vidutinės anti-Xa tyrimo kainos.

	Kaina (eurais)
Tiriant pavienius pacientus	66
Vienu metu tiriant 2 pacientus	45
Vienu metu tiriant 10 pacientų	18

Remiantis 2018 metų Europos širdies ritmo asociacijos rekomendacijomis gydymo mažos molekulinės masės hepariniais ar tiesioginio veikimo antikoaguliantais rutininė stebėseną nėra reikalinga, tačiau būtina specialių klinikinių situacijų atvejais [3]. Tyrime dalyvavusių gydytojų buvo paklausta kokių situacijų atvejais jie skiria / skirtų gydymo MMMH ar TVA stebėseną. Tarp galimų atsakymo variantų buvo įterptos dvi situacijos, t.y. kepenų suriebėjimas ir širdies nepakankamumas, kurios neturi įtakos vaistų antikoaguliaciniam veikimui, todėl gydymo stebėseną tokiu atveju nėra reikalinga, tačiau šias situacijas, kaip būtinos stebėsenos

indikacijas, nurodė 18 respondentų, gydant mažos molekulinės masės hepariniais, ir 13 respondentų – tiesioginio veikimo antikoaguliantais (17 ir 21 pav.).

Tyrimo dalyviams uždavus klausimą koku laboratorijos siūlomu metodu jie atliktų fondaparinukso stebėsenos tyrimą, jei to prireiktų, dauguma, t.y. 66 proc. respondentų, atsakė, jog rinktųsi anti-Xa tyrimą, kalibruotą fondaparinuksui, kuris yra vienintelis metodas, taikytinas fondaparinukso koncentracijos nustatymui. 19 proc. apklausos dalyvių pasirinko ADTL, o 6 proc. – protrombino laiko nustatymo tyrimus, tačiau yra žinoma, kad vartojamos terapinės fondaparinukso dozės, įprastinių krešėjimo tyrimų (PL ir ADTL) rezultatų neįtakoja arba juos gali įtakoti nenuspėjamai [69]. Likusi respondentų dalis, t.y. 9 proc., pasirinko atsakymo variantą „Kita“ ir nurodė, kad šio vaisto nenaudoja, savo praktikoje nevykdo gydymo fondaparinuksu stebėsenos ir kad išvis nežino šio vaisto (19 pav.).

Respondentams taip pat buvo užduoti klausimai kokiais laboratorijos siūlomais metodais jie atliktų gydymo rivaroksabanu ar apiksabanu stebėseną. Iš duoto sąrašo (anti-Xa (kalibruotas rivaroksabanui / apiksabanui, anti-Xa (standartinės kalibracijos), ADTL, protrombino laikas (INR) bei kita) 78 proc. respondentų rivaroksabano stebėsenai ir 68 proc. respondentų apiksabano stebėsenai rinktųsi anti-Xa tyrimą, kalibruotą atitinkamam antikoaguliantui. Net 20 proc. apklausoje dalyvavusių gydytojų gydymo apiksabanu stebėsenai ir 8 proc. gydymo rivaroksabano stebėsenai rinktųsi standartinės kalibracijos anti-Xa tyrimo metodą, kuris yra skirtas heparinų koncentracijos nustatymui ir nei gydymo rivaroksabanu, nei apiksabanu stebėsenai nėra tinkamas (22 ir 23 pav.).

Uždavus tokį pat klausimą apie gydymo dabigatranu stebėsenai tinkamiausią tyrimą, net 68 proc. apklausos dalyvių pasirinko anti-Xa tyrimą, kalibruotą dabigatranui. Kaip anksčiau buvo minėta – anti-Xa yra funkcinis poveikio į aktyvų X krešėjimo faktorių tyrimas, o dabigatrano poveikis yra nukreiptas į aktyvų II krešėjimo faktorių (trombiną), todėl tokios kalibracijos anti-Xa metodas neegzistuoja ir buvo įtrauktas į atsakymų variantus, siekiant patikrinti respondentų žinias. Ekarino chromogeninis tyrimas (ECA) yra vienas iš dažniausiai naudojamų ir patikimiausių tyrimų, atliekant dabigatrano koncentracijos nustatymą, tačiau jį pasirinko tik 9 proc. respondentų, ir keletas respondentų prie atsakymo varianto „Kita“ nurodė standartinės kalibracijos anti-Xa tyrimą, kuris yra tinkamas tik gydymo heparinu stebėsenai (24 pav.).

Į klausimus kokia yra respondentų nuomonė apie gydymo MMMH, fondaparinuksu bei TVA stebėsenos reikalingumą, gana dažnai pateiktas atsakymas buvo „Reikalinga, bet nevykdau“ (16, 18 ir 20 pav.). Tyrimo eigoje kilo klausimas dėl kokių priežasčių gydytojai nevykdo gydymo minėtais antikoaguliantais stebėsenos, nors patys mano, jog ji yra reikalinga. Siekiant tai išsiaiškinti, šiuo klausimu turėtų būti atliktas platesnis tyrimas.

Apklausoje iš viso dalyvavo 34 respondentai, mažiausiai 13-os skirtingų specialybių atstovai (tikslaus specialybių skaičiaus pasakyti nėra galimybės, nes 4 gydytojai ir 1 gydytojas rezidentas savo konkrečios specialybės nenurodė), tačiau 3 respondentai (medicinos biologai), siekiant neiškreipti apklausos rezultatų, iš statistinės analizės buvo pašalinti, kadangi gydymo antikoaguliantais skyrimas ir gydymo stebėsenos vykdymas nėra jų kompetencija.

Apžvelgus į atliktos anketinės apklausos rezultatus ir juos išanalizavus, pastebėta, kad gydytojų supratimas apie antikoaguliantų stebėsenai taikytinus tyrimų metodus ir jų taikymo tikslus yra ribotas, todėl peršasi išvada, kad reikalingas švietimas, pasitelkiant laboratorinės medicinos specialistus.

Svarbu paminėti, kad dėl mažo respondentų aktyvumo vykdant tyrimą šios apklausos rezultatai negali būti laikomi reprezentatyviais, nes tyrimo imtis buvo sudaryta tik iš 31 Lietuvos gydymo įstaigose dirbančio gydytojo. Remiantis 2015 metų Lietuvos statistikos departamento duomenimis šalyje dirba apie 13,5 tūkst. gydytojų, todėl norint gauti reprezentatyvius rezultatus tyrimo imtį turėtų sudaryti 388 respondentai [70].

5.2. Fondaparinuksas

Vadovaujantis Anders Kallner metodo statistinio įvertinimo kriterijais fondaparinukso 2 lygio kokybės kontrolės tyrimo procesas nėra priimtinas ir jį rekomenduojama peržiūrėti. Tyrimo rezultatams buvo atliktas Grubb's testas, tačiau išskirčių tarp jų nebuvo aptikta, taip pat palyginus gautas bei gamintojo nurodytas SD ir CV vertes – statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta. Maiko Yuri ir kt. (2015) tyrimo, atlikto su fondaparinukso, nustatytas pakartojamumo variacijos koeficientas buvo lygus 2,74 % (fondaparinukso koncentracijos vidurkis – 0,27 µg/ml) [71]. Palyginus jį su mūsų gauta CV verte (3,92 %, fondaparinukso koncentracijos vidurkis – 0,53 µg/ml) buvo apskaičiuota p reikšmė ($p = 0,265$) – nustatyta, jog, nepaisant vaisto koncentracijos skirtumų, CV vertės statistiškai reikšmingai nesiskiria ir galima spėti, jog esant vienodoms vaisto koncentracijoms variacijos koeficientų skirtumas būtų dar mažesnis, o gal net lygus 0.

Spresti apie metodo tinkamumą tik pagal Anders Kallner sukurtą metodiką nėra racionalu, todėl atsižvelgiant į statistinius duomenis bei juos palyginus su kitų autorių atlikto tyrimo rezultatais, galima teigti, kad tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcionalumo charakteristikas ir gali būti diegiama ir naudojama klinikinėje praktikoje.

5.3. Rivaroksabanas

Tyrimo metu gauti rivaroksabano kokybės kontrolių rezultatai buvo patikrinti naudojant Anders Kallner metodiką. Pritaikius statistinio įvertinimo kriterijus gauta išvada, kad visi rezultatai turi būti peržiūrėti, nes nei 1 lygio, nei 2 lygio kokybės kontrolių rezultatai neatitinka gamintojo nurodytų reikalavimų. Rezultatams buvo pritaikytas Grubb's testas, ieškant išskirčių, tačiau jų nebuvo aptikta. Gautas standartinio nuokrypio ir variacijos koeficiento vertės sulyginus su gamintojo nurodytomis vertėmis statistiškai reikšmingi skirtumai nustatyti tik tarp 1 lygio kokybės kontrolės pakartojamumo ir laboratorinio tikslumo SD verčių bei laboratorinio tikslumo CV verčių, o tarp 2 lygio kokybės kontrolių rezultatų statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta. Derogis PBM ir kt. (2017) atlikto tyrimo su rivaroksabanu rezultatų tikslumo variacijos koeficientai buvo nustatyti – 5,6 % (vaisto koncentracija – 125 ng/ml) ir 8,8 % (vaisto koncentracija – 400 ng/ml) [72]. Jie atitinkamai buvo palyginti su mūsų tyrimo metu gautais variacijos koeficientais (5,6 %, kai vaisto koncentracija – 85 ng/ml, ir 3,14 %, kai vaisto koncentracija – 304 ng/ml). Rezultatai parodė, kad Derogis PBM ir kt. nustatytas 5,6 % CV (kai vaisto koncentracijos vidurkis – 125 ng/ml) bei mūsų tyrimo metu gautas 5,6 % CV (kai vaisto koncentracijos vidurkis – 85 ng/ml), nepaisant vaisto koncentracijos skirtumo, statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p = 0.966$). Analizuojant rezultatus taip pat nustatyta, kad Derogis PBM ir kt. tyrimo metu gautas variacijos koeficientas 8,8 % (kai vaisto koncentracijos vidurkis – 400 ng/ml) yra statistiškai reikšmingai didesnis, lyginant su mūsų tyrimo metu nustatytu variacijos koeficientu 3,14 % (kai vaisto koncentracijos vidurkis – 304 ng/ml) ($p < 0,0001$), kuris statistiškai reikšmingai nesiskiria nuo gamintojo nurodyto variacijos koeficiento 2,8 % (kai vaisto koncentracijos vidurkis – 308 ng/ml). Viena iš CV verčių skirtumo priežasčių galėtų būti gana didelis vaisto koncentracijos vidurkių skirtumas tarp lyginamų mėginių. Schmitz EMH ir kt. (2014) tyrimo su rivaroksabano dviejų lygių kokybės kontrolėmis (1 lygio kontrolės vaisto koncentracijos vidurkis – 82 ng/ml ir 2 lygio kontrolės vaisto koncentracijos vidurkis – 308 ng/ml) nustatyti variacijos koeficientai (1 lygio kokybės kontrolės: pakartojamumo CV – 4,0 %, laboratorinio tikslumo CV – 3,5 %, 2 lygio kokybės kontrolės: pakartojamumo CV – 2,4 %, laboratorinio tikslumo CV – 3,3 %) buvo taip pat palyginti su mūsų tyrimo metu gautais rezultatais (1 lygio kokybės kontrolės: pakartojamumo CV – 4,376 %, laboratorinio tikslumo CV – 5,6 %, 2 lygio kokybės kontrolės: pakartojamumo CV – 8,75 %, laboratorinio tikslumo CV – 3,14 %) [73]. Palyginus CV vertes ir apskaičiavus p reikšmes, nustatyta, kad 1 lygio kokybės kontrolių pakartojamumo CV (4,0 % ir 4,376 %, $p = 0,818$), laboratorinio tikslumo CV (3,5 % ir 5,6 %, $p = 0,145$) bei 2 lygio kokybės kontrolių laboratorinio tikslumo CV (3,3 % ir 3,14 %, $p =$

0,793) statistiškai reikšmingai nesiskiria. Palyginus 2 lygio kokybės kontrolių pakartojamumo CV, nustatyta, kad Schmitz EMH ir kt. tyrimo metu apskaičiuotas variacijos koeficientas – 2,4 %, yra statistiškai reikšmingai mažesnis, lyginant su mūsų tyrimo metu nustatytu variacijos koeficientu – 8,75 % ($p = 0,0004$), tačiau remiantis 4 lentelėje pateiktais duomenimis, mūsų tyrimo metu nustatytos CV (8,75 %) ir gamintojų nurodytos CV (8,5 %) vertės statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p = 0,9$). Tyrimo metu gautas variacijos koeficientas (8,5 %) taip pat buvo palygintas su rivaroksabano koncentracijos nustatymo pamatinio metodo (UPLC-MS/MS) variacijos koeficientu (8,3 %) – statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo nustatyta ($p = 0,684$) [74].

Remiantis mūsų atlikto tyrimo duomenimis bei palyginus juos su kitų autorių tyrimų rezultatais galima teigti, kad tyrimo procedūra atitinka gamintojo keliamus reikalavimus ir gali būti diegiama ir naudojama rutininėje praktikoje.

5.4. Apiksabanas

Apiksabano kokybės kontrolių rezultatams pritaikius Anders Kallner tyrimo statistinio įvertinimo kriterijus, buvo gauta išvada, kad 2 lygio kokybės kontrolių tyrimo procesas nėra priimamas ir rekomenduojama jį peržiūrėti. Atlikus Grubb's testą, išskirčių tarp rezultatų nebuvo nustatyta, o palyginus tyrimo metu gautas SD ir CV vertes su gamintojų nurodytomis – statistiškai reikšmingi skirtumai nustatyti tik tarp 2 lygio kokybės kontrolės laboratorinio tikslumo standartinio nuokrypio rezultatų. Schmitz EMH ir kt. (2014) tyrimo su apiksabano dviejų lygių kokybės kontrolėmis nustatyti variacijos koeficientai (1 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 87 ng/ml): pakartojamumo CV – 3,3 %, laboratorinio tikslumo CV – 18,3 %, 2 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 386 ng/ml): pakartojamumo CV – 1,1 %, laboratorinio tikslumo CV – 15,4 %) buvo palyginti su mūsų tyrimo metu gautais rezultatais (1 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 77 ng/ml): pakartojamumo CV – 3,32 %, laboratorinio tikslumo CV – 4,4 %, 2 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 276 ng/ml): pakartojamumo CV – 9,96 %, laboratorinio tikslumo CV – 3,78 %) [73]. Palyginus CV vertes ir apskaičiavus p reikšmes, gauti rezultatai parodė, kad 1 lygio kokybės kontrolės pakartojamumo variacijos koeficientai (3,3 % ir 3,32 %) tarp abiejų tyrimų statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p = 0,95$), abiejų lygių kokybės kontrolių laboratorinio tikslumo variacijos koeficientai, apskaičiuoti Schmitz EMH ir kt. tyrimo metu (1 lygio – 18,3 %, 2 lygio – 15,4 %), nustatyti statistiškai reikšmingai didesni, lyginant su mūsų tyrimo rezultatais (1 lygio – 4,4 %, 2 lygio – 3,78 %) (abiem atvejais p reikšmė $< 0,0001$). Palyginus 2 lygio kokybės kontrolės pakartojamumo CV vertes (1,1 % ir 9,96 %), nustatyta, kad

statistiškai reikšmingai didesnis yra mūsų tyrimo metu gautas variacijos koeficientas ($p < 0,0001$), tačiau jį palyginus su apiksabano koncentracijos nustatymo „aukso standartu“ laikomu UPLC-MS/MS tyrimu nustatytu tikslumo variacijos koeficientu (9,8 %) bei gamintojo nurodytu CV (7 %) – statistiškai reikšmingų skirtumų nenustatyta ($p = 0,952$, $p = 0,121$) [74].

Atsižvelgiant į tyrimo metu gautus rezultatus bei juos palyginus su kitų tyrimų rezultatais, galima daryti išvadą, kad tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcionalumo charakteristikas ir gali būti naudojama klinikinėje praktikoje.

5.5. Dabigatranas

Atliekant dabigatrano koncentracijos nustatymo metodo patikrinimą ir įsisavinimą teko susidurti su finansiniais apribojimais, dėl kurių galėjome atlikti tik po 8 tyrimus su kiekvieno lygio kokybės kontrolėmis, todėl šio tyrimo rezultatai gali neparodyti tikrojo dabigatrano metodo funkcionalumo.

Rezultatai buvo patikrinti taikant Anders Kallner sukurtą metodiką ir pritaikius metodo įvertinimo statistinius kriterijus buvo gauta išvada, kad tyrimo rezultatai atitinka gamintojo keliamus reikalavimus ir yra priima. Tyrimo metu nustatytos standartinių nuokrypių ir variacijos koeficientų vertės buvo palyginto su gamintojų nurodytomis vertėmis – statistiškai reikšmingų skirtumų nebuvo nustatyta. M. Cini ir kt. (2017) taip pat atliko tyrimą su dabigatrano dviejų lygių kokybės kontrolėmis (1 lygio kokybės kontrolės vaisto koncentracijos vidurkis – 59 ng/ml, 2 lygio kokybės kontrolės vaisto koncentracijos vidurkis – 213 ng/ml). Jų nustatyti laboratorinio tikslumo variacijos koeficientai (1 lygio – 8,3 %, 2 lygio – 4,1 %) buvo palyginti su mūsų tyrimo metu gautais rezultatais (1 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 58 ng/ml) – 6,4 %, 2 lygio kokybės kontrolės (vaisto koncentracijos vidurkis – 200 ng/ml) – 5,41 %) [75]. Gauti rezultatai parodė, kad abiejų lygių kokybės kontrolių laboratorinio tikslumo variacijos koeficientai tarp tyrimų statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p = 0,483$, $p = 0,199$).

Remiantis mūsų atlikto tyrimo duomenimis ir palyginus juos su kitų autorių tyrimo rezultatais, nepaisant minimaliai atliktų tyrimų ($N = 8$), galima teigti, kad ši tyrimo procedūra atitinka gamintojo nustatytus reikalavimus bei gali būti diegiama ir naudojama klinikinėje praktikoje.

6. IŠVADOS

1. Gydytojų supratimas apie antikoagulantų stebėsenai taikytinus tyrimų metodus ir jų taikymo tikslus yra ribotas, todėl reikalingas švietimas, pasitelkiant laboratorinės medicinos specialistus.
2. Fondaparinukso tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcionalumo charakteristikas ir gali būti diegiama ir naudojama klinikinėje praktikoje.
3. Rivaroksabano tyrimo procedūra atitinka gamintojo keliamus reikalavimus ir gali būti diegiama ir naudojama rutininėje praktikoje.
4. Apiksabano tyrimo procedūra atitinka gamintojo nurodytas funkcionalumo charakteristikas ir gali būti naudojama klinikinėje praktikoje.
5. Dabigatrano tyrimo procedūra atitinka gamintojo nustatytus reikalavimus ir gali būti diegiama ir naudojama klinikinėje praktikoje.

7. PASIŪLYMAI

Siekiant sumažinti anti-Xa metodo kainą ir taip padidinti jo populiarumą klinikinėje praktikoje, tyrimai turėtų būti atliekami koncentruotai, t.y. organizuojant pacientų srautus taip, kad tyrimus būtų galima atlikti konkrečią savaitės dieną, išskiriant juos pagal kalibracijas konkreitiems antikoaguliantams.

LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Camm AJ, Lip GY, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, *et al.* ESC Committee for Practice Guidelines (CPG). 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J.* 2012; 33(21): 2719-47.
2. U.S. Department of Health and Human Services, Office of Disease Prevention and Health Promotion. National Action Plan for Adverse Drug Event Prevention. Washington, DC: Author. 2014.
3. Steffel J, Verhamme P, Potpara TS, *et al.* The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation. *European Heart Journal.* 2018; 39: 1330–1393.
4. LST EN ISO 15189:2013. Medicinos laboratorijos. Kokybės ir kompetencijos reikalavimai (ISO 15189:2012, pataisyta 2014-08-15 versija).
5. Hirsh J, Anand SS, Halperin JL, Fuster V. Mechanism of Action and Pharmacology of Unfractionated Heparin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21: 1094-1096.
6. Lai S, Coppola B. Use of enoxaparin in end-stage renal disease. *Kidney International.* 2013; 84(3): 433-6.
7. Holbrook A, Schulman S, Witt DM, Vandvik PO, Fish J, Kovacs MJ, *et al.* Evidence-based management of anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest.* 2012; 141(2 Suppl): e152S-84S.
8. Vrotniakaitė K, Marcijonienė A, Šapoka V. Antikoagulantų vartojimo ypatumai senyvame amžiuje. *Vilniaus universitetas, Medicinos fakultetas. Gerontologija* 2013; 14(2): 110-119.
9. Lim W, Dentali F, Eikelboom JW, *et al.* Meta-analysis: Low-molecular-weight heparin and bleeding in patients with severe renal insufficiency. *Ann Intern Med.* 2006; 144(9): 673–84.
10. Alexander GG. Selective factor Xa inhibition with fondaparinux: from concept to clinical benefit, *European Heart Journal Supplements*, 2008; 10: 1-7.
11. Branellec JF, Morello C, Potier P, Trouilleux P, Bastiaansen PM, Claassen HC. Highly pure fondaparinux sodium composition, process for preparing said composition and pharmaceutical compositions containing it as active principle. U.S. Patent US20050020536, issued January 27, 2005.

12. GlaxoSmithKline. ARIXTRA (fondaparinux sodium) Prescribing Information. 2005 NDA 21-345/S-010.
13. Robert-Ebadi HRM. Anticoagulation in the Elderly. *Pharmaceuticals*. 2010; 3: 3543–69.
14. Tun NM, Oo TH. Prevention and treatment of venous thromboembolism with new oral anticoagulants: A practical update for clinicians. *Thrombosis*. 2013;183616(10): 21.
15. European Medicines Agency. Scientific discussion. 2004.
16. Sarah Fry, Pharm.D. Treatment of HIT: do DOACs have a place in therapy? PGY1 Pharmacy Practice Resident Central Texas Veterans Health Care System - Temple, Texas. 2015.
17. Kupčinskienė K, Petkevičius P, Mockutė L, Kondrackienė J, Trepėnaitis D, Macas A. TEG ir naujieji peroraliniai antikoagulantai. *Health Sciences*. 2014, 24(3): 72-77.
18. Bajorek B. A review of the safety of anticoagulants in older people using the medicines management pathway: weighing the benefits against the risks. *Thrombosis and Haemostasis*, 2011; 2(2), 45-58.
19. Kirley K, Qato DM, Kornfield R, Stafford RS, Alexander GC. National trends in oral anticoagulant use in the United States, 2007 to 2011. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes*, 2012; 5(5): 615-621.
20. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J. PubChem substance and compound databases. *Nucleic acids research*. 2015; 44(D1): D1202-13.
21. Lamberts, M., Gislason, G. H., Lip, G. Y., Lassen, J. F., Olesen, J. B., Mikkelsen, A. P., *et al.* Antiplatelet therapy for stable coronary artery disease in atrial fibrillation patients on oral anticoagulant: a nationwide cohort study. *Circulation*, CIRCULATIONAHA-113, 2014.
22. Levy JH, Faraoni D, Spring JL, Douketis JD, Samama CM. Managing new oral anticoagulants in the perioperative and intensive care unit setting. *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists*, 2013; 118(6): 1466-1474.
23. Blech S, Ebner T, Ludwig-Schwellinger E, Stangier J, Roth W. The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans. *Drug metabolism and disposition*, 2008; 36(2): 386-99.
24. Maas, A. H., von Euler, M., Bongers, M. Y., Rolden, H. J., Grutters, J. P., Ulrich, L., *et al.* Practice points in gynecardiology: Abnormal uterine bleeding in premenopausal women taking oral anticoagulant or antiplatelet therapy. *Maturitas*, 2015; 82(4), 355-359.
25. Ageno, W., Gallus, A. S., Wittkowsky, A., Crowther, M., Hylek, E. M., Palareti, G. Oral anticoagulant therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *CHEST Journal*, 2012; 141(2_suppl), e44S-e88S.

26. Schulman, S., Crowther, M. A. How I treat with anticoagulants in 2012: new and old anticoagulants, and when and how to switch. *Blood*, 2012; 119(13), 3016-3023.
27. Lee, C. J., Ansell, J. E. Direct thrombin inhibitors. *British journal of clinical pharmacology*, 2011; 72(4), 581-592.
28. Bajorek, B. A review of the safety of anticoagulants in older people using the medicines management pathway: weighing the benefits against the risks. *Therapeutic advances in drug safety*, 2011; 2(2), 45-58.
29. Van Ryn, J., Stangier, J., Haertter, S., Liesenfeld, K. H., Wienen, W., Feuring, M., Clemens, A. Dabigatran etexilate-a novel, reversible, oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thrombosis and Haemostasis*, 2010; 103(6), 1116.
30. Pollack Jr, C. V., Reilly, P. A., Bernstein, R., Dubiel, R., Eikelboom, J., Glund, S. *et al.* Design and rationale for RE-VERSE AD: a phase 3 study of idarucizumab, a specific reversal agent for dabigatran. *Thrombosis and haemostasis*, 2015; 114(01), 198-205.
31. Mueck, W., Schwerts, S., Stampfuss, J. Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thrombosis journal*, 2013; 11(1): 10.
32. European Medicines Agency. Science Medicines Health. Assessment report for Eliquis. Apixaban. Procedure No. EMEA/H/C/002148. 2011.
33. Mega, J. L., Braunwald, E., Mohanavelu, S., Burton, P., Poulter, R., Misselwitz, F., *et al.* Rivaroxaban versus placebo in patients with acute coronary syndromes (ATLAS ACS-TIMI 46): a randomised, double-blind, phase II trial. *The Lancet*, 2009; 374(9683), 29-38.
34. Patel, M. R., Hellkamp, A. S., Lokhnygina, Y., Piccini, J. P., Zhang, Z., Mohanty, S., *et al.* Outcomes of discontinuing rivaroxaban compared with warfarin in patients with nonvalvular atrial fibrillation: analysis from the ROCKET AF trial (Rivaroxaban Once-Daily, Oral, Direct Factor Xa Inhibition Compared With Vitamin K Antagonism for Prevention of Stroke and Embolism Trial in Atrial Fibrillation). *Journal of the American College of Cardiology*, 2013; 61(6), 651-658.
35. Vandana, M., Michael, K., Genmin, L., Conley, P. B., Stanley, H., Castillo, J., *et al.* A phase 2 randomized, double-blind, placebo-controlled trial demonstrating reversal of rivaroxaban-induced anticoagulation in healthy subjects by andexanet alfa (PRT064445), an antidote for FXa inhibitors. 2013; 122: 3636.
36. Connolly S, Milling T, Eikelboom J *et al.* Andexanet alfa in Factor Xa Inhibitor-Associated Acute Major Bleeding. *N Engl J Med* 2016. 375: 1131-41.

37. FDA Clears First Reversal Agent for Rivaroxaban, Apixaban Anticoagulants. *Antiplatelet And Anticoagulation Therapies*. May 07, 2018.
38. Deborah M. Siegal, John T. Curnutte, Stuart J. Connolly, et al. Andexanet Alfa for the Reversal of Factor Xa Inhibitor Activity. *N Engl J Med* 2015; 373:2413-2424. DOI: 10.1056/NEJMoa1510991.
39. Connolly, S. J., Crowther, M., Eikelboom, J. W., Gibson, C. M., Curnutte, J. T., Lawrence, J. H., *et al.* Interim results from ongoing ANNEXA-4 study of Factor Xa inhibitor reversal agent announced. *Cardiac Rythm News*. March 14th, 2018.
40. Connolly, S. J., Crowther, M., Eikelboom, J. W., Gibson, C. M., Curnutte, J. T., Lawrence, J. H., *et al.* Full Study Report of Andexanet Alfa for Bleeding Associated with Factor Xa Inhibitors. *New England Journal of Medicine*. February 7, 2019.
41. European Medicines Agency. Science Medicines Health. First antidote for reversal of anticoagulation with factor Xa inhibitors apixaban and rivaroxaban. Press release March 1st, 2019.
42. John D. Olson, Charles F. Arkin John T. Brandt, Mark T. Cunningham, Alan Giles, John A. Koepke, David L. Witte. College of American Pathologists Conference XXXI on Laboratory Monitoring of Anticoagulant Therapy. *Arch Pathol Lab Med*, 1998; 122: 782–79.
43. Brill-Edwards P, Ginsberg JS, Johnston M, Hirsh J. Establishing a therapeutic range for heparin therapy. *Ann Intern Med*. 1993; 119: 104–109.
44. Eikelboom JW, Hirsh J, *et al.* Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. *Thromb Haemost* 2006; 96: 547–52.
45. Frost, C., Wang, J., Nepal, S., Schuster, A., Barrett, Y. C., Mosqueda-Garcia, R., *et al.* Apixaban, an oral, direct factor Xa inhibitor: single dose safety, pharmacokinetics, pharmacodynamics and food effect in healthy subjects. *British journal of clinical pharmacology*, 2013; 75(2), 476-487.
46. Raghavan, N., Frost, C. E., Yu, Z., He, K., Zhang, H., Humphreys, W. G., *et al.* Apixaban metabolism and pharmacokinetics following oral administration to humans. *Drug metabolism and disposition*, 2009; 37(1): 74-81.
47. Diener, H. C., Eikelboom, J., Connolly, S. J., Joyner, C. D., Hart, R. G., Lip, G. Y., *et al.* Apixaban versus aspirin in patients with atrial fibrillation and previous stroke or transient ischaemic attack: a predefined subgroup analysis from AVERROES, a randomised trial. *The Lancet Neurology*, 2012; 11(3), 225-231.
48. Franchini M. Heparin-induced thrombocytopenia: an update. *Thrombosis J* 2005; 3: 14-20.

49. Eisen, A., Giugliano, R. P., Ruff, C. T., Nordio, F., Gogia, H. S., Awasty, V. R., *et al.* Edoxaban vs warfarin in patients with nonvalvular atrial fibrillation in the US Food and Drug Administration approval population: An analysis from the Effective Anticoagulation with Factor Xa Next Generation in Atrial Fibrillation–Thrombolysis in Myocardial Infarction 48 (ENGAGE AF–TIMI 48) trial. *American heart journal*, 2016; 172: 144-151.
50. Giugliano, R. P., Ruff, C. T., Braunwald, E., Murphy, S. A., Wiviott, S. D., Halperin, J. L., *et al.* Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *New England Journal of Medicine*, 2013; 369(22): 2093-2104.
51. Ogata, K., Mendell-Harary, J., Tachibana, M., Masumoto, H., Oguma, T., Kojima, M., and Kunitada, S. Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor edoxaban in healthy volunteers. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 2010; 50(7): 743-753.
52. Salazar, D. E., Mendell, J., Kastrissios, H., Green, M., Carrothers, T. J., Song, S., *et al.* Modelling and simulation of edoxaban exposure and response relationships in patients with atrial fibrillation. *Thrombosis and haemostasis*, 2012; 107(5): 925-934.
53. Hughes M and Lip GYH. Risk factors for anticoagulation-related bleeding complications in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *QJM: An International Journal of Medicine*, 2007; 100(10), 599-607.
54. Carrasco-Garrido, P., Hernández-Barrera, V., Esteban-Hernández, J., Jiménez-Trujillo, I., Álvaro-Meca, A., de Andrés, A. L., *et al.* Adverse drug reactions to anticoagulants in Spain: analysis of the Spanish National Hospital Discharge Data (2010–2013). *BMJ open*, 7(1), e013224, 2017.
55. Howard, M., Lipshutz, A., Roess, B., Hawes, E., Deyo, Z., Burkhart, J. I., *et al.* Identification of risk factors for inappropriate and suboptimal initiation of direct oral anticoagulants. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 2017; 43(2), 149-156.
56. Lassen, M. R., Gallus, A., Raskob, G. E., Pineo, G., Chen, D., and Ramirez, L. M. Apixaban versus enoxaparin for thromboprophylaxis after hip replacement. *New England Journal of Medicine*, 2010; 363(26), 2487-2498.
57. Mahaffey KW. Stroke prevention using the oral direct factor Xa inhibitor rivaroxaban compared with warfarin in patients with nonvalvular atrial fibrillation (ROCKET AF), 2010.
58. Connolly, S. J., Ezekowitz, M. D., Yusuf, S., Eikelboom, J., Oldgren, J., Parekh, A., *et al.* Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *New England Journal of Medicine*, 2009; 361(12), 1139-1151.

59. Uchino K, Hernandez AV Dabigatran association with higher risk of acute coronary events: meta-analysis of noninferiority randomized controlled trials. *Archives of internal medicine*, 2012; 172(5), 397-402.
60. Eriksson, B. I., Dahl, O. E., Huo, M. H., Kurth, A. A., Hantel, S., Hermansson, K, *et al.* Oral dabigatran versus enoxaparin for thromboprophylaxis after primary total hip arthroplasty (RE-NOVATE II). *Thromb Haemost*, 2011; 105(4), 721-729.
61. Eerenberg ES, Kamphuisen PW, Sijpkens MK, Meijers JC, Buller HR, Levi M. Reversal of rivaroxaban and dabigatran by prothrombin complex concentrate: a randomized, placebo-controlled, crossover study in healthy subjects. *Circulation*. 2011;124(14):1573-9
62. Eikelboom JW, Quinlan DJ, van Ryn J *et al.* Idarucizumab: The Antidote for Reversal of Dabigatran. *Circulation* 2015; 132: 2412-22.
63. Levi M. Reversal of Direct Oral Anticoagulants. *Oral antikoagulants. Practical manual*. 2017; 77-84.
64. Janavičiūtė G, Jatužis D. Laboratorinis tiesioginių geriamųjų antikoagulantų poveikio įvertinimas. *Laboratorinė medicina*. 2015; Nr. 2(66): 82-90.
65. Favaloro EJ, Lippi G. The new oral anticoagulants and the future of haemostasis laboratory testing. *iochemia Medica* 2012;22(3):329-41.
66. Riley RS, Pai S. VCUHS Anticoagulant Monitoring Recommendations. VCUHS Clinical Laboratories. March 8, 2017.
67. Price EA, Jin J, Nguyen H(M), Krishnan G *et al.* Discordant aPTT and Anti-Xa Values and Outcomes in Hospitalized Patients Treated With Intravenous Unfractionated Heparin. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2013;47(2):151-158.
68. Guervil DJ, Rosenberg AF, Winterstein AG *et al.* Activated Partial Thromboplastin Time versus Antifactor Xa Heparin Assay in Monitoring Unfractionated Heparin by Continuous Intravenous Infusion. *The Annals of Pharmacotherapy*. 2011;45(8):861-868.
69. A summary of the European public assessment report (EPAR) for Arixtra. 2010.
70. Lietuvos Statistikos Departamentas, žiūrėta 2019-05-02, prieiga per internetą: <https://osp.stat.gov.lt/informaciniai-pranesimai?eventId=64821>.
71. Yuri M, Tabe Y, Tsuchiya K, Sadatsuki R *et al.* Evaluation of Factor Xa-Specific Chromogenic Substrate Assays and the Determination of Pharmacokinetics of Fondaparinux. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2015; 1-6.
72. Derogis PBM, Sanches LR, de Aranda VF, Colombini MP, Manguiera CLP, Katz M, *et al.* Determination of rivaroxaban in patient's plasma samples by anti-Xa chromogenic test associated to High Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS). 2017. *PLoS ONE* 12(2): e0171272.

73. Schmitz EMH, Boonen K, van den Heuvel DJA, van Dongen JLJ, Schellings MWM, et al. Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban by ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) and coagulation assays for therapy monitoring of novel direct oral anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2014;12:1636–46.
74. E.M.H. Schmitz, D. van den Heuvel, K. Boonen, J.L.J. van Dongen, L. Brunsveld And D. van de Kerkhof . Determination of dabigatran, rivaroxaban and apixaban using UPLC-MS/MS and comparison with coagulation assays for therapy monitoring. *Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk* 2013; 38: 142-144.
75. Cini M, Legnani C, Cosmi B, Testa S, Dellanoce C, Paoletti O *et al.* Comparison of five specific assays for determination of dabigatran plasma concentrations in patients enrolled in the START-Laboratory Register. *Int J Lab Hem.* 2018; 40:229–236.