

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI
KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOLOGICKÝCH A LÉKAŘSKÝCH VĚD



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vývoj antikoagulační léčby a novinky v jejím monitorování

Alena Klazarová

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Filip Vrbacký, Ph.D.

HRADEC KRÁLOVÉ, 2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala panu RNDr. Filipovi Vrbackému, Ph.D., za pomoc a vedení při zpracování mé bakalářské práce. Vážím si jeho času a ochoty, kterou věnoval opravám a kontrolám mé práce. Čeho si cením nejvíce, je trpělivost a pochopení ze strany mé rodiny, která mě podporovala po celou dobu studia.

„Prohlašuji, že tato bakalářská práce je mým původním autorským dílem a veškeré myšlenky, data a jejich zdroje, z nichž jsem čerpala, řádně cituji. Rovněž tato práce nebyla použita k získání jiného nebo stejného titulu.“

V Hradci Králové 10.05.2021

Alena Klazarová

Obsah

Úvod.....	9
Zadání – cíl práce.....	10
Teoretická část.....	11
1. Hemostáza.....	11
1.1. Primární hemostáza	11
1.1.1. Vazokonstrikce.....	12
1.1.2. Činnost krevních destiček	12
1.2. Sekundární hemostáza	14
1.2.1. Hemokoagulace.....	14
1.2.2. Přehled koagulačních faktorů.....	14
1.2.3. Inhibitory koagulačních faktorů.....	19
1.3. Fibrinolytický systém	23
1.3.1. Hlavní složky fibrinolýzy.....	23
1.3.2. Aktivátory plazminogenu.....	24
1.3.3. Inhibitory fibrinolýzy	24
1.4. Patofyziologie hemostázy.....	25
1.4.1. Krvácivé stavy.....	25
1.4.1.1. Trombocytopenie a trombocytopatie.....	26
1.4.1.2. Poruchy cévní stěny.....	26
1.4.1.3. Koagulopatie.....	27
1.4.2. Trombofilní stavy.....	27
1.4.2.1. Trombóza.....	28
1.4.2.2. Přehled antitrombotické léčby	29
2. Vývoj antikoagulační léčby	31
2.1. Heparin	32
2.1.1. Nefrakciovaný heparin (UFH)	32

2.1.2.	Nízkomolekulární heparin (LMWH)	33
2.1.3.	Pentasacharidy.....	34
2.2.	Bivalirudin.....	34
2.3.	Kumarinové preparáty (VKA).....	35
2.3.1.	Warfarin	35
2.3.2.	Pelentan	36
2.4.	Nová perorální antikoagulancia (NOAC).....	37
2.4.1.	Gatraný	38
2.4.2.	Xabany	39
2.5.	Nová přímá antikoagulancia ve vývoji.....	41
3.	Monitorování antikoagulační léčby	43
3.1.	Hemokoagulační testy	43
3.1.1.	Protrombinový test (PT).....	44
3.1.2.	Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT).....	45
3.1.3.	Aktivovaný koagulační čas (ACT).....	46
3.1.4.	Trombinový čas (TT)	47
3.1.5.	Reptilázový čas (RT).....	47
3.1.6.	Dilutovaný trombinový čas (dTT)	48
3.1.7.	Ekarinový srážecí test (ECT)	49
3.2.	Metoda chromogenního substrátu	50
3.2.1.	Stanovení anti-FXa aktivity	50
4.	Novinky v monitorování antikoagulační léčby.....	52
4.1.	Automatizace metod	52
4.2.	Nové metody	52
4.2.1.	Mikrofluidní technologie	53
4.2.2.	Fluorescenční technologie.....	53
4.2.3.	Fotoakustická technologie.....	53

4.2.4. Nanotechnologie	54
Závěr	55
Použité zkratky	56
Seznam tabulek	59
Seznam obrázků	60
Použitá literatura	61

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní obor: Laboratorní diagnostika ve zdravotnictví

Autor: Alena Klazarová

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Filip Vrbacký, Ph.D.

Název bakalářské práce: Vývoj antikoagulační léčby a novinky v jejím monitorování

Cíl práce: Cílem této práce je shrnutí základních informací o hemostáze a složkách, které se jej účastní. Tato fakta jsou klíčová k pochopení mechanismu účinku antikoagulačních přípravků v antikoagulační léčbě. Práce se zabývá přehledem vývoje antikoagulační léčby od počátku až dodnes. Věnuje se problematice antikoagulační léčby a možností jejího monitorování laboratorními testy.

Hlavní poznatky: Tromboembolismus trápil lidstvo méně či více již od pradávna. Otázkou času byl vývoj antikoagulační léčby a pochopení mechanismu účinků antikoagulačních léčiv, které bylo velkým přínosem ve snížení incidence a mortality tromboembolismu.

Závěry: Zavedení antikoagulační léčby do medicíny znamenalo snížení rizika vzniku tromboembolických komplikací. Velkým přínosem bylo objevení prvního antikoagulačního léku, kterým byl nefrakciovaný heparin (UFH), dále pak perorálně podávaný warfarin, který je hojně využíván dodnes. Velmi významné je užívání nových perorálních antikoagulancií (NOAC), která mají velkou budoucnost v antikoagulační léčbě.

Klíčová slova: hemostáza, antikoagulační léčba, antikoagulační léky, monitorování léčby

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Biological and Medical Sciences

Study program: Laboratory diagnostics in healthcare

Author: Alena Klazarová

Supervisor: RNDr. Filip Vrbacký, Ph.D.

Title of bachelor thesis: Development of anticoagulation therapy and news about its monitoring

Background: The aim of this work is to summarize the basic information about hemostasis and the components that participate in it. These facts are key to understanding the mechanism of action of anticoagulants in anticoagulant therapy. The work deals with an overview of the development of anticoagulant treatment from the beginning to the present day. It deals with the issue of anticoagulant treatment and the possibility of its monitoring by laboratory tests.

Main findings: Thromboembolism suffered people more or less since time immemorial. The question of time was the development of anticoagulant therapy and an understanding of the mechanism of action of anticoagulant drugs, which was of great benefit in reducing the incidence and mortality of thromboembolism.

Conclusions: The introduction of anticoagulant therapy in medicine has reduced the risk of thromboembolic complications. A great benefit was the discovery of the first anticoagulant drug, unfractionated heparin (UFH), followed by oral warfarin, which is widely used to this day. The use of new oral anticoagulants (NOACs), which have a great future in anticoagulant therapy, is very important.

Keywords: hemostasis, anticoagulation therapy, anticoagulant drugs, monitoring therapy

Úvod

Hemostáza je proces srážení krve zahrnující na sebe navazujících děje, které vedou k zástavě krvácení v místě porušené cévy. Proces zástavy krvácení je velmi složitý a účastní se ho řada složek. V případě porušení hemostatické rovnováhy dochází ke zvýšenému riziku krvácení nebo naopak vzniku tromboembolismu.

Klíčový byl vývoj antikoagulačních léčiv a zavedení antikoagulační léčby do medicíny. Zajištěním efektivní léčby pacientů se výrazně snížila incidence i mortalita způsobena tromboembolickými komplikacemi po celém světě. Antikoagulační léčba je využívána pro akutní případy či jako profylaxe při zvýšeném riziku vzniku či recidivy tromboembolických onemocnění. Velkým přínosem bylo objevení nefrakcionovaného heparinu (UFH) a dále poté první perorální antikoagulační lék warfarin, který je hojně využíván dodnes.

Nelze opomenout hematologické laboratoře, které jsou zásadní pro diagnostiku poruch koagulačních procesů. Dále zajišťují monitorování antikoagulační léčby, bez kterého se terapie některými antikoagulancii neobejde. Pomocí sledování léčby je možné nastavit léčbu podle individuálních potřeb pacienta. Monitorování je prováděno nejčastěji pomocí klasických koagulačních testů, které jsou většinou rutinně prováděny v každé hematologické laboratoři.

Zadání – cíl práce

Cílem mé bakalářské práce je shrnutí základních informací o hemostáze, jejich hlavních složkách a procesech probíhajících při srážení krve v organismu. Tato fakta jsou důležitá k pochopení mechanismu účinku antikoagulancií v antikoagulační léčbě. Práce je zaměřena na přehled vývoje antikoagulačních přípravků od jejího počátku až dodnes, kde se snažím o přiblížení problematiky a výhod jejich užívání ve spojení s tromboembolismem. Antikoagulační léčba je používána k profylaxi nebo léčbě akutních stavů. V konečné části práce jsem uvedla nejpoužívanější možnosti laboratorního monitorování antikoagulační léčby.

Teoretická část

1. Hemostáza

Hemostáza, neboli zástava krvácení, je velmi důležitý a složitý proces, při němž dochází k řetězovým reakcím, kterých se účastní řada hemostatických systémů. Jejím hlavním úkolem je ochrana organismu před vykrvácením. Při hemostáze dochází k přeměně tekuté krve na pevnou hmotu. Mezi hlavní aktéry účastnící se hemostázy patří cévní stěna, krevní destičky a plasmatické koagulační faktory, díky kterým dochází za fyziologických podmínek k zástavě krvácení. Proti koagulačnímu systému stojí systém přirozených inhibitorů, který hlídá proces krevního srážení. Celý proces zástavy krvácení končí aktivováním fibrinolytického systému, který odbourává pevný fibrin a místo poranění uvádí do původního stavu a tím zabraňuje možnému ucpání krevního řečiště krevní sraženinou. Ve zdravém organismu musí být koagulační systém v rovnováze, aby nedocházelo k hypokoagulaci, jejímž následkem je krvácení, kdy by mohlo dojít k nechtěným krevním ztrátám nebo naopak hyperkoagulaci, která by mohla způsobit nadměrné krevní srážení s tvorbou krevní sraženiny.[1] Fyziologicky by zástava krvácení neměla trvat déle než 5 minut.[2]

1.1. Primární hemostáza

Procesy primární hemostázy se aktivují v okamžiku poranění cévy, jejich cílem je okamžité zastavení krvácení a zacelení cévy v místě poškození primární zátkou neboli bílým trombem, který je tvořen krevními destičkami. Primární zátkka je velmi křehká, a proto je zpevňována zesíťovaným fibrinem, díky kterému je pevná, odolná tahu i tlaku.[2]

1.1.1. Vazokonstrikce

V místě poškození cévy dochází velmi rychle k reflexní vazokonstrikci, tedy k zúžení průsvitu krevní cévy, za přítomnosti řady látek, např. tromboxanu A₂ a serotoninu, uvolňovaných z aktivovaných krevních destiček.[3]

1.1.2. Činnost krevních destiček

Krevní destičky jsou bezjaderné fragmenty odštěpované megakaryocytu v kostní dřeni. Fyziologický počet krevních destiček v periferní krvi je 150-400 x 10⁹/l, nejsou schopny se dělit, žijí přibližně 9-12 dní a zanikají ve slezině. Ke správné funkci krevních destiček je potřeba odpovídající výbava a to především obsah α granulí, δ granulí (denzní) a λ granulí (malé lysozomy). Krevní destičky mají velké uplatnění především v primární hemostáze, ale také v dalších koagulačních procesech, mezi které například patří sekundární hemostáza (viz kapitola Sekundární hemostáza).[2]

„Rozdělení destičkových granulí:

α granula: obsahují destičkový faktor 4 (PF4), fibrinogen, destičkový růstový faktor (PDGF), trombospondin, fibronektin, plazminogen aktivátoru inhibitor 1, na histidin bohatý glykoprotein, α₂-makroglobulin, α₂-antiplazmin, P selektin (CD62).

δ-granula (denzní granula): ATP, ADP, kalciové ionty, serotonin, pyrofosfát, P selektin (CD62), transformující růstový faktor b, katecholaminy (noradrenalin a adrenalin), GDP, GTP.

λ granula (lysozomy): galaktozidázy, fukozidázy, hexozaminidázy, glukouronidázy, katepsin, glukohydrolázy a jiné.“[2]

Adheze

Adheze je schopnost krevních destiček přilnout přes membránový receptor glykoproteinu Ib k receptorům kolagenních vláken obnaženého endotelu pomocí von Willebrandova faktoru, na který destička nasedá.[2] Adheze dochází k aktivaci krevních destiček. Aktivní metabolismus látek krevní destičky vede k tvorbě výběžků na povrchu membrány a tím ke změně vzhledu.[4]

Agregace

Jedná se o shlukování krevních destiček a jejich vzájemné spojení.[4] Agregace je indukována malým množstvím trombinu. Agregaci zprostředkovává destičkový membránový receptor glykoproteinu IIb/IIIa, fibrinogen a von Willebrandův faktor.[2]

Aktivace krevních destiček

Aktivace krevních destiček spočívá v transmembránovém přesunu tzv. flip-flop fenoménu. Touto reakcí dochází k vystoupení negativně nabitých fosfolipidů (PL), tedy fosfatidylserinu a fosfatidylinositolu, na vnější povrch krevní destičky. Negativně nabité fosfolipidy hrají klíčovou roli v koagulačních reakcích, vytvářejí vhodný povrch pro řadu interakcí. V klidovém stavu, kdy jsou krevní destičky neaktivní, mají na povrchu sfingomyelin a fosfatidylcholin.[2]

Schopnost kontrakce

Další významnou funkcí krevních destiček je schopnost kontrakce, která umožní stažení primární destičkové zátky. Při tomto procesu se mění jejich tvar z diskovitého na améboidní. Ke stažení zátky dochází pomocí kontraktilních bílkovin v membráně destiček (mikrotubuly, aktin a myosin).[2]

1.2. Sekundární hemostáza

1.2.1. Hemokoagulace

Hemokoagulace, neboli srážení krve, je rozsáhlý děj v hemostáze, zahrnující soubor enzymatických reakcí. Jedná se o tzv. koagulační kaskádu, které se účastní především koagulační faktory, kofaktory, inhibitory, ionty a fosfolipidy. Výsledkem těchto reakcí je přeměna fibrinogenu na fibrin. Vzniká nerozpustná fibrinová síť, ve které se zachytávají krevní buňky a tím dochází ke zpevnění primární zátky. Tento soubor koagulačních dějů můžeme schematicky rozdělit podle starého modelu na dva systémy, na vnější a vnitřní systém. Ke spuštění vnitřní cesty dochází při kontaktu se subendoteliálními buňkami, při kterém nedochází k porušení cévy, kdežto při cestě vnější dochází ke styku s tkáňovým faktorem (TF) vyplaveným z porušené cévy.[5]

1.2.2. Přehled koagulačních faktorů

Koagulační faktory jsou převážně proteiny cirkulující v krevní plazmě.[6] Syntetizují se především v játrech, jako většina plazmatických bílkovin. Faktory účastnící se koagulační kaskády jsou většinou označovány římskou číslicí a vlastním názvem (používá se zjednodušené označení např. FVII). U faktorů FI, FII, FIII a FIV se spíše používá jejich název, kdežto u dalších faktorů se užívá jen označení římskou číslicí (např. Faktor XI). V plazmě kolují v neaktivní formě jako proenzymy, kromě tkáňového faktoru (TF) a malého množství FVII. Po zahájení koagulační enzymatické kaskády se postupně štěpí na aktivní formy faktorů, které se značí písmenem "a" např. FVIIa. Koagulační faktory se podle povahy mohou uplatňovat jako serinové proteázy, což jsou proteolytické enzymy obsahující serin, histidin a kyselinu aspartamovou (tzv. katalytická triáda). Faktory patřící mezi serinové proteázy jsou FII, FVII, FIX, X, XI, XII, prekalikrein. Dále se můžou uplatňovat jako kofaktory mezi něž patří FV a FVIII. Vzniká komplex kofaktorů s vápenatými ionty a fosfolipidy, který výrazně ovlivňuje rychlost aktivace koagulačních faktorů. Další velkou skupinou jsou vitamin K dependentní faktory, které ke své funkci potřebují

přítomnost vitamínu K, mezi které patří FII, FVII, FIX, FX. Vitamin K způsobuje karboxylaci γ -glutamového zbytku daných faktorů. Bez karboxylace není možná vazba faktoru s vápenatými ionty a fosfolipidy. Při nedostatku vitamínu K jsou faktory sice tvořeny, ale v případě potřeby nejsou koagulačně aktivní, označují se jako tzv. PIVKA faktory (Protein induced by vitamin K absence).[2][7]

Tabulka č. 1

Přehled koagulačních faktorů účastnících se koagulační kaskády

Neaktivní forma		Označení aktivní formy
FI	Fibrinogen (FBG)	FIIa
FII	Protrombin	FIIa (trombin)
FIII	Tkáňový faktor (TF)	
FIV	Vápenaté ionty	FIVa
FV	Proakcelerin	FVa
FVII	Prokonvertin	FVIIa
FVIII	Antihemofilický faktor	FVIIIa
FIX	Christmasův faktor	FIXa
FX	Stuart-Prowerův faktor	FXa
FXI	Rosenthalův faktor	FXIa
FXII	Hagemanův faktor	FXIIa
FXIII	Fibrin stabilizující faktor	FXIIa

[2]

Von Willebrandův faktor (vWF)

Von Willebrandův faktor je multimerní glykoprotein syntetizován v α granulích krevních destiček a v endotelových buňkách cév. Uplatňuje se v primární hemostáze i v samotné koagulaci. Jeho funkce v koagulaci spočívá ve vazbě na FVIII, pro který slouží jako nosič. Vazbou vWF a FVIII je faktor VIII chráněn proti nechtěné proteolytické degradaci (účinkem např. proteinu C).[8]

Fibrinogen (FBG) – Faktor I (FI)

Fibrinogen je velký rozpustný glykoproteinový komplex skládající se ze tří párů polypeptidových řetězců α , β a γ . Nachází se volně v plazmě a v malém množství také v α granulích krevních destiček. Váže se na destičkový glykoprotein IIb/IIIa

a podporuje agregaci krevních destiček. Účinkem trombinu (FIIa) dochází k aktivaci fibrinogenu a tím k přeměně rozpustného fibrinogenu na nerozpustný fibrin, který tvoří základ pro definitivní zátku. Při štěpení trombinem vznikají fibrinopeptidy A a B – tzv. fibrinové monomery.[2][9]

Protrombin – Faktor II (FII)

Protrombin je glykoprotein patřící mezi vitamin K dependentní faktory. K jeho aktivaci dochází pomocí komplexu tvořeného aktivovaným faktorem X (FXa) za přítomnosti kofaktoru V (FV), negativně nabitých fosfolipidů a kalciových iontů. Dochází při ní k přeměně neaktivního protrombinu (FII) na aktivní trombin (FIIa).[7]

Trombin hraje v koagulaci klíčovou roli. Jeho účinkem dochází ke stimulaci koagulace, může ale také podle potřeby koagulaci inhibovat.

Přehled funkcí trombinu:

- přeměna fibrinogenu na fibrin
- aktivace trombocytů, která je nejvýznamnější, dále také aktivuje např. monocyty
- stimulace probíhající koagulačních dějů, aktivováním kofaktorů FV a FVIII, dále koagulačních faktorů FXI a FXIII
- antikoagulační účinek, po navázání na trombomodulin mění svoji strukturu a je schopen aktivovat protein C, který inhibuje kofaktory FV a FVIII
- aktivace TAFI (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor) – důležitý inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem [2]

Tkáňový faktor (TF) – Faktor III (FIII)

Tkáňový faktor, někdy také nepřesně označován jako tkáňový tromboplastin, je transmembránový glykoprotein působící jako buněčný receptor pro FVII. Vazba TF s FVII dává vzniknout FVIIa, čímž se spouští koagulační kaskáda. Ke své funkci nevyžaduje aktivaci a nemá enzymatickou aktivitu. Na jeho bílkovinnou část jsou

navázané fosfolipidy, tato vazba je potřebná pro koagulační aktivitu. Tkáňový faktor je obsažen v subendotelových buňkách. Vyplaví se v případě poškození nebo poranění cévy. Buňky, které jsou schopny exprimovat tkáňový faktor na svém povrchu, jsou monocyty, ale pouze za přítomnosti zánětlivých změn, nádorů nebo při traumatech.[2]

Vápenaté ionty (Ca^{2+}) – Faktor IV (FIV)

Vápenaté ionty jsou potřebné pro většinu koagulačních interakcí v koagulační kaskádě. Umožňují připojení γ karboxylových skupin vitamin K dependentních faktorů na fosfolipidy.[4]

Proakcelerin – Faktor V (FV)

Faktor V není enzymaticky aktivní a patří mezi kofaktory. Je aktivován trombinem popř. aktivovaným faktorem X (FXa). Hlavním inhibítorem aktivované formy (FVa) je aktivovaný protein C.[2]

Prokonvertin – Faktor VII (FVII)

Faktor VII je vitamin K dependentní faktor patřící mezi serinové proteázy. Tvoří komplex s tkáňovým faktorem (FIII), což je klíčové pro zahájení koagulační kaskády. Jeho neaktivní forma FVII je proteolyticky štěpena na FVIIa. Komplex vnější tenáza (FVIIa, TF, Ca^{2+} a PL) katalyzuje přeměnu FX na FXa. Volný faktor VIIa nemá samostatný inhibitor, ale v komplexu s tkáňovým faktorem dochází k nepřímé inhibici antitrombinem.[2]

Antihemofilický faktor – Faktor VIII (FVIII)

Faktor VIII je druhý z kofaktorů. Je syntetizován především v játrech, ale také v dalších orgánech jako je např. slezina, slinivka nebo ledviny. V plazmě je vázán na von Willebrandův faktor, který pro něj funguje jako nosič a chrání ho před nechtěným rozpadem a vazbou inhibitorů. Z vWF se uvolňuje účinkem

trombinu nebo interakcí s fosfolipidy. Působí jako kofaktor vnitřní tenázy (FVIIIa, FIXa, Ca²⁺ a PL) a tím napomáhá k přeměně FX na FXa.[2]

Christmasův faktor – Faktor IX (FIX)

Faktor IX je vitamin K dependentní serinová proteáza. Je aktivován aktivovaným faktorem XI (FXIa) nebo pomocí komplexu vnější tenázy (FVIIa, TF, Ca²⁺ a PL). Aktivovaná forma faktoru je součástí komplexu vnitřní tenázy (FVIIIa, FIXa, Ca²⁺ a PL). Účinkem FIXa dochází ke katalytické přeměně FX na FXa.[2]

Stuartův-Prowerův faktor – Faktor X (FX)

Faktor X je vitamin K dependentní serinová proteáza. Je aktivován vnější nebo vnitřní tenázou. Faktor X je centrálním faktorem, kde se setkávají dvě cesty aktivace koagulační kaskády, a to vnější a vnitřní. Aktivovaná forma faktoru X (FXa) je součástí enzymatického komplexu protrombinázy (FVa, FXa, Ca²⁺ a PL), která katalyzuje přeměnu protrombinu na trombin. FXa je inhibován antitrombinem (AT) nebo inhibitorem zevní koagulační cesty TFPI (tissue factor pathway inhibitor).[2]

Rosenthalův faktor – Faktor XI (FXI)

Faktor XI je serinová proteáza patřící do kontaktního systému. Je navázán v komplexu s kofaktorem HMWK (vysokomolekulární kininogen). Může být aktivován proteolýzou FXIIa za přítomnosti HMWK a nebo trombinem za přítomnosti negativně nabitých povrchů. Podílí se na přeměně FIX na FIXa.[2]

Hagemanův faktor – Faktor XII (FXII)

Faktor XII je další serinovou proteázou patřící do kontaktního systému. Je aktivován stykem se subendoteliálními povrchy při poranění cévy nebo jinými

proteázami. FXIIa se účastní přeměny FXI na FXIa, dále také aktivuje prekalikrein nebo HMWK.[2]

Fibrin stabilizující faktor – Faktor XIII (FXIII)

Faktor XIII je složen ze dvou párů polypeptidových řetězců (podjednotka A a B). Jako jediný koagulační faktor obsahuje ve své struktuře cystein. FXIII je společně s fibrinogenem aktivován trombinem za přítomnosti vápenatých iontů. Aktivní forma faktoru zakončuje koagulační kaskádu a působí na fibrinovou síť. Podjednotka A zajistí přeměnu nekovalentních vazeb ve fibrinové síti na vazby kovalentní (vznikají tzv. D-dimery), zatímco podjednotka B je po tvorbě fibrinu volně v séru.[2]

Prekalikrein (PKa)

Prekalikrein je gamaglobulin patřící mezi faktory kontaktního systému. V plazmě koluje v neaktivní formě ve vazbě na HMWK. Je aktivován FXIIa na α kalikrein (Ka).[2]

Vysokomolekulární kininogen (HMWK)

HMWK je protein, fungující jako kofaktor při aktivaci FXII kalikreinem. Napomáhá aktivaci FXII, FXI.[2]

1.2.3. Inhibitory koagulačních faktorů

Pro zachování rovnováhy hemostatických mechanismů je potřeba regulovat koagulační děje. K regulaci dochází pomocí přirozených inhibitorů majících za úkol inhibovat aktivitu koagulačních faktorů, aby nedošlo k nekontrolovanému krevnímu srážení.

Podle cíle účinku je můžeme rozdělit:

- inhibitory serinových proteáz – antitrombin (AT), kofaktor heparinu II, heparin, α_2 -makroglobulin.
- inhibitor zevní koagulační cesty – TFPI (tissue factor pathway inhibitor), C1-inhibitor,
- inhibitory kofaktorů koagulačních faktorů – protein C, protein S.[7]

Antitrombin (AT)

Antitrombin je nejdůležitějším fyziologickým inhibitorem serinových proteáz. Antitrombin, označován také jako protein akutní fáze, má povahu glykoproteinu syntetizovaného v játrech a v endotelových buňkách. Jeho hladina v krvi je úzce propojena s regulací fibrinogenu (při štěpení FBG dochází k poklesu AT). Po navázání AT na koagulační faktor dojde k vytvoření komplexu a tím způsobí jeho inaktivaci. V komplexu s heparinem se zvyšuje účinnost inhibice trombinu. Mezi další serinové proteázy štěpené AT patří FXa, FIXa, FXIa a FXIIa.[2][7]

Kofaktor heparinu II

Kofaktor heparinu II je specifickým inhibitorem serinových proteáz, na rozdíl od AT inhibuje pouze trombin. Syntéza probíhá v játrech a endotelových buňkách. Vytváří komplex s trombinem, který inaktivuje. Reakce probíhá pomaleji než u AT. Účinek je urychlován heparinem, dermatansulfátem a heparoidy.[2][7]

Heparin

Heparin je polysacharid tvořený nízkomolekulárními frakcemi cukerných zbytků (od 5 do 40 000). Velikost heparinu ovlivňuje jeho afinitu k serinovým proteázám. Nízkomolekulární heparin má vyšší afinitu k FXa, kdežto vysokomolekulární heparin k trombinu. Jeho přítomnosti napomáhá některým dalším inhibitorům zrychlit jejich účinek.[7]

TFPI (tissue factor pathway inhibitor)

TFPI, neboli tkáňový inhibitor zevní koagulační cesty, patří strukturně mezi kuniny. TFPI je z největší části uložen v endotelu a při porušení cévy se zvyšuje jeho koncentrace. Dále menší část cirkuluje v krvi vázaný na lipoproteinech (především LDL – low density lipoproteins) a malé množství je vázané na krevní destičky, ze kterých se uvolňuje působením trombinu. TFPI za přítomnosti heparinu (urychluje reakci) přímo inhibuje FXa.[2]

C1-inhibitor

C1-inhibitor inhibuje faktory kontaktní fáze a působí v komplementovém systému. Dále inhibuje FXIIa, FXIa a kalikrein. Nachází se také v malém množství v α granulích krevních destiček.[7]

Protein C (PC) a protein S (PS)

Protein C je glykoprotein s funkcí enzymu, patří mezi serinové proteázy závislé na vitaminu K. Jeho funkce spočívá v inhibici kofaktorů FVa a FVIIIa. Aktivuje ho komplex trombinu s trombomodulinem (transmembránový glykoprotein) za přítomnosti vápenatých iontů. Aktivovaný protein C (APC) také usnadňuje proces fibrinolýzy (uvolňuje tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA) z vazby na inhibitoru aktivátoru fibrinolýzy). APC je inhibován protein C inhibitorem (PCI).

Protein C a protein S mají podobnou strukturu, ale PS nemá funkci enzymu jako PC. PS je proteinový kofaktor aktivovaného proteinu C (APC) při inaktivaci FVa a FVIIIa. Protein S je uložen v granulích trombocytů a v endotelu a jeho tvorba je také závislá na K vitaminu.[7]

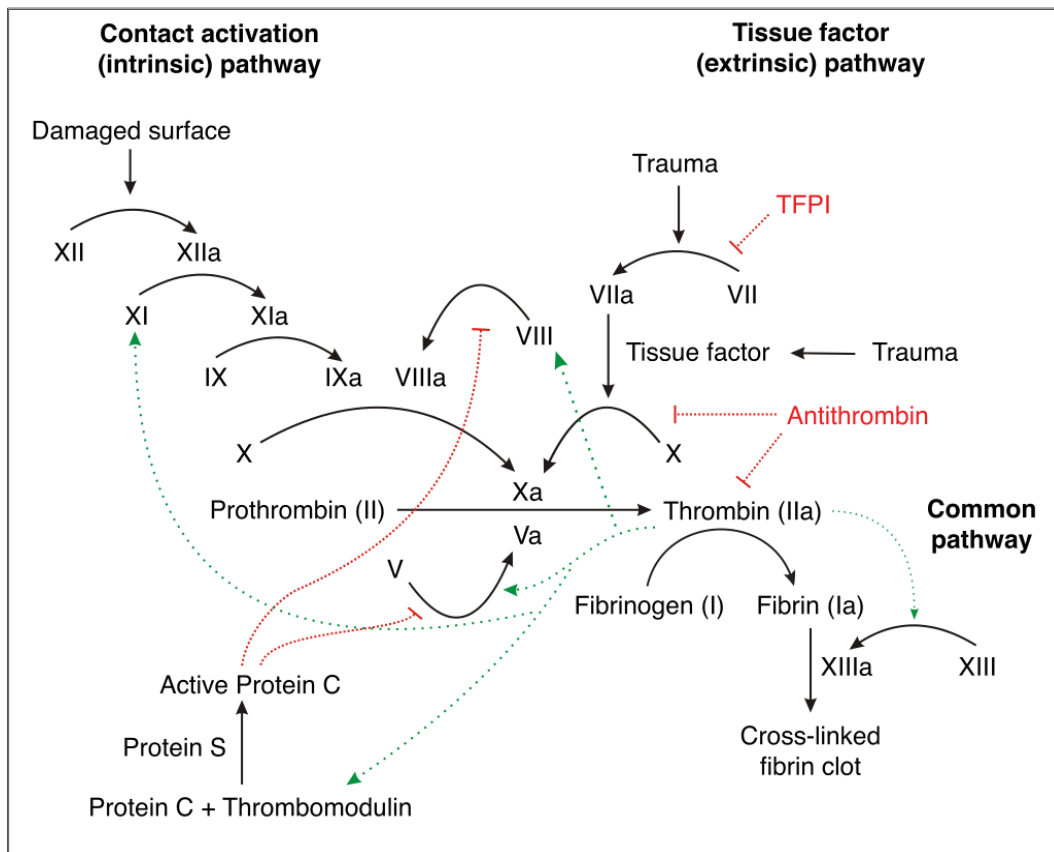
Alfa₂-makroglobulin (α₂MG)

Alfa₂-makroglobulin patří mezi nespecifické inhibitory proteáz. V podstatě může inhibovat jakoukoliv proteázu, nejen v koagulačních procesech, ale i proteázy uplatňující se ve fibrinolýze. Jeho účinek je oproti ostatním inhibitorům pomalejší.[10]

Celý proces koagulační kaskády je vyobrazen na následujícím obrázku č. 1.

Obrázek č. 1

Schéma koagulační kaskády



Převzato z:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/b/b6/Coagulation_full.svg/1024px-Coagulation_full.svg.png [citováno 20.10.2020]

1.3. Fibrinolytický systém

Fibrinolýza je fyziologický děj zajišťující včasné odstranění fibrinu a uvedení místa poškozené cévy do původního stavu. Fibrinolytických procesů se účastní řada aktivátorů a inhibitorů. Hlavní složkou je proenzym plazminogen, který se štěpí na jeho aktivní formu – plazmin.

1.3.1. Hlavní složky fibrinolýzy

Plazminogen

Plazminogen je hlavní fibrinolytický proenzym. Strukturně se jedná o jednořetězcový glykoprotein syntetizovaný v játrech, ale nachází se také v jiných tkáních (např. ledviny). Aktivátorem plazminogenu může být tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA), urokinázový aktivátor plazminogenu (uPA) nebo také FXII, HMWK a prekalikrein. Působením aktivátorů plazminogenu se plazminogen rozštěpí na plazmin.[2]

Plazmin

Plazmin je serinová proteáza schopná se vázat na fibrin (v menší míře i na fibrinogen). Monomerní fibrin vzniká štěpením fibrinogenu trombinem, zatím co zesíťovaný fibrin vzniká polymerací pomocí faktoru FXIIIa. Po navázání plazminu na fibrin dochází k rozštěpení na fibrin degradační produkty (FDP). Po rozštěpení FDP vznikají vysokomolekulární fragmenty X a Y (meziprodukty) a nízkomolekulární fragmenty D a E (hlavní a konečné produkty). D-dimery vznikají štěpením polymerního fibrinu a jsou konečným a nejmenším štěpným produktem. Stanovení D-dimerů slouží jako ukazatel trombofilních stavů. Plazmin dále působí také na FVIII a FV.[2]

1.3.2. Aktivátory plazminogenu

Tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA)

Tkáňový aktivátor plazminogenu (tPA) je uvolňován trombinem, histaminem, bradykininem nebo také stresem či fyzickou zátěží. Jeho koncentrace se liší v závislosti na místě výskytu a je obsažen ve většině tkání. V plazmě se nachází volně nebo v komplexu s PAI-1.[2]

Urokinázový aktivátor plazminogenu (uPA)

Urokinázový aktivátor plazminogenu je uvolňován endotelovými buňkami, ale také řadou dalších buněk. V plazmě se nachází většinou samostatně. Jeho hlavní úlohou je účast při štěpení ECM (extracelulární matrix) a tím napomáhá k migraci buněk. Toto se uplatňuje při různých dějích v organismu (např. při hojení ran, zánětech, invazi nádorových buněk, metastazování zhoubných nádorů).[2][11]

1.3.3. Inhibitory fibrinolýzy

Inhibitory fibrinolýzy hlídají fibrinolytický proces a zajišťují jeho lokalizaci, tím tlumí šíření do okolí. Inhibitory se dají rozdělit na dva hlavní typy, inhibitory plazminu a inhibitory aktivace plazminogenu.[10]

Alfa₂-antiplazmin (α₂AP)

Alfa₂-antiplazmin je serinová proteáza a přímo inhibuje plazmin. Jedná se o hlavní a primární regulátor fibrinolýzy. Nachází se volně v plazmě, kde tvoří komplex s plazminem a tím dochází k jeho inaktivaci. Dále také inhibuje navázání plazminogenu na fibrin nebo se nachází ve vazbě na fibrin, na který se naváže plazmin a tím vznikne neaktivní komplex.[10]

Inhibitory aktivátoru plazminogenu (PAI)

Přírodní inhibitory tkáňového aktivátoru plazminogenu jsou PAI-1, PAI-2 a PAI-3 (PCI). Patří do skupiny inhibitorů serinových proteáz.

- PAI-1 – syntetizuje se v endotelových buňkách, jeho hlavní úlohou je inhibice tPA i uPA,
- PAI-2 – inhibuje pouze uPA,
- PAI-3(PCI) – inhibitor proteinu C, tPA i uPA.[7]

TAFI (trombin activatable fibrinolysis inhibitor)

TAFI, také zvaný jako inhibitor fibrinolýzy aktivovaný trombinem, je důležitým inhibitorem fibrinolýzy vyskytující se jako proenzym. Chemicky se jedná o plazmatickou prokarboxypeptidázu B (patří mezi metaloproteinázy). Aktivace je zprostředkována z největší části trombinem za přítomnosti trombomodulinu (zvyšuje rychlost reakce), dále také plazminem nebo trypsinem (pomalejší aktivace než trombinem). Aktivní forma se označuje TAFIa. TAFIa odštěpuje z fibrinu lyzin a tím blokuje vazbu komplexu tPA-fibrinogen na fibrin a následně dochází ke zpomalení aktivace plazminogenu.[8]

1.4. Patofyziologie hemostázy

1.4.1. Krvácivé stavy

Krvácivé stavy jsou způsobeny poruchou hemostatických systémů, čímž dochází k poruše rovnováhy. To vede ke spontánním krvácivým projevům nebo krvácení.[12] Krvácivé stavy můžeme rozdělit na dědičné a získané. Dědičné poruchy krvácení mají genetickou predispozici a bývají způsobeny nedostatkem koagulačních faktorů. Získané poruchy krvácení se mohou u jednotlivce vyvinout kdykoli během života a mohou být zapříčiněny více faktory.[13]

Příčiny vzniku krvácivých stavů:

- Porucha funkce krevních destiček (trombocytopenie a trombocytopatie),
- Porucha funkce cévní stěny,
- Porucha hemokoagulačního systému (koagulopatie),
- Porucha fibrinolytického systému.

Krvácivé stavy mohou být způsobeny jednou z těchto poruch nebo jejich kombinací.[12]

1.4.1.1. Trombocytopenie a trombocytopatie

Trombocytopenie = snížený počet krevních destiček (pokles pod $100 \times 10^9/l$)

Trombocytopatie = porucha funkce krevních destiček

Můžou vznikat z několika příčin:

- Snížená tvorba krevních destiček,
- Zvýšená sekvestrace krevních destiček slezinou,
- Zvýšená destrukce krevních destiček.

V obou případech dochází k poruše hemostatické funkce trombocytů, v některých případech se jedná i o kombinaci těchto dvou poruch. Mohou být vrozené i získané.[14]

Léčba je převážně pomocí destičkových koncentrátů, nově také stimulanty trombopoézy.[2]

1.4.1.2. Poruchy cévní stěny

Poruchy cévní stěny, projevující se krvácením, mohou být způsobeny zvýšenou permeabilitou, nedostatečnou funkcí nebo poškozením cévní stěny.[14]

1.4.1.3. Koagulopatie

Koagulopatie jsou zapříčiněny poruchou funkce, nedostatkem či chyběním koagulačního faktoru, změnou jeho struktury nebo nadměrným množstvím inhibitorů. Mezi vrozené koagulopatie patří von Willebrandova choroba a hemofilie typu A nebo B.[14] Mezi získané koagulopatie patří například diseminovaná intravaskulární koagulace (DIC), při které dochází k nadměrné aktivaci koagulačního systému, rozděluje se do fází hyperkoagulační, hypokoagulační a fibrinolytické. Důsledkem je vznik mikrotrombů v mikrocirkulaci zároveň s krvácením.[15]

Léčba je převážně substituční.[14]

1.4.2. Trombofilní stavy

Vrozené nebo získané trombofilní stavy mohou vést ke vzniku tromboembolismu. Hyperkoagulabilita je patologický stav, kdy se neadekvátně aktivují koagulační mechanismy v důsledku aterosklerotických změn v cévní stěně, poruchou procesů krevního srážení (zahrnující poruchy krevních destiček, koagulačních nebo fibrinolytických mechanismů) nebo změnou krevního toku (stáza). Rizikem těchto hyperkoagulačních stavů je vytvoření krevní sraženiny (trombus), v případě jeho uvolnění mohou putovat krevním řečištěm (embolus). Důsledkem tohoto procesu nastane ucpání cévy a následná ischemie tkáně. Mezi tromboembolické příhody patří infarkt myokardu, plicní embolie, cévní mozková příhoda nebo žilní trombózy.[16]

Nejčastější vrozené trombofilní stavy:

- Dysfibrinogenémie,
- Rezistence na aktivovaný protein C (APC-R),
- Deficit antitrombinu,
- Leidenská mutace faktoru V,
- Deficit proteinu C nebo S,
- Mutace složek účastnících se hemostatických mechanismů.

Nejčastější získané trombofilní stavy:

- Antifosfolipidový syndrom (APS),
- Antifosfolipidové protilátky (APA),
- Lupus antikoagulans (LA).[17]

1.4.2.1. Trombóza

Vznik intravaskulární krevní sraženiny, mohou být vrozené nebo získané.

Mezi faktory ovlivňující vznik trombózy patří vyšší věk, obezita, kouření, hypertenze, špatné stravování, diabetes mellitus, varixy, hormonální léčba, těhotenství, tromboembolické onemocnění v rodině, fraktury, velké ortopedické zákroky, onkologická onemocnění. Rizikové faktory se násobí, proto při kombinaci vícero faktorů riziko vzniku trombóz výrazně narůstá.[18]

Žilní trombóza

Výskyt žilních trombóz je i v dnešní době, kdy diagnostické i profylaktické metody pokročily, nezanedbatelný a je potřeba jim věnovat pozornost. Velkým přínosem bylo zavedení profylaxe pomocí heparinu po operačních zákrocích, čímž se významně snížilo riziko vzniku trombóz. Žilní trombus je tvořen fibrinem, červenými krvinkami, bohatý na krevní destičky, tzv. červené tromby.[17]

Příčiny:

- zpomalení až zastavení krevního toku,
- zvýšené koncentrace koagulačních faktorů a inhibitorů fibrinolýzy,
- nedostatek nebo porucha funkce přirozených inhibitorů,
- dysfunkce některých koagulačních faktorů.

Léčba žilních trombóz spočívá v antikoagulační léčbě.[17]

Arteriální trombóza

Na rozdíl od žilní trombózy nehraje hlavní roli ve vzniku trombu aktivace koagulačních faktorů. Je pravděpodobné, že tyto faktory jsou odstraněny vysokým tlakem

v arteriálním řečišti. Dochází k poškození cévní stěny v důsledku aterosklerózy a dalších rizikových faktorů jako je například hypertenze nebo důsledek vaskulárních anomálií. Arteriální trombus je typicky bohatý na krevní destičky a chudý na fibrin, tzv. bílé tromby.[19]

Příčiny:

- poškození endotelu – aterosklerotické pláty,
- zvýšená agregabilita krevních destiček.

Léčba arteriálních trombóz spočívá v antiagregační léčbě.[17]

1.4.2.2. Přehled antitrombotické léčby

Antitrombotická léčba patří mezi léčebné postupy, které mají za úkol tlumit hemostatickou aktivitu. Má zabránit nadměrnému srážení krve a tím ke vzniku trombů. Zahájením terapie dochází podle mechanismu účinku ke zmenšování již vzniklého trombu, k rozpuštění fibrinu, k zamezení agregace krevních destiček nebo ke snížení hyperkoagulability.[2]

Antikoagulační léčba

Účelem je snížit účinek trombinu a tím dochází k ovlivnění přeměny fibrinogenu na fibrin. Dochází ke snížení koagulační aktivity a tím pádem je vyšší riziko krvácení.[2]

Antitrombotická léčba

Specifičtější než léčba antikoagulační, účinkuje převážně na FXa, zabraňuje nadměrnému vzniku trombinu, nezpůsobuje snížení hemokoagulačního potenciálu a prodloužení globálních hemokoagulačních testů.[2]

Antiagregační léčba

Léčba zaměřena na procesy primární hemostázy, zabraňuje vzniku primární destičkové zátky.[2]

Trombolytická léčba

Používá se u již vzniklého žilního nebo arteriálního trombu. Masivní zásah s cílem v co nejkratším čase rozpustit trombus a obnovit tok v krevním řečišti, u této terapie je vysoké riziko krvácení.[2]

Substituční léčba

Spočívá v podávání inhibitorů krevního srážení, například antitrombin nebo protein C.[2]

Kombinovaná léčba

Kombinace výše uvedených léčebných postupů.[2]

2. Vývoj antikoagulační léčby

Arteriální a žilní tromboembolické příhody zauímají velkou část morbidit a mortalit pacientů po celém světě. Pro dřívější medicínu znamenaly zcela zásadní komplikace a i přes velký pokrok veškerých moderních technologií je jejich incidence stále riziková i v dnešní době.

Antikoagulační léčiva neboli antikoagulancia jsou léčiva, která snižují aktivitu koagulačních faktorů a tím snižují srážlivost krve. Obrovským přínosem v léčbě, či prevenci tromboembolických příhod, bylo zahájení léčby hepariny (UFH, LMWH) a kumarinovými preparáty, která patřila mezi nejpoužívanější léčiva. Tato léčiva však mají mnoho omezení, například úzké terapeutické okno (terapeutické okno nám udává rozpětí mezi minimální účinnou terapeutickou koncentrací/dávkou a minimální toxickou koncentrací/dávkou), nutnost monitorování léčby nebo parenterální podávání, proto byla snaha o výzkum nových léčiv, která by byla vhodnější a eliminovala jejich nevýhody. Nynějším trendem je vyvíjení nových tříd perorálních antikoagulancií.[20]

Antikoagulační léčiva můžeme rozdělit podle mechanismu účinku na přímá a nepřímá, dále podle způsobu podání na parenterální a perorální.[21]

Přímá antikoagulancia – působí přímo na koagulační faktory, nástup účinku bývá okamžitý po podání účinné látky.

- Hepariny – Nefrakcionovaný heparin, nízkomolekulární heparin, pentasacharidy (fondaparinux)
- Bivalirudin
- Gatrany (dabigatran)
- Xabany (rivaroxaban, apixaban, edoxaban)

Nepřímá antikoagulancia – působí nepřímo, pomocí blokování vitamínu K, nástup účinku přichází po několika dnech:

- Kumarinové preparáty (Warfarin, Pelentan)[21]

Tabulka č. 2

Přehled vývoje antikoagulačních léčiv

Období	Antikoagulační léčivo
40. léta	UFH
50. léta	VKA
80. léta	LMWH
90. léta	Bivalirudin
2002	Pentasacharidy
2008	Dabigatran
2011	Rivaroxaban
2012	Apixaban
2014	Edoxaban

[20]

2.1. Heparin

Byl objeven v roce 1914, ale do klinické praxe byl zaveden až ve 40. letech 20. století. V 80. letech byl nefrakcionovaný heparin (UFH) postupně nahrazován nízkomolekulárními hepariny (LMWH), a to ve většině klinických indikací, které jsou používány i dodnes. Heparin se získává z poražených zvířat (z jater).[20] Patří mezi přímá antikoagulantia.[21]

2.1.1. Nefrakcionovaný heparin (UFH)

UFH je nepřímý inhibitor trombinu, strukturně se jedná o kyselý glykosaminoglykan. Působí jako kofaktor antitrombinu. Po navázání zvyšuje schopnost antitrombinu inaktivovat trombin, dále také FXa a FIXa.

Nefrakcionovaný heparin (UFH – unfractionated heparin) byl zaveden jako první lék v antikoagulační léčbě. I když se ukázalo, že je velmi účinný, při jeho používání

se objevila spousta nevýhod. Mezi ty hlavní patří individuální odpověď organismu na antikoagulační účinek, úzké terapeutické okno nebo intravenózní podávání. Nežádoucí komplikací může být také riziko rozvoje heparinem indukované trombocytopenie (HIT), krvácení nebo také osteoporóza u dlouhodobě léčených pacientů UFH. Dnes se již nepoužívá a je plně nahrazen LMWH.[20]

Indikace: V akutních případech tromboembolismu. Aplikován je intravenózně. Je nevhodný pro dlouhodobou profylaxi, především kvůli nutnosti kontinuálního intravenózního podávání.[22]

Monitorování: Monitorováno pomocí APTT (aktivovaný parciální tromboplastinový čas).[7]

2.1.2. Nízkomolekulární heparin (LMWH)

Nízkomolekulární hepariny (LMWH – low molecular weight heparins) jsou odvozeny od UFH různými chemickými nebo enzymatickými depolymerizačními procesy. Mají kratší řetězce, které vznikají rozštěpením heparinu a nižší molekulovou hmotnost než UFH (přibližně jednu třetinu hmotnosti UFH). Oproti UFH jsou účinnější a není vždy potřeba monitorování léčby. Při jejich užívání je menší riziko vzniku HIT. Používané LMWH se podávají subkutánně.[20] Mezi nejpoužívanější patří enoxaparin (Clexane), bemiparin (Zibor) nebo nadroparin (Fraxiparin) a další.[23]

Indikace: Indikováno pro profylaxi nebo léčbu tromboembolických nemocí, při ortopedických a chirurgických zákrocích či léčbě anginy pectoris.[24] Často používán k zahájení antikoagulační léčby, kdy je potřeba rychlý nástup účinku, s postupným přechodem na kumarinové preparáty (pomalejší nástup účinku).[22]

Monitorování: Ve většině případů není potřeba kontrolovat léčbu. Kontrolu účinku léčby lze provádět pomocí stanovení anti-Xa aktivity.[24]

2.1.3. Pentasacharidy

Pentasacharidy byly do léčby zavedeny až na počátku 21. století, patří tedy mezi novější antikoagulanty. Strukturně se jedná o řetězce sacharidových jednotek odvozené od heparinu, připravují se synteticky. Mechanismus účinku je založen na inhibici FXa, ale nepůsobí na žádné jiné úrovni. Není potřeba monitorování, jelikož mají široké terapeutické okno. Hlavní nevýhodou je finanční nákladnost, jsou přibližně dvakrát dražší než LMWH. Podávají se subkutánně. Jediný pentasacharid využívaný v praxi je fondaparinux (Arixtra).[25]

Indikace: Nejčastěji v prevenci tromboembolismu, u ortopedických a chirurgických zákroků, v akutní léčbě hluboké žilní trombózy a jako alternativní léčba u akutních koronárních syndromů. Dále u pacientů, kterým je kontraindikován UFH i LMWH, například při rozvoji HIT.[25]

Monitorování: Není nutné, jen u speciálních případů pomocí stanovení anti-FXa aktivity.[26]

2.2. Bivalirudin

Bivalirudin je antikoagulační léčivo synteticky odvozené od přirozené látky hirudin, který byl původně nalezen jako přirozená protisrážlivá látka ve slinách pijavice. Hirudin působí jako přímý inhibitor trombinu, se kterým vytváří ireverzibilní komplex.

Bivalirudin se oproti hirudinu na trombin váže reverzibilně. Na rozdíl od léčby hepariny je jeho výhodou, že funkce není závislá na antitrombinu a není inaktivován heparinázami. Nevýhodou je úzké terapeutické okno, tudíž potřeba monitorovat léčbu. Podává se parenterálně. Komerční léčiva využívající látku bivalirudin používané jsou Angiomax nebo Angiox. V České republice nejsou tato léčiva registrovaná.[27]

Indikace: Při rozvoji HIT.[27]

Monitorování: Účinek bivalirudinu je kontrolován pomocí testu APTT nebo ACT (aktivovaný koagulačním test).[2]

2.3. Kumarinové preparáty (VKA)

Kumarinové preparáty, označované také jako VKA (Vitamin K antagonists), jsou deriváty kumarinů působící jako antagonisté vitamínu K a patří mezi nepřímá antikoagulantia. Vitamin K je potřebný pro správnou funkci vitamin K dependentních koagulačních faktorů II, VII, IX a X, dále také protein C a S. Kumarinové deriváty mají podobnou strukturu jako vitamin K a blokují karboxylaci γ -glutamátových zbytků koagulačních faktorů. Koagulační faktory jsou sice přítomny, ale po vazbě na fosfolipidy nevykazují koagulační aktivitu a vznikají tzv. PIVKA faktory (Protein induced by vitamin K absence). Důsledkem blokování aktivní formy vitamínu K dochází ke snížené jaterní syntézy koagulačních faktorů závislých na vitamínu K. Tento proces je pomalý a nástup účinku se projevuje až po několika dnech, proto nejsou kumarinové preparáty vhodné pro akutní léčbu, ale spíše pro dlouhodobou nebo i celoživotní profylaxi. Mezi nejpoužívanější patří Warfarin, dále pak dříve používaný Pelentan, který již není registrovaný.[12] Výhodou je perorální podávání.[22]

2.3.1. Warfarin

Warfarin byl po heparinu dalším přínosným objevem v antikoagulační léčbě a do klinické praxe byl zaveden v 50. letech 20. století. Přesný mechanismus účinku, kdy se zjistilo, že warfarin inhibuje vitamin K reductázu, byl popsán až v 70. letech.[28] Aplikace warfarinu je perorální, což je výhodné pro dlouhodobé podávání v profylaxi. Léčba je ale provázena také řadou úskalí. Problematická je především farmakokinetika, úzké terapeutické okno, lékové a potravinové interakce a potřeba pravidelné kontroly léčby. Při předávkování dochází ke zvýšené krvácivosti. Warfarin je nejpoužívanějším lékem mezi kumariny a jeho využití bylo velmi rozšířené po dobu více než 60 let

až do začátku 21. století, kdy se na trh dostala nově zavedená perorální antikoagulancia (NOAC).[20]

Indikace: Indikováno pro léčbu tromboembolických onemocnění či při zvýšeném riziku jejich vzniku z preventivních důvodů. Není vhodný pro akutní případy. V akutních případech lze kombinovat s heparinovou léčbou. Nejdříve se v akutní fázi podává nízkomolekulární heparin (nástup rychlého účinku), dále se souběžně po dobu 5 dní podává s warfarinem (nástup účinku trvá několik dní), poté se pokračuje léčbou jen warfarinem.[2] Není vhodné pro gravidní a pacienty s renální insuficiencí.[26]

Monitorování: Léčba je monitorována protrombinovým časem (PT) pomocí mezinárodního normalizovaného poměru INR. Doporučení pro pacienty léčené warfarinem je INR v rozmezí 2-3. Normalizace dávkování může trvat i několik měsíců, vzhledem k úzkému terapeutickému oknu, je potřeba najít ideální stav mezi hyperkoagulací a hypokoagulací.[29]

2.3.2. Pelentan

Pelentan je druhým zástupcem kumarinových preparátů, který se již dnes nepoužívá pro řadu omezení. Před zavedením Warfarinu byl Pelentan standardně využíván, postupně byl zcela nahrazen Warfarinem. Oproti Warfarinu je Pelentan rychleji metabolizován, proto bylo potřeba častějšího dávkování, jinak docházelo k výraznému kolísání účinku.[30]

Indikace: Stejně jako u Warfarinu.

Monitorování: Stejně jako u Warfarinu.

Tabulka č. 3

Přehled základních vlastností heparinů, pentasacharidů a VKA

	Hepariny		Pentasacharidy	VKA
	UFH	LMWH		
Cesta podání	i.v., s.c.	s.c.	s.c	p.o.
Nástup účinku	i.v. ihned s.c. do 30 min	30 min	30 min	hodiny
Maximální účinek	pár minut po podání	1-2 h	1-2 h	dny
Antidotum	protaminsulfát	protaminsulfát	není	vitamin K, preparáty koagulačních faktorů
Odeznění účinku po vysazení	hodiny	hodiny	hodiny	dny
Riziko osteoporózy	ano	ano	ne	ne

[22][26]

Legenda:

i.v. intravenózní aplikace

s.c. subkutánní aplikace

p.o. perorální aplikace

2.4. Nová perorální antikoagulancia (NOAC)

Donedávna byl warfarin lékem první volby používaný v antikoagulační léčbě. Vzhledem k jeho nežádoucím účinkům, problematické farmakokinetice a omezením, byla snaha vyvinout antikoagulancia se srovnatelnou účinností, ale bezpečnější, zbavena rizik spojená s užíváním warfarinu. Přínos warfarinu vidíme spíše za dob minulých, kdy byl jediným dostupným perorálním antikoagulanciem.[31] Nevýhody ostatních antikoagulancií byly především v parenterální aplikaci a dalších farmakokinetických problémech. Všechna tato omezení se výzkumné laboratoře snažily eliminovat a došlo

k vývoji nových selektivních antikoagulačních léčiv (NOAC = Novel Oral Anticoagulants), zaměřených na přímou inhibici konkrétních faktorů koagulační kaskády. V poslední době se také můžeme setkat s názvem Přímá perorální antikoagulantia (DOAC = Direct Oral Anticoagulants), který je přesnější.

Zkoumalo se více cest, jak zajistit efektivní inhibici v koagulační kaskádě, ve fázi testování byly například inhibitory TFPI, FV, FVII nebo FXII. Vzhledem k jejich nízké účinnosti a řadě nežádoucích účinků však nebyla optimální pro zavedení do klinické praxe. Po letech výzkumu se osvědčila blokáda trombinu a aktivovaného faktoru X. Podle místa účinku v koagulační kaskádě se označují jako přímé inhibitory trombinu – gatrany (dabigatran) a přímé inhibitory FXa – xabany (rivaroxaban, apixaban, edoxaban).

Výhody DOAC oproti předešlým antikoagulantům jsou perorální podávání, rychlý nástup účinku, předvídatelný efekt, nižší riziko krvácení, širší terapeutické okno a menší lékové a potravinové interakce. Jsou tedy bezpečnější a není třeba je rutinně monitorovat. Jejich účinek je srovnatelný se staršími antikoagulanty. Jejich nevýhodou je finanční nákladnost léčby.[26]

2.4.1. Gatrany

Gatrany jsou perorálně podávaná přímá selektivní antikoagulantia inhibující trombin. Mechanismus účinku pracuje na principu kompetitivní inhibice. Nejdříve byl vyvinut ximelagatran, ale chvíli po zavedení do praxe byl stažen z trhu a to z důvodu podezření rozvoje hepatopatií.

V roce 2008 byl zaveden dabigatran (Pradaxa), jedná se o přímý reverzibilní selektivní inhibitor trombinu, který se selektivně váže na katalytické místo trombinu, výhodou je i schopnost inhibovat trombin ve fibrinové síti (což starší antikoagulantia působící na trombin neuměla). Oproti nepřímým inhibitorům trombinu (například hepariny) není potřeba přítomnost antitrombinu, díky čemuž je léčba spolehlivější a je možné ji využít i při deficitu antitrombinu. Dabigatran se podává perorálně ve formě proléčiva (dabigatran etexilát), který je metabolizován na aktivní formu (dabigatran). Aktivní forma léčiva se pak z 80 % eliminuje ledvinami a z 20 % játry.

Delší doba působení umožňuje podávání v jedné nebo dvou dávkách denně, což je velmi výhodné, méně časté dávkování napomáhá k vyšší compliance pacienta.[26]

Po pár letech od zavedení dabigatranu do praxe bylo schváleno jeho antidotum idarucizumab (Praxbind). Idarucizumab je nekompletní protilátka namířena proti dabigatranu, mechanismus účinku funguje na vyšší afinitě dabigatranu k protilátce než k trombinu. Možnost použití antidota při léčbě gatranu bylo pro lékaře velkou pomocí a je tedy možnost bezpečně zvrátit účinek dabigatranu.[32] Dabigatran není vhodný pro pacienty s těžkou renální insuficiencí.[26]

Indikace: Prevence cévní mozkové příhody, žilních trombóz u ortopedických a dalších větších operačních zákroků. Dále se využívá v léčbě plicní embolie a jejich recidivy.[27]

Monitorování: Není nutné. V případě potřeby je vhodné monitorování pomocí dilutovaného trombinového času (dTT). Doporučen používat komerční test Hemoclot (direct trombin inhibitor assai – kalibrovaný dilutovaný TT).[26]

2.4.2. Xabany

Xabany jsou přímé selektivní inhibitory aktivovaného faktoru X, vyvíjené souběžně s přímými inhibitory trombinu. Na rozdíl od dabigatranu nejsou podávány ve formě proléčiva, ale již ve formě aktivní látky, způsob podání je stejný jako u dabigatranu perorálně. Název je odvozen od místa působení cílového faktoru, kterým je Xa – proto xabany. Výhody léčby xabany jsou obdobné jako při léčbě gatranu.

Mezi xabany dnes běžně dostupné a hojně využívané patří:

- rivaroxaban (Xarelto),
- apixaban (Eliquis),
- edoxaban (Lixiana).

Mechanismus účinku xabanů je založen na specifické kompetitivní inhibici FXa, při které dochází k zamezení aktivace protrombinu. Účinek se projevuje, díky přímé inhibici i u pacientů s deficiencí antitrombinu.

Rivaroxaban byl zaveden jako první přímý inhibitor FXa, zanedlouho poté se k němu přidal další ze xabanů a tím je apixaban. Rivaroxaban a apixaban mají obdobné farmakokinetické vlastnosti. Mezi hlavní výhody patří schopnost inhibice volného i vázaného FXa v protrombinovém komplexu, neobjevují se tedy druhotné aktivace koagulační kaskády po uvolnění trombinu z koagula. Afinita je dokonce vyšší k vázanému FXa než k volnému FXa.

Edoxaban je nejnovějším schváleným lékem patřící do skupiny DOAC, mechanismus účinku je stejný jako u rivaroxabanu a apixabanu. Liší se jen pár vlastnostmi. Má například nižší schopnost vazby na bílkoviny, proto je také mírně dialyzovatelný (rivaroxaban a apixaban nikoli).[26]

Jednou z nevýhod xabanů byla nedostupnost antidota, k alespoň částečnému snížení efektu se používal koncentrát protrombinového komplexu. Tuto nevýhodu se ale povedlo v roce 2019 eliminovat, když bylo schváleno nové antidotum pro xabany andexanet alfa (Ondexxya). Andexanet alfa je rekombinantní forma lidského FXa, která samozřejmě není koagulačně aktivní. Specificky vyvazuje inhibitory FXa, tím snižuje jejich aktivitu a dochází k obnově koagulačních dějů.[33]

Indikace: V případě akutní léčby i prevencí tromboembolických příhod či žilních trombóz se používá rivaroxaban a apixaban. Edoxaban se používá spíše v akutních případech léčby. Při renální insuficienci se doporučuje léčba edoxabanem.[26]

Monitorování: Není nutné. V případě nutnosti pomocí aktivity anti-FXa.[26]

Tabulka č. 4

Přehled základních vlastností DOAC

	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban
Cesta podání	p.o.	p.o.	p.o.	p.o.
Nástup účinku	30-60 min	30-60 min	30-60 min	30-60 min
Maximální účinek	2-3 h	2-4 h	2-4 h	1-2 h
Antidotum	idarucizumab	andexanet alfa	andexanet alfa	andexanet alfa
Vazba na protein	nízká	vysoká	vysoká	střední

[26]

2.5. Nová přímá antikoagulancia ve vývoji

I přesto, že jsou léky ze skupiny DOAC vyhovující a výhodné pro antikoagulační léčbu ve srovnání se staršími antikoagulancii, probíhají další klinické studie na vývoj dalších přímých selektivních antikoagulancií. Cílem je další vylepšení léčby, popřípadě snaha eliminace jakýchkoliv nevýhod. Všechna tato léčiva se řadí mezi xabany, tedy přímé inhibitory FXa, tudíž je pro ně také dostupné antidotum andexanet alfa.

Hlavními zástupci jsou:

- Betrixaban (podávání p.o.),
- Darexaban (podávání p.o.),
- Otamixaban (podávání i.v.).

Darexaban i otamixaban byly vyloučeny z klinických studií pro řadu nevyhovujících výsledků ve třetí fázi testování (darexaban vyloučen v roce 2011, otamixaban vyloučen v roce 2013).[34][35]

Velmi slibně vypadá perorální lék betrixaban (Bevyxxa), který byl schválen v roce 2017 potravinovou a lékovou agenturou v USA (FDA) pro použití v klinické praxi jako profylaxe tromboembolických komplikací při hospitalizaci pacienta. Velkou výhodou je dlouhý plazmatický poločas, tudíž nižší frekvence dávkování[36], dále také díky relativně nízkému vylučování přes ledviny a minimálnímu metabolismu v játrech je vhodný pro pacienty s renální insuficiencí a dysfunkcí jater.[37]

3. Monitorování antikoagulační léčby

3.1. Hemokoagulační testy

Hemokoagulační testy se vyšetřují ze vzorku žilní krve odebrané do zkumavky s protisrážlivým činidlem (obvyklým protisrážlivým činidlem pro koagulace je citrát sodný v poměru 1:9, 1 díl citrátu sodného a 9 dílů krve). Při vyšetření koagulací je velmi důležité dodržení preanalytické fáze, především správně provedený odběr, do správných zkumavek a včasné dodání vzorku do laboratoře. Je nutné, aby žádanka obsahovala údaje o dosavadní léčbě pacienta, léčba antikoagulačními přípravky se může projevit na výsledných hodnotách daných testů. Princip koagulačních testů je založen na aktivaci koagulačního systému *in vitro* a jeho schopnosti vytvořit koagulum. V případě koagulační metody je hodnocen čas potřebný k vytvoření koagula. Dále se využívají optické metody, založené na principu sledování množství rozptýleného či odraženého světla na částicích ve vzorku (nefelometrie a turbidimetrie).[38]

Rozdělení koagulačních testů:

- Globální – záchytové, vyšetření celého koagulačního systému,
- Skupinové – zaměřené již na určitou oblast koagulačního systému,
- Specifické – vyšetření jednotlivých složek koagulačního systému.[7]

Laboratorní hodnoty se liší na základě použitých testů a jsou udávány v jednotkách času nebo jejich poměru k fyziologickým časům. Při správně volené léčbě a správném dávkování se výsledné hodnoty pohybují v ideálním léčebném rozmezí. V případě snížených hodnot (nedostatečný čas) je pacient ohrožen vznikem tromboembolických příhod. Naopak v případě zvýšených hodnot (nadměrný čas) je pacient ohrožen zvýšeným rizikem krvácení.[38]

Antikoagulační léčbu není vždy nutno kontrolovat laboratorními testy u každého pacienta. Nutnost monitorování závisí na zvolené léčbě, podle antikoagulačního přípravku, kterým je pacient léčen, a na individuálních potřebách pacienta.

3.1.1. Protrombinový test (PT)

Protrombinový test je jedním ze základních rutinně vyšetřovaných koagulačních testů. Slouží k monitorování zevní cesty plazmatického koagulačního systému. Sleduje aktivaci protrombinového komplexu s následnou tvorbou trombinu, díky němuž dochází k přeměně fibrinogenu na fibrin.[7] Protrombinový test nám může poukázat na chybění či sníženou aktivitu faktoru II, V, VII a X a fibrinogenu. Výsledný čas je měřen v sekundách, výsledné hodnoty jsou udávány v poměru časů ($R = \text{poměr času plazmy pacienta} / \text{čas normálu}$). Poměr časů se využívá u pacientů neléčených kumariny. Dále je pak využíván vyhodnocení pomocí mezinárodního normalizovaného poměru (INR) a to v případě léčby pacienta kumariny (viz níže).[38]

Princip testu

Sleduje schopnost aktivace protrombinu na trombin zevní koagulační cestou a to přidáním kalciového tromboplastinu (obsahuje Ca^{2+} a TF) k citrátové plazmě. Dochází k aktivní tvorbě koagulačních komplexů. Sledujeme dobu, za kterou se vytvoří první fibrinová koagula.[38]

Význam v antikoagulační léčbě

Protrombinový čas se využívá k monitorování léčby kumarinovými preparáty – klíčové pro kontrolu léčby warfarinem. Možnost využití při podávání vyšších dávek UFH. Orientačně lze využít i pro kontrolu účinnosti inhibitorů FXa (rivaroxaban, apixaban a edoxaban).[7]

Mezinárodní normalizovaný poměr (INR)

INR (International Normalized Ratio) je používán pro léčbu kumariny. Je počítán jako poměr časů ($R = \text{poměr času plazmy pacienta} / \text{čas normálu}$), tento poměr je umocněn na ISI, což je mezinárodní index citlivosti tromboplastinu. INR slouží ke standardizaci výsledků v léčbě warfarinem, eliminuje vliv rozdílných šarží reagensů a srovnatelnost výsledků umožňuje mezilaboratorní srovnání, čímž zjednodušuje sledování kvality léčby.[2]

$$\text{INR} = \left(\frac{\text{čas plazmy pacienta}}{\text{čas plazmy normálu}} \right)^{\text{ISI}}$$

Hodnoty

Fyziologicky: 10-17 s (dle typu použitých reagensů); R = 0,8-1,2

Při léčbě warfarinem: INR = 2-3[2]

3.1.2. Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT)

APTT je dalším ze základních rutinně vyšetřovaných koagulačních testů. Používá se k monitorování vnitřní koagulační cesty. Sledujeme schopnost aktivace přeměny protrombinu na trombin až po vznik fibrinového koagula vnitřní cestou. APTT nám může poukázat na nedostatečnou aktivitu či chybění faktoru II, V, VIII, IX, X, XI a XII a fibrinogenu. Výsledné hodnoty jsou udávány v sekundách nebo v poměru (R).[38]

Princip testu

V přítomnosti fosfolipidů (živočišné, rostlinné nebo syntetické)[7], vápenatých iontů s přísadkou křemičitanů nebo kyseliny elogové dochází v plazmě chudé na destičky (PPP = Platelet-Poor Plasma) k aktivaci protrombinu na trombin vnitřní koagulační cestou. Dochází k aktivní tvorbě koagulačních komplexů. Sledujeme dobu, za kterou se vytvoří první fibrinová koagula.[38]

Význam v antikoagulační léčbě

APTT je významný v monitorování léčby UFH. Lze podle něj kontrolovat správnost podaných dávek, popřípadě upravit dávkování dle potřeb pacienta. Dochází až k trojnásobnému prodloužení APTT.[20]

APTT je možno dále využít k monitorování bivalirudinu nebo k orientačnímu sledování dabigatranu, ale jedná se pouze o kvalitativní ukazatel.[7]

Hodnoty

Fyziologicky: 25-40 s (dle typu použitých reagensí)

Při léčbě UFH: až trojnásobné prodloužení času, R = 2-4

Při léčbě bivalirudinem: R = 1,2-2 (za 4 hod po podání)[2]

3.1.3. Aktivovaný koagulační čas (ACT)

Aktivovaný koagulační čas (ACT = Activated clotting time) je skupinový test, sledující stejně jako APTT vnitřní koagulační cestu, ale na rozdíl od testu APTT bez přítomnosti Ca^{2+} a fosfolipidů. Mezi největší výhody patří možnost stanovení přímo na klinickém pracovišti a jednoduchost provedení.[38]

Princip testu

Aktivace koagulační kaskády se nastartuje pomocí aktivačních látek (silica, celit nebo kaolin) a to bez přítomnosti vápenatých iontů a fosfolipidů. Dochází k tvorbě fibrinu, který je měřen mechanickými nebo optickými metodami.[38]

Význam v antikoagulační léčbě

Kontrola léčby při vysokých dávkách UFH, dále je také možné využití při léčbě LMWH a bivalirudinem, ale citlivost testu k těmto léčivům je nízká.[38]

Hodnoty

Fyziologicky: 120-180 s

Při léčbě UFH: 300-600 s[38]

3.1.4. Trombinový čas (TT)

Trombinový čas je spíše orientační test vnitřní cesty koagulačního systému. Sleduje poslední část koagulační kaskády a to štěpení fibrinogenu na fibrin trombinem. Výsledné hodnoty jsou udávány v sekundách nebo v poměru stejně jako u předešlých testů.[2]

Princip testu

K neředěné plazmě pacienta se přidává malé množství trombinu. Sledujeme čas potřebný k vytvoření fibrinového koagula.[2]

Význam v antikoagulační léčbě

V souvislosti s antikoagulační léčbou je možné TT využít při kontrole léčby UFH, vhodnější je test APTT, který vykazuje vyšší specifitu.[2] Dále je možná kontrola léčby dabiagranem, ale jedná se pouze o kvalitativní ukazatel.[39]

Hodnoty

Fyziologicky: 12-22 s (dle typu použitých reagensů); R = 0,8-1,2[38]

Při léčbě UFH: dochází k prodloužení TT.[2]

3.1.5. Reptilázový čas (RT)

Reptilázový test je modifikovaný TT. Reptiláza je enzym z hadího jedu patřící mezi proteázy a je schopna vykazovat podobnou aktivitu jako trombin a štěpit fibrinogen na fibrin. Oproti trombinu odštěpuje z fibrinogenu pouze fibrinopeptid A a neovlivňuje žádné další koagulační faktory. Tento test není ovlivněn léčbou heparinem.[38]

Princip testu

Reptiláza se přidá k plazmě pacienta a měří se čas, za který se vytvoří fibrinové koagulum. Reptiláza štěpí fibrinogen na fibrin bez jakékoliv aktivace vnitřní nebo vnější cesty koagulace a bez přítomnosti Ca^{2+} . Dochází k odštěpení fibrinopeptidu A z fibrinogenu, vzniklé monomery polymerují.[38]

Význam v antikoagulační léčbě

RT není ovlivněn léčbou heparinu. Slouží ke zjištění, zda je prodloužení TT způsobeno vlivem heparinu nebo jinými faktory.[7]

Hodnoty

Fyziologicky: 12-22 s (dle typu použitých reagensů)[7]

3.1.6. Dilutovaný trombinový čas (dTT)

Jedná se o modifikaci trombinového času. Používá se kalibrovaný test Hemoclot. Dilutovaný trombinový čas je speciální kvantitativní test stanovující plazmatickou koncentraci léčiva. [40]

Princip testu

K plazmě pacienta se přidává vysoce purifikovaný lidský trombinu. Čas potřebný k vytvoření koagula závisí na koncentraci léčiva v plazmě.[40]

Význam v antikoagulační léčbě

Vhodný ke sledování léčby dabigatranem a dalších přímých inhibitorů trombinu jako je například bivalirudin.[40]

Hodnoty

Udává se přesná koncentrace léčiva v ng/ml, hodnoty jsou závislé na množství podaného léčiva.[40]

3.1.7. Ekarinový srážecí test (ECT)

Speciální a velmi specifický test pro přímé inhibitory trombinu. Používá se hadí jed ekarin, který specificky aktivuje trombin. Test je velmi citlivý, ale je obtížná standardizace a finanční nákladnost, z těchto důvodů se běžně nepoužívá.[41]

Princip testu

Hadí jed ekarin specificky aktivuje trombin. Tímto testem je možné přímo měřit aktivitu léčiva. Tento test lze využít pouze u těch léčiv, která mají povahu přímých inhibitorů trombinu.[41]

Význam v antikoagulační léčbě

Vhodný ke sledování léčby dabigatranem a dalších přímých inhibitorů trombinu jako je například bivalirudin. [40]

Hodnoty

Udává se přesná koncentrace léčiva.[40]

3.2. Metoda chromogenního substrátu

3.2.1. Stanovení anti-FXa aktivity

Jedná se o specifický test využívající metody chromogenních substrátů. Slouží ke stanovení zbytkové aktivity aktivovaného faktoru X. Test je předkalibrovaný přímo pro určité léčivo.[38]

Princip testu

K plazmě pacienta a směsi substrátu je přidán nadbytek FXa. Dochází k rozštěpení chromogenního substrátu za vzniku barevného produktu, který je měřen spektrofotometricky. Množství substrátu je nepřímo úměrné koncentraci léčiva v plazmě pacienta.[38]

Význam v antikoagulační léčbě

Stanovení aktivity FXa se využívá k monitorování LMWH, xabanů a pentasacharidů. Většinou však není sledování léčby u těchto léčiv nutné. Provádí se jen u vybraných pacientů, například u gravidních, pacientů s renální insuficiencí nebo pacientů s vysokým rizikem recidivy tromboembolických onemocnění.[24][26]

Hodnoty

LMWH při profylaxi: 0,2 – 0,4 IU/ml

LMWH při léčbě: 0,5 – 1,0 IU/ml[38]

Při léčbě xabany: koncentrace léčiva v ng/ml, hodnoty jsou závislé na množství podaného léčiva.[39]

Při léčbě pentasacharidů: koncentrace léčiva mg/ml, hodnoty jsou závislé na množství podaného léčiva.[42]

Tabulka č. 5

Přehled testů používaných k monitorování jednotlivých léčiv

	PT	APTT	ACT	TT	dTT	ECT	anti-FXa
UFH	(✓)	✓	(✓)	(✓)			
LMWH			(✓)				✓
Pentasacharidy							✓
VKA	✓						
Bivalirudin		(✓)	(✓)		✓	✓	
Dabigatran		(✓)		(✓)	✓	✓	
Rivaroxaban	(✓)						✓
Apixaban	(✓)						✓
Edoxaban	(✓)						✓

Legenda:

✓ vhodné použití testu k monitorování daného léčiva

(✓) test je možné použít spíše k orientačnímu měření daného léčiva

4. Novinky v monitorování antikoagulační léčby

4.1. Automatizace metod

Jedním z největších trendů v klinických laboratořích je automatizace metod. Automatizací odpadá rizika chyb způsobených lidským faktorem, kontakt odpovědných pracovníků s infekčním materiálem, zároveň je zajištěna vyšší přesnost a citlivost metod. Důraz je kladen na správnou interpretaci a komentování výsledků. Je nutná znalost obsluhování analyzátoru odpovědným pracovníkem.

Vývoj metod detekující koagulační děje začal již na počátku 20. století. Počátky automatizace koagulačních metod jsou však datovány až v 60. letech 20. století. Patentované principy koagulometrů byli zaznamenány v 70. letech 20. století, což bylo velkou pomocí při monitorování antikoagulační léčby. Prvními přístroji byli Amelung a Schnitger und Gross a jejich zavedení do hematologických laboratoří se datuje mezi 70. – 80. léty 20. století. Dnes jsou přístroje pro měření koagulací plně automatizovatelné a dokonce jsou koagulometry součástí automatických linek.[43]

4.2. Nové metody

Monitorování koagulace se stalo klíčovým pro diagnostiku příčin krvácení, vývoj antikoagulačních léků nebo hodnocení rizika krvácení při rozsáhlých chirurgických zákrocích. Postupem času byly vyvinuty nové pokročilé technologie založené na různých principech jako je například mikrofluidní technologie, fluorescenční technologie, elektrochemické snímání, fotoakustická detekce a mikro/nano elektromechanické měření. Tato zařízení měří elektrochemické, optické a mechanické parametry srážení krve, které lze spojovat s metodami pracující s propustností nebo rozptylem světla, elektrickou impedancí a viskoelastickými vlastnostmi. Kromě toho byly zavedeny komerční produkty, u kterých se dá předpokládat, že se jedná o trend budoucnosti v monitorování koagulací, včetně zavedení nových antikoagulačních terapií, multiplexových snímacích platforem a aplikace umělé inteligence v diagnostice a monitorování.[44]

4.2.1. Mikrofluidní technologie

Nedávným pokrokem byla mikrofluidní technologie, která umožňuje simulovat proces srážení krve za fyziologických podmínek a studovat události na molekulární úrovni. Fluorescenční zobrazování a cílení na různé částice pomocí fluorescenčních sond v mikrofluidních kanálech navíc usnadňuje přesné a multiplexní pochopení interakcí a původu defektů krevního srážení. Pro budoucí multiplexní analýzu krve lze použít i další platformy, jako jsou odstředivá mikrofluidní zařízení usnadňující oddělení různých krevních složek.[44]

4.2.2. Fluorescenční technologie

Mikrofluidní technologie byla použita k vývoji monitorovacích zařízení pro koagulaci krve za účelem diagnostického využití. Mnoho z nich však trpí variabilitou a nepřesností částečně kvůli tomu, že detekují pouze změny v obecných vlastnostech srážení a neodrážejí mikroskopickou povahu koagulace krve. Využívá se kombinace metod s fluorescenčně značeným fibrinogenem k detekci tvorby mikroskopické sraženiny. Fluorescenčně značené vzorky vykazují změny v intenzitě fluorescence v důsledku začlenění fluoroforu do vytvářejících se mikrosraženin. Bylo zjištěno, že změna distribuce fluorescence ve vzorku v průběhu času byla vynikajícím ukazatelem nástupu koagulace, který lze použít ke stanovení doby srážení.[45]

4.2.3. Fotoakustická technologie

Fotoakustické zobrazování je založeno na laserem indukovaných akustických vibracích ve tkáni, které mají výhodu hlubokého pronikání akustických vln i vysokého kontrastu optického zobrazování.[44]

Fotoakustická detekce je vhodná pro monitorování cirkulujících sraženin v reálném čase, monitorování srážení krve v tkáni a terapeutické monitorování heparinu. Pro *in vivo* detekci stádia hluboké žilní trombózy se používají kombinované ultrazvukové a fotoakustické techniky. V tomto ohledu je fotoakustická technika velmi slibná, protože ji lze použít v reálném čase i *in vivo*. [44]

4.2.4. Nanotechnologie

Zájem o nanomedicínu v posledních desetiletích stoupá. Velkým pokrokem v posledních letech byl vývoj nanomateriálů pro detekci a léčbu komplikací spojených se srážením krve, což otevírá nové možnosti v oblasti kontroly a monitorování antikoagulační léčby.[44]

Nanomedicína v oblasti srážení krve zkoumá biokompatibilitu nanomateriálů včetně jejich antikoagulačních vlastností. Studují se antikoagulační vlastnosti nanomateriálů jako jsou kovové nanočástice (zlato, stříbro a platina), nanočástice oxidu titanu a oxidu zinečnatého, uhlíkové nanomateriály a nanodráty. Při studiích bylo zjištěno, že mohou být úspěšně využívány při antikoagulační léčbě nebo při diagnostice onemocnění. Nanočástice mohou specificky interagovat s koagulačním systémem. Obecně může tato interakce probíhat dvěma různými způsoby a to kontaktem s plazmatickými koagulačními faktory nebo interakcí s buňkami, jako jsou epitelální buňky, monocyty a krevní destičky.[44]

Závěr

I přes vývoj nových antikoagulancií mají starší antikoagulancia stále významné zastoupení v léčbě či profylaxi tromboembolismu. Neopomenutelným je jeden z prvních perorálních antikoagulancií a to warfarin. Warfarin je stále velmi používaným lékem v antikoagulační léčbě i přesto, že na trhu jsou dostupná novější přímá perorální antikoagulancia. Tato léčiva mají sice řadu výhod oproti warfarinu, ale warfarin je stále výrazně levnější variantou a také je možné téměř okamžité zvrácení jeho účinku pomocí substituce koagulačních faktorů. DOAC mají sice dostupná antidota, ale z důvodu vysoké ceny nejsou v praxi běžně dostupné k okamžitému použití, což je při krvácení velkou komplikací. Další skutečností je, že DOAC mohou předepisovat jen určení specialisté, například hematologové, na rozdíl od ostatních antikoagulancií, která mohou předepisovat i lékaři bez potřebné specializace. Dále bych chtěla zmínit, že bez hematologických laboratoří by se antikoagulační léčba jen těžko obešla. Sledování antikoagulační léčby laboratorními testy je klíčové pro správnou léčbu. Samozřejmostí je monitoring léčiv, u kterých je sledování vyžadováno, ale v neposlední řadě je využíván u pacientů s individuálními potřebami, kdy je nutné monitorovat i léčiva, která za normálních okolností monitoring nevyžadují.

Použité zkratky

α_2 AP	alfa ₂ -antiplazmin
α_2 MG	alfa ₂ -makroglobulin
ACT	aktivovaný koagulační čas
ADP	adenosintrifosfát
APC	aktivovaný protein C
APC-R	rezistence na aktivovaný protein C
APA	antifosfolipidové protilátky
APS	antifosfolipidový syndrom
APTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
AT	antitrombin
CD62	P selektin
DIC	diseminovaná intravaskulární koagulace
DOAC	přímá perorální antikoagulancia
dTT	dilutovaný trombinový čas
ECM	extracelulární matrix
ECT	ekarinový srážecí test
FBG	fibrinogen
FDA	potravinová a léková agentura v USA
FDP	fibrinogen degradační produkty
FI, FIa	faktor I, fibrinogen a jeho aktivovaná forma
FII	faktor II, protrombin

FIIa	faktor II, trombin (aktivovaná forma)
FIII	faktor III, tkáňový faktor (TF)
FIV	faktor IV, vápenaté ionty
FV, FVa	faktor V, proakcelerin a jeho aktivovaná forma
FVII, FVIIa	faktor VII, prokonvertin a jeho aktivovaná forma
FVIII, FVIIIa	faktor VIII, antihemofilický faktor a jeho aktivovaná forma
FIX, FIXa	faktor IX, Christmasův faktor a jeho aktivovaná forma
FX, FXa	faktor X, Stuartův–Prowerův faktor a jeho aktivovaná forma
FXI, FXIa	faktor XI, Rosenthalův faktor a jeho aktivovaná forma
FXII, FXIIa	faktor XII, Hagemanův faktor a jeho aktivovaná forma
FXIII, FXIIIa	faktor XIII, faktor stabilizující fibrin a jeho aktivovaná forma
GDP	guanosindifosfát
GTP	guanosintrifosfát
HIT	heparinem indukovaná trombocytopenie
HMWK	vysokomolekulární kininogen
Ka	α kalikrein
INR	mezinárodní normalizovaný poměr
i.v.	intravenózní aplikace
LA	lupus antikoagulans
LMWH	nízkomolekulární heparin
NOAC	nová perorální antikoagulancia
PAI	inhibitor aktivátoru plazminogenu
PC	protein C

PCI	inhibitor proteinu C
PDGF	destičkový růstový faktor
PF4	destičkový faktor 4
PIVKA	protein induced by vitamin K absence
PL	fosfolipidy
p.o.	perorální aplikace
PPP	plazma chudá na destičky
PS	protein S
PT	protrombinový test
R	poměr
RT	reptilázový test
s.c.	subkutánní aplikace
TAFI	trombinem aktivovaný inhibitor fibrinolýzy
TF	tkáňový faktor
TFPI	tkáňový inhibitor zevní koagulační cesty
tPA	tkáňový aktivátor plazminogenu
TT	trombinový test
UFH	nefrakciovaný heparin
uPA	urokinázový aktivátor plazminogenu
VKA	kumarinové preparáty
vWF	von Willebrandův faktor

Seznam tabulek

Tabulka č. 1.....	15
Tabulka č. 2.....	32
Tabulka č. 3.....	37
Tabulka č. 4.....	41
Tabulka č. 5.....	51

Seznam obrázků

Obrázek č. 1	22
--------------------	----

Použitá literatura

[1] HULE, Vilém a Mikuláš HRUBIŠKO. Hematologie a krevní transfúze: učební text pro střední zdravotnické školy, obor zdravotních laborantů. 3. přeprac. vyd. (1. české vyd.). Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1969, 279 stran. [Použité strany: 101-102]

[2] PENKA, Miroslav a Eva SLAVÍČKOVÁ. Hematologie a transfuzní lékařství. Praha: Grada, 2011, 421 stran. ISBN 978-80-247-3459-0. [Použité strany: 31-56; 98-100; 275-278]

[3] Josef Fontana a Petra Lavříková, skripta [online], [citováno 09.10.2020], Dostupné z: <http://fbt.cz/skripta/v-krev-a-organy-imunitniho-systemu/4-hemostaza/>

[4] TROJAN, Stanislav. Lékařská fyziologie. Vyd. 3., dopl. a rozš. Praha: Grada, 1999, 612 stran. ISBN 80-7169-788-5. [Použité strany: 113-122]

[5] PENKA, Miroslav a Alena BULIKOVÁ. Neonkologická hematologie. 2., dopl. a zcela přeprac. vyd. Praha: Grada, 2009, 240 stran. ISBN 978-80-247-2299-3. [Použité strany: 127-130]

[6] Příspěvatelé WikiSkript, Hemokoagulace [online], , c2017, Datum poslední revize 17. 01. 2017, 18:14 UTC, [citováno 11. 10. 2020] Dostupné z: <https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Hemokoagulace&oldid=368521>

[7] ZIMA, Tomáš. Laboratorní diagnostika. 3., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Galén, c2013, 1146 stran. ISBN 978-80-7492-062-2. [Použité strany: 67-71; 74-75]

[8] PENKA, Miroslav, Igor PENKA a Jaromír GUMULEC. Krvácení. Praha: Grada, 2014, 328 stran. ISBN 978-80-247-0689-4. [Použité strany: 20; 27-28; 127]

[9] Weisel JW. Fibrinogen and fibrin. Adv Protein Chem. 2005;70:247-99. doi: 10.1016/S0065-3233(05)70008-5. PMID: 15837518.[PubMed] [citováno 11.10.2020]
Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15837518/>

[10] Collen D. Natural inhibitors of fibrinolysis. J Clin Pathol Suppl (R Coll Pathol). 1980;14:24-30. PMID: 6448870; PMCID: PMC1347101. [PMC] [citováno 27.10.2020]
Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1347101/pdf/jclinpath00431-0029.pdf>

[11] Crippa MP. Urokinase-type plasminogen activator. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39(4):690-4. doi: 10.1016/j.biocel.2006.10.008. Epub 2006 Oct 21. PMID: 17118695. [PubMed] [citováno 27.10.2020] Dostupné z:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17118695/>

[12] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu*. Český Těšín: Finidr, 2004, 237s. ISBN 80-86682-00-5. [Použité strany: 153; 214-215]

[13] Doherty TM, Kelley A. Bleeding Disorders. [Updated 2020 Aug 12]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan-. [citováno 13.12.2020] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541050/>

[14] P. Salaj, Vrozené a získané krvácivé stavy [online]; odborný časopis, Vnitřní lékařství, číslo 5/2018; [citováno 17.12.2020] Dostupné z:

<https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2018-5-1/vrozene-a-ziskane-krvacive-stavy-105475>

[15] Costello RA, Nehring SM. Disseminated Intravascular Coagulation. [Updated 2020 Jul 17]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 Jan. [citováno 17.12.2020] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441834/>

[16] Senst B, Tadi P, Goyal A, et al. Hypercoagulability. [Updated 2021 Jan 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. [citováno 10.2.2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538251/>

[17] KVASNIČKA, Jan. Trombofilie a trombotické stavy v klinické praxi. Praha: Grada, 2003, . ISBN 80-7169-993-4. [použité strany: 33-67]

[18] Previtali E, Bucciarelli P, Passamonti SM, Martinelli I. Risk factors for venous and arterial thrombosis. Blood Transfus. 2011;9(2):120-138. doi:10.2450/2010.0066-10 [citováno 10.2.2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3096855/>

[19] Rumbaut RE, Thiagarajan P. Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2010. Chapter 6, Arterial, Venous, and Microvascular Hemostasis/Thrombosis. [citováno 11.2.2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK53453/>

[20] Franchini M, Liembruno GM, Bonfanti C, Lippi G. The evolution of anticoagulant therapy. *Blood Transfus.* 2016;14(2):175-184. doi:10.2450/2015.0096-15[citováno 14-2-2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4781787/>

[21] Příspěvatelé WikiSkript, Antikoagulancia [online], , c2020, Datum poslední revize 24. 04. 2020, 19:36 UTC, [citováno 14. 2. 2021] Dostupné z:

<https://www.wikiskripta.eu/index.php?title=Antikoagulancia&oldid=437900>

[22] KESSLER, Petr. Léčba orálními antikoagulancii.[online], [citováno 16.2.2021] Dostupné z:

http://www.warfarin.cz/downloads/lecba_oralnimi_antikoagulancii.pdf

[23] Příspěvatelé Wikipedie, *Antikoagulans* [online], Wikipedie: Otevřená encyklopedie, c2020, Datum poslední revize 30. 12. 2020, 10:22 UTC, [citováno 16. 02. 2021] Dostupné z:

<https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Antikoagulans&oldid=1930445>

[24] KVASNIČKA, Tomáš. Doporučení, indikace a dávkování LMWH. 2021. Kurz[online] [citováno 17.2.2021] Dostupné z:

<https://www.prolekare.cz/kreditovane-kurzy/doporuceni-indikace-a-davkovani-lmwh-106724/doporuceni-indikace-a-davkovani-lmwh-1>

[25] DOSTÁL, Ondřej a další. Fondaparinux II. interní klinika kardiologie a angiologie VFN a 1. LF UK, Praha. 2009;8(3), [online], [citováno 17.2.2021] Dostupné z:

<https://www.iakardiologie.cz/pdfs/kar/2009/03/08.pdf>

[26] KARETOVÁ, Debora a Jan BULTAS. Farmakoterapie tromboembolických stavů. 3. rozšířené a aktualizované vydání. Praha: Maxdorf, 2015, 256 stran. Farmakoterapie pro praxi. ISBN 978-80-7345-459-3. [použité strany 67-69; 72-122]

[27] PENKA, Miroslav a další. Ohlédnutí za vývojem antitrombotické profylaxe s akcentem na posledních 25 let. Časopis, Transfuze a hematologie dnes, 25, 2019, No. 1, p. 56-64.

[28] MICHALCOVÁ, Jana a další. Postavení warfarinu v současné době. Časopis Vnitřní lékařství 2017; 63(12): 957-966;[online] [citováno 19.2.2021] Dostupné z:

<https://www.prolekare.cz/casopisy/vnitri-lekarstvi/2017-12/postaveni-warfarinu-v-soucasne-dobe-62650>

[29] Pavlík T. Warfarin – starý známý? Časopis Remedia, 2018; 28: 412–417.[online] [citováno 20.2.2021]Dostupné z:

<http://www.remédia.cz/Okruhy-temat/Farmako-epidemiologie/Warfarin-stary-znamy/8-Y-2BB.magarticle.aspx>

[30] CHLUMSKÝ, Jaromír. Antikoagulační léčba. Praha: Grada, 2005. Malá monografie (Grada), 224 stran. ISBN 80-247-9061-0.[Použité strany: 20]

[31] POHLÍDALOVÁ, a další. Nová antikoagulancia. Časopis Praktické Lékařství 2016; 96(3): 114-121.[online] [citováno 20.2.2021] Dostupné z:

<https://www.prolekare.cz/casopisy/prakticky-lekar/2016-3/nova-antikoagulancia-58493>

[32] KESSLER, Petr. Krvácivé komplikace antikoagulační léčby. Časopis Remedia, 2016(5).[online][citováno 27.2.2021] Dostupné z:

<http://www.remédia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2016/5-2016/Krvacive-komplikace-antikoagulacni-lecby/e-1Yr-28e-2aj.magarticle.aspx>

[33] Connolly S. J., Crowther M., Eikelboom J. W. et al. Full study report of andexanet alfa for bleeding associated with factor Xa inhibitors. N Engl J Med 2019; 380 (14): 1326–1335, doi: 10.1056/NEJMoa1814051. [online][citováno 27.2.2021] Dostupné z:

<https://www.nejm.org/doi/pdf/10.1056/NEJMoa1814051>

[34] Wikipedia contributors. (2021, January 16). Direct Xa inhibitor. In *Wikipedia, The Free*[citováno 27.2.2021] Dostupné z:

https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Direct_Xa_inhibitor&oldid=1000775876

[35] Wikipedia contributors. (2021, January 19). Otamixaban. In *Wikipedia, The Free Encyclopedia*. [citováno 27.2.2021] Dostupné z:

<https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Otamixaban&oldid=1001368397>

[36] ZATLOUKALOVÁ, Anna. Nová přímá perorální antikoagulancia – nové molekuly ve výzkumu. Časopis Klinická farmakologie a farmacie 2020; 34(2): 84–88 [online][citováno 27.2.2021] Dostupné z:

<https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2020/02/08.pdf>

[37] Thoenes M, Minguet J, Bramlage K, Bramlage P, Ferrero C. Betrixaban - the next direct factor Xa inhibitor? *Expert Rev Hematol.* 2016 Dec;9(12):1111-1117. doi: 10.1080/17474086.2016.1256194. Epub 2016 Nov 17. PMID: 27809616. [citováno 27.2.2021] Dostupné z:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27809616/>

[38] PECKA, Miroslav a Milan BLÁHA. *Praktická hematologie: laboratorní metody.* Český Těšín: Infiniti art, 2010. ISBN 978-80-903871-9-5. [Použité strany: 42, 208-215; 223-224; 254-263]

[39] prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc., Mgr. Ivana Malíková. Laboratorní kontrola nových přímých antikoagulancií. *Časopis Remedia* 2014(2).[online][citováno 19.3.2021] Dostupné z:

<http://www.remedia.cz/Okruhy-temat/Laboratorni-diagnostika/Laboratorni-kontrola-novych-primych-antikoagulancii/8-1a-1Eg.magarticle.aspx>

[40] doc. MUDr. Věra Krčová, CSc., MUDr. Antonín Hluší a další. Nová antikoagulancia – možnosti monitorování antikoagulačního účinku (dabigatran). *Časopis Interní medicína* 2012; 14(8 a 9). [online][citováno 19.3.2021] Dostupné z:

<https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2012/09/06.pdf>

[41] A. Buliková, J. Zavřelová a další. Současné možnosti monitorování antitrombotické léčby – nová antitrombotika. *Časopis Kardiologická Revue Interní Medicína*, 2012, 14(2): 97-102. [online][citováno 19.3.2021] Dostupné z:

<https://www.kardiologickarevue.cz/casopisy/kardiologicka-revue/2012-2/soucasne-moznosti-monitorovani-antitromboticke-lecby-nova-antitrombotika-37797>

[42] Johnson PN, Benefield EC, Bui PY, Gausman JN, Marlar RA, Gessouroun MR. Fondaparinux Monitoring: Need for a Local Fondaparinux-Calibrated Anti-Factor Xa Assay. *J Pediatr Pharmacol Ther.* 2013;18(4):318-319. doi:10.5863/1551-6776-18.4.318 [citováno 22.3.2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3979056/>

[43] doc. Mgr Slavík Luděk PhD.. Automatizace v hematologii. Prezentace Hemato-onkologická klinika FN Olomouc. [online][citování 23.03.2021] Dostupné z:

<http://labauto2018.cz/wp-content/uploads/2018/11/Slavik-Labauto.pdf>

[44] Mohammadi Aria M, Erten A, Yalcin O. Technology Advancements in Blood Coagulation Measurements for Point-of-Care Diagnostic Testing. *Front Bioeng Biotechnol.* 2019;7:395. Published 2019 Dec 11. doi:10.3389/fbioe.2019.00395 [citováno 22.4.2021] Dostupné z:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6917661/>

[45] Dudek MM, Kent NJ, Gu P, Fan ZH, Killard AJ. Development of a fluorescent method for detecting the onset of coagulation in human plasma on microstructured lateral flow platforms. *Analyst.* 2011 May 7;136(9):1816-25. doi: 10.1039/c0an00907e. Epub 2011 Feb 4. PMID: 21293802. [citováno 22.4.2021] Dostupné z:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21293802/>