

Stanovení nových přímých antikoagulancií NOAC

L. Slavík

Termínem nová přímá antikoagulancia (NOAC) jsou označovány moderní antikoagulační léky s predikovatelným účinkem, které v klinické praxi nahrazují antagonisty vitamínu K, mezi něž řadíme zejména warfarin.

V klinické praxi se antikoagulační léčba nejčastěji používá při fibrilaci síní (FP), hluboké žilní tromboze, plicní embolii, ischemické chorobě srdeční, cévní mozkové příhodě nebo jako alternativní terapie při heparinem indukované trombocytopenii. Přípravky mají řadu výhod, mezi něž lze považovat predikovatelný účinek a možnost rychlého zrušení antikoagulačního efektu za použití antidota.

Viz. Obr. č.1

Podle mechanismu účinku NOAC rozdělujeme na:

1. Přímé inhibitory trombinu/FXa – inhibují přímou vazbou trombin - gatraný (p.o.) – Dabigatran (Pradaxa)
2. Přímé inhibitory trombinu FXa – působí proti FXa - xabany (p.o.) – Rivaroxaban (Xarelto), Apixaban (Eliquis), Edoxaban (Lixiana)

Výhodou NOAC je to, že v běžné praxi nevyžadují rutinní laboratorní monitorování. Nicméně v některých specifických situacích a u vybraných pacientů má stanovení hladiny význam, jelikož terapeutické koncentrace těchto léků korelují s rizikem jak krvácivých, tak ischemických příhod.

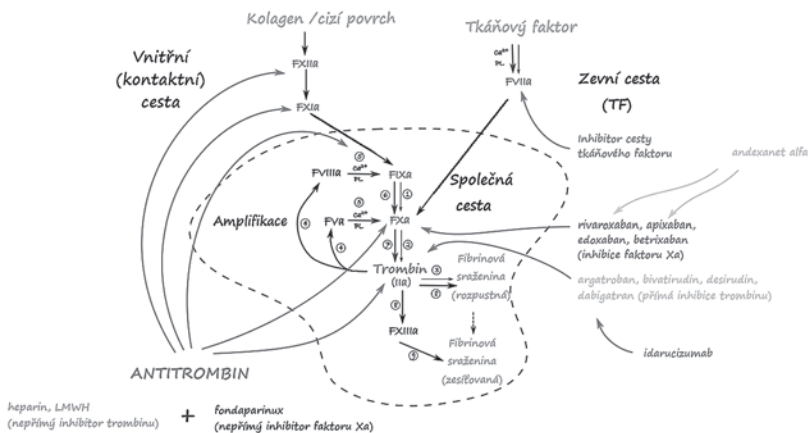
Standardní koagulační testy nejsou však pro tento účel vhodné, jelikož nedisponují dostatečnou citlivostí a klinickou použitelností. Proto je nutné využít až na výjimky specifické testy.

Metody stanovení

Nejpřesnějším způsobem stanovení koncentrace NOAC je kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS), která je však pro rutinní použití nedostupná, využívají ji hlavně výzkumné laboratoře pro sledování farmakokinetiky.

Z testů dostupných v koagulační laboratoři může koncentraci NOAC stanovit speciálními testy, a to jak koagulačními, tak chromogenními metodami. K specifickým testům používaným na stanovení plazmatické koncentrace gatranů patří nejčastěji diluovaný trombinový čas (dTT), méně často se využívá ekarinový koagulační čas (ECT) nebo ekarinová chromogenní metoda (ECA).

Nejpoužívanější metodou je HEMOCLOT™, což je diluovaný trombinový čas (dTT). Stanovení je založeno na principu reakce zředěného testovaného vzorku s normální lidskou plazmou a vysoce purifikovaného lidského trombinu (alfa-trombinu) za tvorby sraženiny. Inhibice alfa-trombinu gatranem je přímo úměrná výslednému srážecímu času. Druhým testem na stejném principu je HemosIL Direct Thrombin Inhibitor (DTI) stanovení, který



Obr. č.1 Schématické znázornění inhibice antikoagulancií

je přesnější v nižších hladinách. Méně užívanou metodou je ECT, který také vykazuje lineární závislost mezi koncentrací gatranů a výsledkem srážecí reakce. Při použití komerčních kalibrátorů testy vykazují značnou shodu s LC MS/MS. Výsledky těchto stanovení nejsou ovlivněny hladinami koagulačních faktorů a inhibitorů v plazmě až na přítomnost lupoidních antikoagulancií.

Koncentrace xabanů (rivaroxaban, apixaban, edoxaban) je možné stanovit chromogenní metodou založenou na inaktivaci faktoru Xa. Pro stanovení xabanů používáme stejný diagnostický test jako na stanovení LMWH, který je však kalibrovaný na jednotlivé standardy xabanů.

Principem stanovení antiXa aktivity pro stanovení xabanů (ale i LMWH) je chromogenní reakce monitorující nadbytek FXa po vazbě na xaban rozkladem substrátu. Touto chromogenní metodou je možné stanovit koncentraci rivaroxabanu, apixabanu i fondaparínu (kalibrace se však pro každý lék musí udělat zvlášť pomocí kalibrátorů na rivaroxaban, apixaban, edoxaban resp. LMWH nebo pomocí multikalibrátoru). Zbytková aktivita FXa je stanovována prostřednictvím syntetického chromogenního substrátu. Uvolněný paranitroanilín je měřen kineticky při 405 nm a je nepřímo úměrný hladině heparinu, rivaroxabanu nebo apixabanu ve vyšetřované vzorku.

Viz. Tab. č.1

Vysvětlivky: dTT – diluovaný trombinový čas, DTI – přímý inhibitor trombinu, ECT – Ekarinový koagulační test, ECA - ekarinová chromogenní metoda, NOAC – nové perorální antikoagulační

Omezení speciálních funkčních testů

Specifické testy na NOAC, jak dTT, tak antiXa aktivity poskytují spolehlivé výsledky stanovení NOAC až na některé situace.

Oba testy jsou zásadně ovlivněny přítomností lu-

poidních antikoagulancií, jehož přítomnost nám poskytuje falešně vyšší výsledky. To se jeví značným problémem, jelikož lupoidní antiakogulancia se mohou vyvinout u takřka každého léčeného pacienta a je třeba je identifikovat. Bohužel test pro stanovení lupus antikoagulans dRVVT (diluovaný čas Russelovy zmije) je naopak falešně pozitivní v přítomnosti NOAC. Jedinou možností je zde použití specifického vyvázání NOAC v laboratorních podmínkách pomocí NOAC Stop reagentie (aktivní uhlí absorbující specificky malé molekuly NOAC v plazmě).

Stanovení xabanů pomocí měření antiXa aktivity může být ovlivněno přítomností LMWH, který má stejný mechanismus účinku. Zde je také vhodné k identifikaci původu antiXa inhibiční aktivity eliminovat xabany NOAC Stop procedurou a takto identifikovat, které antikoagulans nám způsobuje inhibici FXa.

Účinky NOAC na rutinní koagulační testy a jejich interpretace

Účinky dabigatranu na koagulační testy jsou úměrné koncentraci gatranů v plazmě. Gatran prodlužují protrombinový čas (PT), aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT) a především trombinový čas in vitro a ex vivo způsobem závislým na koncentraci.

- Dabigatran a rivaroxaban prodlužují PT v závislosti na koncentraci se širokou variabilitou mezi reagentii. PT je méně citlivý na dabigatran jako na rivaroxaban, bez ohledu na použité tromboplastin.
- PT je citlivější než APTT na edoxaban, prodloužení PT je závislé na jeho koncentraci a od použitého tromboplastinu; Jelikož mezinárodní normalizovaný poměr (INR) a mezinárodní index citlivosti (ISI) vycházejí z citlivosti VKA, PT by neměl být vyjádřen jako INR u pacientů léčených NOAC.

Tab. č.1 Citlivost specifických testů na NOAC.

Test	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban	Komentář
dTT/DTI	↑↑	-	-	-	↑↑ citlivý k dabigatranu, necitlivý na NOAC s anti-Xa účinkem
ECT/ECA	↑↑	-	-	-	↑↑ citlivý k dabigatranu, necitlivý na NOAC s anti-Xa účinkem
Anti-Xa aktivita	-	↑↑	↑↑	↑↑	citlivý k NOAC s anti-Xa účinkem, necitlivý k dabigatranu

Vysvětlivky: dTT – diluovaný trombinový čas, DTI – přímý inhibitor trombinu, ECT – Ekarinový koagulační test, ECA - ekarinová chromogenní metoda, NOAC – nové perorální antikoagulační

- APTT se prodlužuje nelineárním způsobem se zvyšováním koncentrace dabigatranu a rivaroxabanu, má nižší citlivost na rivaroxaban jako na dabigatran.
- TT je vysoce citlivý na dabigatran, ale není jím ovlivněna přítomnost přímého inhibitoru anti-Xa. Běžná hodnota TT naznačuje, že je málo nebo nepřítomen dabigatran, ale prodloužený TT nemusí nutně odpovídat vysoké hladině dabigatranu.
- z důvodu používání různých analyzátorů a reagentií, mohou tyto metody vykazovat navzájem odchylky.
- maximální plazmatické hladiny NOAC apixabanu, dabigatranu nebo rivaroxabanu se pozorují přibližně 2 až 4 hodiny po užití.
- eliminace dabigatranu závisí hlavně na renálních funkcích. Proto, pokud je poškozena funkce ledvin, existuje riziko akumulace léčiva, které

je nejvyšší pro dabigatran, po kterém následuje rivaroxaban a potom apixaban, a proto se doporučení pro dávkování liší.

- pokud je příjem NOAC neznámý, doporučuje se: riziko krvácení spojené s dabigatranem je minimalizováno nebo může být zanedbané, pokud je trombinový čas, Hemoclot (DTI) test nebo čas srážení ekarinu normální. Účinky apixabanu a rivaroxabanu lze vyloučit, pokud je stanovení anti Xa aktivity normální. Vysoké plazmatické hladiny NOAC jsou většinou vyloučeny, pokud APTT a PT jsou normální čtyři nebo více hodin po podání NOAC. Normální hodnoty globálních koagulačních testů však nejsou dostačující, pokud je pro léčbu akutní mozkové příhody indikována trombolýza.

*Publikováno se souhlasem autora
a editora Medila Bulletinu - č. 2/2021*

Tab. č.2 Ovlivnění screeningových testů NOAC

Test	Dabigatran	Rivaroxaban	Apixaban	Edoxaban	Komentář
PT	-/↑	↑/↑↑	-/↑	↑↑	Různé reagentie = různá citlivost Pořadí citlivosti: rivaroxaban > dabigatran > apixaban
APTT	↑/↑↑	-/↑	-/↑	↑/↑↑	Různé reagentie = různá citlivost Pořadí citlivosti: dabigatran > rivaroxaban > apixaban
TT	↑↑↑	-	-	-	citlivý na dabigatran, necitlivý na NOAC s anti-Xa účinkem
Fibrinogen	-/↓	-/↓	-/↓	NA	- většina koagulačních testů podle Clausse je necitlivá, ojedinele koagulační a od PT závislé testy ↓ jeho koncentraci
dRVVT	↑↑	↑↑	↑↑	↑	- citlivý ke všem NOAC, třeba konfir- mační reagenti na odlišení od lupus antikoagulans nebo NOAC Stop proceduru