



ISPITIVANJE I USPOREDBA UČINKA KOMERCIJALNE DOAC-STOP TABLETE I *IN HOUSE* OPTIMIRANE METODE S MEDICINSKIM AKTIVNIM UGLJENOM NA UKLANJANJE INTERFERENCIJE DIREKTNIH ORALNIH ANTIKOAGULANTNIH LIJEKOVA U ODREĐIVANJU PRETRAGE LUPUS ANTIKOAGULANS

Sveučilište u Zagrebu

Jelena Buben

UVOD

Liječenje bolesnika direktnim oralnim antikoagulansima (DOAC) ima značajan utjecaj na rezultate pretrage probira na trombofiliju koje se izvode u svrhu utvrđivanja nasljednih i stečenih čimbenika rizika tromboze. Određivanje ovih pretraga koagulacijskim testovima u bolesnika liječenih DOAC lijekovima rezultira lažno negativnim (LN) ili lažno pozitivnim (LP) rezultatima zbog interferirajućeg utjecaja ovih lijekova, zbog čega je njihovo izvođenje potrebno odgoditi do završetka terapije kako bi se spriječilo pogrešno tumačenje rezultata i posljedično postavljanje pogrešne dijagnoze. Jedna od neizostavnih pretraga u sklopu probira na trombofiliju, čije je određivanje podložno interferirajućem učinku DOAC lijekova je i dokazivanje antifosfolipidnih protutijela iz skupine lupus antikoagulansa (LA) u cirkulaciji. Najnovija istraživanja usmjerena na osmišljavanje potencijalnih mehanizama uklanjanja interferencije DOAC lijekova u određivanju pretraga na trombofiliju rezultirala su prvim komercijalnim pripremkom, tzv. *DOAC-stop* tabletom (*DOAC-StopTM*, *Haematex Research, Hornsby, Australia*), koja ima sposobnost uklanjanja DOAC lijeka iz plazme bolesnika.

CILJ

Cilj istraživanja bio je ispitati i usporediti učinak komercijalne DOAC-stop tablete i vlastite *in house* optimirane metode s medicinskim aktivnim ugljenom u prahu (CARBOMED granule, Jadran Galenski Laboratorij, Hrvatska) na uklanjanje interferencije DOAC lijekova u određivanju pretrage LA.

MATERIJALI I METODE

Ispitanici i uzorci: Ispitivanje je uključilo 57 uzoraka bolesnika liječenih dabigatranom, 58 uzoraka bolesnika liječenih rivaroksabanom i 28 uzoraka bolesnika liječenih apiksabanom. Sve koagulacijske pretrage određene su u nativnoj plazmi siromašnoj trombocitima (PPP) dobivenoj centrifugiranjem uzorka venske krvi uz antikoagulans 3,2 %-tni (109 mM) natrijev citrat. Dodatno, svi uzorci PPP-a u kojima su određene koncentracije DOAC lijekova, te probirna dRVVT (LA1) i potvrđna dRVVT (engl. *dilute Russell's viper venom time*) pretraga (LA2), centrifugirani su i nakon dodatka DOAC-stopTM tablete i medicinskog aktivnog ugljena, nakon čega je u tako priređenim analitičkim uzorcima ponovljeno određivanje pretraga LA1 i LA2.

Metode: Koncentracije DOAC lijekova određene komercijalnim metodama (*Innovance DTI* za dabigatran i *Innovance anti-Xa* za rivaroksaban i apiksaban) te probirna dRVVT (LA1) i potvrđna dRVVT (LA2) pretraga u sklopu dijagnostičkog postupka za dokazivanje LA određeni su na automatiziranom analitičkom sustavu Behring Coagulation System XP (BCSXP, Siemens Healthineers, Njemačka) uz komercijalne reagense (Siemens, Healthineers, Njemačka).

Ekperimentalni dio rada financijski je podržan od Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) u sklopu istraživačkog projekta HRZZ-IP-2016-06-8208 pod nazivom „Novi oralni antikoagulansi: povezanost koncentracije lijeka i antikoagulantnog učinka“.

REZULTATI

Tablica 1. Udio lažno pozitivnih (LP) rezultata pretrage LA u bolesnika liječenih dabigatranom, rivaroksabanom i apiksabanom.

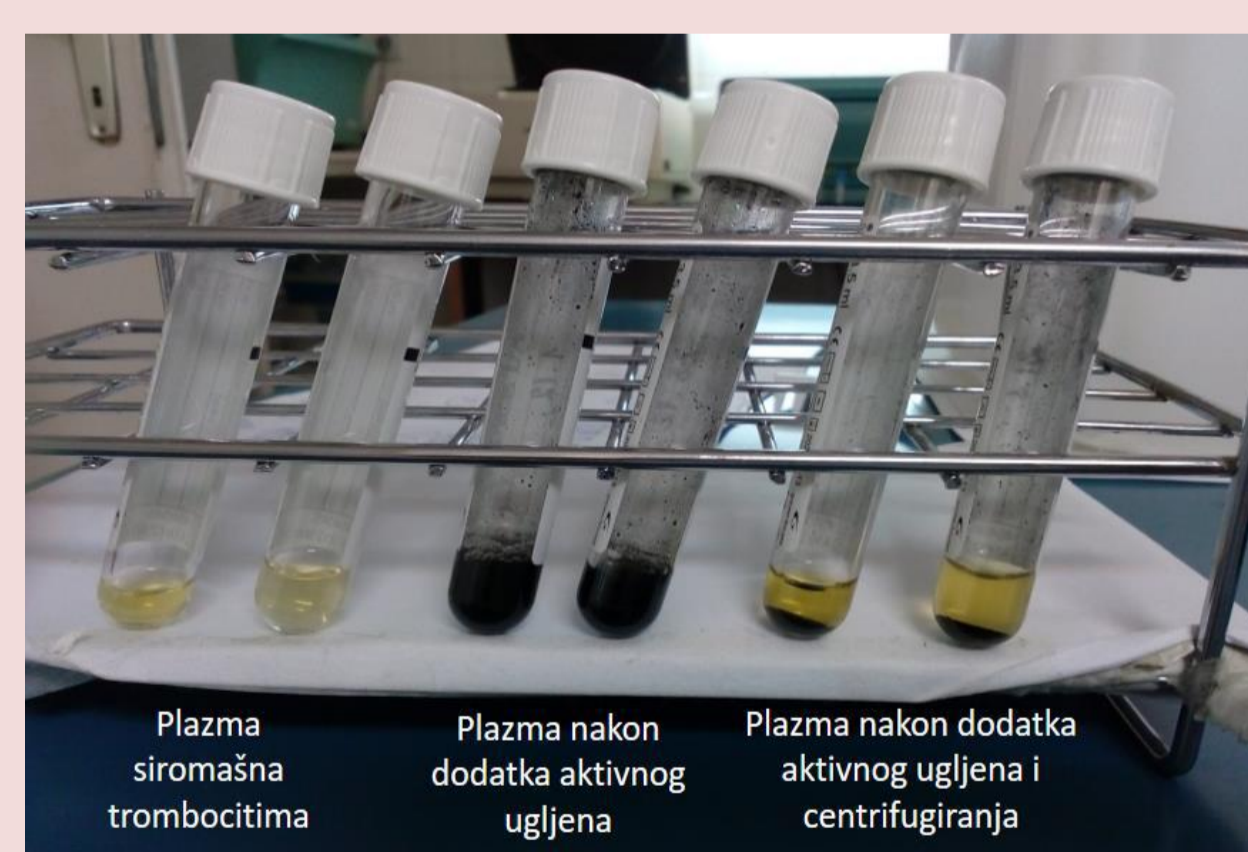
DOAC lijek	Ukupan broj uzoraka	Broj LP rezultata LA	Udio LP rezultata LA
Dabigatran	57	33	0,56
Rivaroksaban	58	39	0,67
Apiksaban	28	11	0,39

Tablica 2. Rezultati probirne (LA1) i potvrđne (LA2) dRVVT pretrage i LA omjera (LA1/LA2) u nativnoj plazmi bolesnika, plazmi bolesnika s LP rezultatom pretrage LA nakon dodatka DOAC-stop (DS) tablete i plazmi bolesnika nakon dodatka aktivnog ugljena (AC).

Uzorci s LP rezultatom pretrage LA	DOAC konc. (ng/mL)	dRVVT probirni test (LA1)			dRVVT potvrđni test (LA2)			LA omjer (LA1/LA2)		
		Nativna plazma (NP) (s)	NP + DS (s)	NP + AC (s)	Nativna plazma (NP) (s)	NP + DS (s)	NP + AC (s)	Nativna plazma NP (s)	NP + DS (s)	NP + AC (s)
Dabigatran N = 33	166 (100 - 279) 101 - 276	109,6 (84,1 - 134,3)	48,6 (42,8 - 51,4)	37,4 (33,8 - 43,5)	70,0 (41,6 - 95,0)	39,7 (36,4 - 42,3)	35,6 (33,3 - 37,2)	1,52 (1,43 - 1,62)	1,19 (1,14 - 1,28)	1,03 (1,00 - 1,12)
		83,9 - 134,7	42,8 - 51,5	33,9 - 43,5	41,3 - 95,3	36,5 - 42,3	33,3 - 37,0	1,43 - 1,62	1,15 - 1,28	1,01 - 1,12
		P < 0,001*			P < 0,001*			P < 0,001*		
Rivaroxaban N = 39	191 (163 - 255) 122 - 289	110 (81,8 - 119,3)	44,6 (40,9 - 48,4)	37,3 (35,0 - 39,8)	61,3 (56,3 - 66,1)	38,6 (36,8 - 42,2)	37,2 (34,9 - 38,7)	1,94 (1,68 - 2,00)	1,16 (1,11 - 1,20)	0,98 (0,95 - 1,05)
		67 - 122,8	40,8 - 50,7	35,0 - 40,4	53,6 - 71,9	36,4 - 42,5	34,8 - 38,7	1,67 - 2,00	1,10 - 1,20	0,95 - 1,05
		P = 0,001*			P = 0,001*			P = 0,001*		
Apixaban N = 11	177 (122 - 314) 164 - 348	75,6 (58,1 - 108,8)	45,7 (41,3 - 60,3)	35,6 (35,4 - 42,2)	45,9 (34,6 - 65,9)	37,6 (36,7 - 42,2)	37,7 (34,1 - 42,4)	1,60 (1,55 - 2,01)	1,22 (1,11 - 1,36)	1,01 (0,92 - 1,09)
		62,9 - 87,7	42,3 - 52,3	35,8 - 37,9	38,1 - 55,5	37,0 - 38,8	35,2 - 39,6	1,57 - 1,78	1,14 - 1,31	0,94 - 1,07
		P = 0,007*			P = 0,050*			P = 0,008*		
		P = 0,001**			P = 0,001**			P = 0,001**		
		P = 0,008***			P = 0,383***			P = 0,016***		

Svi rezultati prikazani su medijanom uz 95% interval pouzdanosti (95%CI) i interkvartilni raspon (IQR); Referentne vrijednosti: LA1 < 41s; LA2 < 31s; LA omjer < 1,37; P vrijednost između skupina NP i NP+DS*; NP i NP+AC** i NP+DS i NP+AC***; LA = lupus antikoagulans; AC = aktivni ugljen; DS = DOAC-StopTM tableta

Slika 1 a i b. Shematski prikaz postupka uklanjanja DOAC lijekova iz plazme uz primjenu komercijalne DOAC StopTM tablete (a) i *in house* optimirane metode s medicinskim aktivnim ugljenom (b).



Slika 2. Uzorci plazme siromašne trombocitima, plazme nakon dodatka medicinskog aktivnog ugljena prije centrifugiranja i nakon dodatka aktivnog ugljena i centrifugiranja.

ZAKLJUČAK

Rezultati provedenog istraživanja pokazali su da komercijalna DOAC-stopTM tableta kao i vlastiti optimirani postupak s medicinskim aktivnim ugljenom jednako učinkovito uklanjaju interferenciju u određivanju pretrage LA za sva tri ispitana DOAC lijeka. Provedeno ispitivanje smatramo iznimno važnim kao doprinos poboljšanju laboratorijske dijagnostike u postupku dokazivanja lupus antikoagulansa (LA) u bolesnika liječenih DOAC lijekovima.



Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju



Klinički bolnički centar
Sestre milosrdnice
Klinički zavod za kemiju



Hrvatska zaklada
za znanost
IP-2016-06-8208

jelena.buben@hotmail.com, ssupraha@pharma.com, margeticsandra@gmail.com