

**VYSOKÁ ŠKOLA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRACE**

**SV. ALŽBETY BRTISLAVA**

**ÚSTAV ZDRAVOTNÍCKYCH DISCIPLÍN**

170192

**MONITOROVANIE ANTITROMBOTICKEJ LIEČBY**

**NÍZKOMOLEKULOVÝMI HEPARÍNMU U HOSPITALIZOVANÝCH**

**PACIENTOV POČAS PANDÉMIE COVID-19**

**DIPLOMOVÁ PRÁCA**

2023

Bc. ANNA HUBČÍKOVÁ

**VYSOKÁ ŠKOLA ZDRAVOTNÍCTVA A SOCIÁLNEJ PRACE**

**SV. ALŽBETY BRTISLAVA**

**ÚSTAV ZDRAVOTNÍCKYCH DISCIPLÍN**

**MONITOROVANIE ANTITROMBOTICKEJ LIEČBY**

**NÍZKOMOLEKULOVÝMI HEPARÍNMU U HOSPITALIZOVANÝCH**

**PACIENTOV POČAS PANDÉMIE COVID-19**

**DIPLOMOVÁ PRÁCA**

Študijný program: Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Študijný odbor: 5616 Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

Ústav zdravotníckych disciplín: Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety

Bratislava

Školiteľ: prof. RNDr. Gertrúda Mikolášová, PhD.

2023

Bc. ANNA HUBČÍKOVÁ

Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety Bratislava  
KATEDRA LABORATÓRNYCH VYŠETROVACÍCH METÓD  
Študijný program Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

**ZADANIE ZÁVEREČNEJ PRÁCE**

Akademický rok: 2023/2024

**Typ záverečnej práce:** diplomová

**Názov záverečnej práce:** Monitorovanie antitrombotickej liečby nízkomolekulovými heparínmi u hospitalizovaných pacientov počas pandémie Covid-19.

**Meno, priezvisko a tituly študenta:** Anna Hubčíková Bc.

**Študijný program:** Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

**Študijný odbor:** 5616 Laboratórne vyšetrovacie metódy v zdravotníctve

**Meno, priezvisko a tituly školiteľa:** prof. RNDr. Gertrúda Mikolášová, PhD.

**Meno, tituly vedúceho katedry LVM:** prof. RNDr. Gertrúda Mikolášová, PhD.

**Anotácia:**

V našej práci sa chceme venovať trombofilii u pacientov s Covid-19, so zameraním na riziká, diagnostiku a liečbu. Sledovanie laboratórnych parametrov, hlavne D-Dimérov ako prediktívneho faktora infekcie koronavírusom SARS-CoV-2 a monitorovanie účinnosti terapie LMWH metódou antiXa aktivita, s cieľom prevencie hĺbkového žilového tromboembolizmu u hospitalizovaných pacientov.

**Jazyk práce:** slovenský

**Vyjadrenie a podpis školiteľa záverečnej práce:**

Podpis školiteľa: 

Dátum schválenia zadania: 5.5.2023

Podpis vedúceho pre študijný program LVM v zdravotníctve: 

## **ČESTNÉ VYHLÁSENIE**

Vyhlasujem, že som diplomovú prácu vypracovala samostatne, pod odborným vedením školiteľky prof. RNDr. Gertrúdy Mikolášovej, PhD. a použila som literatúru, ktorú uvádzam v zozname.

BRATISLAVA, 2023

*J. Čutáková*

## **POĎAKOVANIE**

Chcela by som sa touto cestou podľakovať mojej školiteľke prof. RNDr. Gertrúde Mikolášovej, PhD., za jej odborné vedenie, pripomienky a usmernenie pri písaní. Takisto podľakovanie patrí lekárom slúžiacim na Covid oddelení DONsP v Dolnom Kubíne, za ochotné poskytnutie informácií do praktickej časti mojej záverečnej práce a v neposlednom rade mojej rodine a priateľom, ktorí ma podporovali a pomohli mi zvládnuť obdobie písania diplomovej práce.

## **ABSTRAKT**

HUBČÍKOVÁ, Anna Bc.: Monitorovanie antitrombotickej liečby nízkomolekulovými heparínmi u hospitalizovaných pacientov počas pandémie Covid-19. [Diplomová práca]. Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžbety v Bratislave. Ústav zdravotných disciplín; Školiteľ prof. RNDr. Gertrúda Mikolášová, PhD. Stupeň odbornej kvalifikácie. Magister laboratórnych vyšetrovacích metód v zdravotníctve. Bratislava: Ústav zdravotníckych disciplín, 2023. Počet strán 86.

Predložená diplomová práca je venovaná novej koronavírusovej chorobe (COVID-19), ktorá z roku 2019 sa považuje za globálnu núdzovú situáciu v oblasti verejného zdravia. Jednou z bezprecedentných výziev je definovanie optimálnej liečby pre pacientov s ťažkou pneumóniou a systémovými prejavmi COVID-19. Ťažké formy sú spojené s koagulačnými zmenami, charakterizovanými najmä zvýšením hladín D-Diméru, ktoré sme monitorovali a fibrinogénu, s výším rizikom trombózy, najmä plúcnej embólie. Zdôraznil sa aj vplyv obezity na závažný COVID-19. V tejto súvislosti môžu byť štandardné dávky heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) neadekvátne u pacientov na JIS s obezitou, veľkým zápalom a hyperkoagulabilitou. V práci sme identifikovali riziká infekcie, venovali sa diagnostike, liečbe, sledovaniu laboratórnych parametrov a riešili fázu hyperkoagulácie pozorovanú u hospitalizovaných pacientov s COVID-19, ktorí sú vystavení riziku venózneho, arteriálneho tromboembolizmu a smrti. Hlavným cieľom práce bol monitoring účinnosti liečby nízkomolekulového heparínu (LMWH) u vysokorizikových hospitalizovaných pacientov s COVID-19 pomocou testu Anti Xa na prevenciu a liečbu venózneho tromboembolizmu, spolu s hodnotami D-Diméru, pri hospitalizácii a po ukončení liečby, aby sa vylepšila šanca pacientov na vyliečenie. Môžeme povedať, že u pacientov hospitalizovaných s COVID-19 so zvýšenou koncentráciou D-Diméru počiatočná terapeutická antikoagulácia v nemocnici s enoxaparínom pre nestabilných pacientov počas 30 dní zlepšila klinické výsledky.

Kľúčové slová: trombofília, COVID-19, tromboprotexia, antikoagulácia, Anti-Xa aktivita, antikoagulačný monitoring COVID-19,

## **ABSTRACT**

HUBČÍKOVÁ, Anna Bc. : Monitoring of antithrombotic treatment with low molecular weight heparins in hospitalized patients during the Covid-19 pandemic. [Thesis]. University of Health and Social Work St. Elizabeth in Bratislava. Institute of Health Sciences; Trainer prof. RNDr. Gertrúda Mikolášová, PhD. Professional qualification level. Master of laboratory investigation methods in healthcare. Bratislava: Institute of Health Sciences, 2023. Number of pages 86.

The presented diploma thesis is dedicated to the novel coronavirus disease (COVID-19), which as of 2019 is considered a global public health emergency. One of the unprecedented challenges is defining the optimal treatment for patients with severe pneumonia and systemic manifestations of COVID-19. Severe forms are associated with coagulation changes, characterized mainly by an increase in the levels of D-Dimer, which we monitored, and fibrinogen, with a higher risk of thrombosis, especially pulmonary embolism. The impact of obesity on severe COVID-19 was also highlighted. In this regard, standard doses of low molecular weight heparin (LMWH) may be inadequate in ICU patients with obesity, severe inflammation, and hypercoagulability. In the work, we identified the risks of infection, devoted ourselves to diagnosis, treatment, monitoring of laboratory parameters and addressed the hypercoagulation phase observed in hospitalized patients with COVID-19, who are at risk of venous, arterial thromboembolism and death. The main objective of the work was to monitor the effectiveness of low-molecular-weight heparin (LMWH) treatment in high-risk hospitalized patients with COVID-19 using the Anti Xa test for the prevention and treatment of venous thromboembolism, together with D-Dimer values, during hospitalization and after the end of treatment, in order to improve the chances of patients for healing. We can say that in hospitalized COVID-19 patients with elevated D-Dimer concentrations, initial in-hospital therapeutic anticoagulation with enoxaparin for unstable patients for 30 days improved clinical outcomes.

Keywords: thrombophilia, COVID-19, thromboprophylaxis, anticoagulation, Anti-Xa activity, anticoagulation monitoring of COVID-19,

## OBSAH

ÚVOD.....	14
1 TROMBOFÍLIA A COVID - 19 .....	16
1.1 Trombofília .....	16
1.2 COVID-19 ovplyvňuje zrážalivosť krvi.....	17
1.3 Patogenéza COVID-19.....	17
2 COVID-19 A RIZIKOVÉ FAKTORY TROMBÓZY .....	19
2.1 COVID-19 a rizikové faktory .....	19
2.2 Rizikové faktory COVID-19 súvisiace s trombózou.....	19
2.3 Hypoxia .....	19
2.4 Korelácia COVID - 19 a krvná skupina ABO .....	20
2.5 Poškodenie pečene .....	20
3 INFEKCIÁ SARS-CoV-2 a COVID-19.....	21
3.1 Infekcia SARS-CoV-2 .....	21
3.2 COVID-19 a trombozápal .....	22
3.3 Cytokínová búrka .....	22
3.4 Špecifické faktory IL-6 A IL-2 .....	23
3.5 Systém komplementu .....	24
3.6 Klinický priebeh infekcie SARS-CoV-2.....	24
3.7 Hematologické prejavy pacientov s COVID-19 .....	24
3.8 Prevalencia a incidencia VTE u pacientov s COVID-19 .....	25
4 COVID-19 DIAGNOSTICKÉ POSTUPY .....	27
4.1 Test založený na PCR .....	27
4.2 Sérologický test .....	28
4.3 Sérologické testy na báze nanočastíc .....	29
4.4 CT zobrazovanie .....	29
5 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA TROMBOFÍLIE U PACIENTOV S COVID-19 .....	31
5.1 Metódy diagnostiky trombofilie u pacientov s COVID-19 .....	31
5.2 Hladiny D-Diméru u pacientov s COVID-19 .....	32
5.3 Hladiny fibrinogénu u pacientov s COVID-19 .....	33
5.4 Hladiny PT, aPTT u pacientov s COVID-19 .....	33
5.5 Počet krvných doštíčiek u pacientov s COVID-19.....	34
6 ANTIKOAGULAČNÁ LIEČBA HEPARÍNOM S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU (LMWH) .	35
6.1 Antikoagulačná liečba antagonistov vitamínu K .....	35
6.2 Antikoagulačná liečba LMWH .....	36
6.3 Nové perorálne antikoagulanciá NOAC .....	36

<b>6.4 Priame perorálne antikoagulanciá .....</b>	<b>36</b>
<b>7 MONITOROVANIE HEPARÍNOVEJ ANTIKOAGULAČNEJ LIEČBY .....</b>	<b>39</b>
<b>7.1 Vyšetrenie Heparín Anti-Xa .....</b>	<b>39</b>
<b>7.2 Anti-Xa aktivita (AXA) - kontrola účinnosti liečby LMWH .....</b>	<b>39</b>
<b>7.3 Odber krvi na test Anti-Xa aktivita (AXA) .....</b>	<b>40</b>
<b>7.4 Vyhodnocovanie Anti-Xa aktivita (AXA) .....</b>	<b>40</b>
<b>7.5 Interpretácia .....</b>	<b>41</b>
<b>8 MONITOROVANIE ÚČINKU LMWH U PACIENTOV COVID-19 .....</b>	<b>43</b>
<b>9 CIELE PRÁCE.....</b>	<b>46</b>
<b>9.1 Spracovanie literárnych zdrojov.....</b>	<b>47</b>
<b>9.2 Miesto výskumu.....</b>	<b>47</b>
<b>9.3 Kritéria pre zaradenie pacientov do výskumu .....</b>	<b>47</b>
<b>9.4 Charakteristika súboru .....</b>	<b>48</b>
<b>9.5 Vyšetrenie Anti- Xa (AXA).....</b>	<b>51</b>
<b>9.6 Výskumný materiál .....</b>	<b>51</b>
<b>9.7 Bezpečnosť pri práci .....</b>	<b>52</b>
<b>9.8 Postup práce .....</b>	<b>52</b>
<b>9.9 Princíp Anti- Xa (AXA) .....</b>	<b>55</b>
<b>9.10 Štatistické spracovanie údajov .....</b>	<b>57</b>
<b>10 VÝSLEDKY .....</b>	<b>58</b>
<b>DISKUSIA .....</b>	<b>69</b>
<b>ODPORÚČANIA PRE PRAX.....</b>	<b>75</b>
<b>ZÁVER .....</b>	<b>76</b>
<b>LITERÁRNE ZDROJE .....</b>	<b>77</b>

## ZOZNAM SKRATIEK

- ACE2: enzym konvertujúci angiotenzín 2  
ALT: alanínaminotransferáza  
aPTT: aktivovaný parciálny tromboplastínový čas  
ARDS: syndróm akútnej respiračnej tiesne  
AST: aspartátaminotransferáza  
AuNP: systém laterálneho toku na báze nanočastic zlata  
C3: zložka komplementu v sére  
CBC: komplettný krvný obraz  
CRP: C-reaktívny proteín  
DAMP: molekulárne vzory spojené s poškodením  
DIC: diseminovaná intravasculárna co  
DOAC: priame perorálne antikoagulanciá  
DVT: žilová trombóza dolných končatín  
Fc receptory: deriváty imunitného systému imunoglobulínové  
HIT: heparín indukovanéj trombocytopénie  
HŽT: híbková žilová trombóza  
IL-1 $\alpha$ : interleukin 1 $\alpha$   
IL-2: interleukin -2  
IL-6: interleukin -6  
IL-6R: interleukin -6R  
IM: infarkt myokardu  
KKS: systém Kinín-Kallikreín  
LDH: laktátdehydrogenáza  
LMWH: nízkomolekulové heparíny (low molecular weight heparins)  
mRNA: mediátorová ribonukleová kyselina  
NOAC: nové perorálne antikoagulanciá  
PE: plúcna embólia  
PT: predĺžený protrombínový čas  
PT: protrombínový čas  
RAAS: renín-angiotenzín-aldosterón  
Receptory ACE-2: enzym konvertujúci angiotenzín 2  
RNA: ribonukleová kyselina

RT-PCR: reverzná transkripcia polymerázovej reťazovej reakcie

TF: tkanivový faktor

TMPRSS2: transmembránová proteáza serín-2

TSOAC: cieľovo špecifické perorálne antikoagulanciá (target-specific oral anticoagulants)

UFH: nefrakciovany heparín (unfractionated heparin)

VKA: antagonisti vitamínu K

VTE: venózna tromboembólia

VWF: von Willebrandov faktor

## **ZOZNAM ILUSTRÁCIÍ A ZOZNAM TABULIEK**

### **ZOZNAM ILUSTRÁCIÍ**

Obrázok 1 Väzba SARS-CoV-2 na hostiteľský receptorov.....	21
Obrázok 2 Účinky zápalovej odpovede na infekciu COVID-19 so syndrómom uvoľnenia cytokínov .....	23
Obrázok 3 Odobratie vzorky z nosa pomocou tampóna .....	27
Obrázok 4 Koncept fluorescenčnej detekcie v kvantitatívnej fluorescenčnej PCR .....	28
Obrázok 5 Dva typy imunotestov ELISA a to detekcia antigénov COVID-19 alebo protilátok proti vírusovým antigénom .....	29
Obrázok 6 Miesto účinku DOAC.....	37
Obrázok 7 Algoritmus zhodnotenia stavu antikoagulácie (DOAC) .....	38
Obrázok 8 Prístroj SYSMEX Ca-1500 .....	51
Obrázok 9 BD VACUTAINER® - 9NC 4,5 ml .....	52
Obrázok 10 Sysmex-Ca-1500-displej.....	53
Obrázok 11 Heparínový test INNOVANCE.....	54
Obrázok 12 Princíp .....	55

### **ZOZNAM TABULIEK**

Tabuľka 1 Súhrn laboratórnych testov v súvislosti s Covid-19 .....	31
Tabuľka 2 Cieľové terapeutické hodnoty Anti-fXa pri liečbe LMWH .....	41
Tabuľka 3 Zastúpenie pacientov .....	58
Tabuľka 4 Priemerný vek a mortalita.....	63

## ZOZNAM GRAFOV

Graf 1. Deskripcia výskumného súboru podľa pohlavia .....	48
Graf 2. Deskripcia výskumného súboru podľa veku .....	49
Graf 3. Deskripcia výskumného súboru diagnózy pacienta .....	50
Graf 4. Hodnoty Anti – Xa .....	59
Graf 5. Hodnoty AntiXa (AXA) u žien .....	60
Graf 6. Hodnoty AntiXa (AXA) aktivity u mužov .....	61
Graf 7. D-Diméri pred liečbou u žien .....	64
Graf 8. D-Diméri pokles po liečbe u žien .....	65
Graf 9. D-Diméri pred liečbou u mužov .....	66
Graf 10. Pokles hodnôt D-Dimérov u mužov .....	67

## **ÚVOD**

Pandémia vírusu SARS-CoV-2 nás tvrdo zasiahla po celom svete. Od začiatku roka 2020 bol a stále je celosvetový systém zdravotnej starostlivosti zavalený pacientmi infikovanými SARS-CoV-2.

U pacientov s infekciou koronavírusom 2 (SARS-CoV-2) sa môže vyvinúť ťažký akútny respiračný syndróm, ktorý vyžaduje hospitalizáciu. Infekcia postihuje predovšetkým dýchací systém, môžu byť postihnuté aj iné orgány. Najmä medzi vážne chorými pacientmi sa u mnohých vyvinie hyperkoagulačný stav, ktorý ovplyvňuje nepriaznivé klinické výsledky. Okrem vysokej prevalence trombotických príhod sa u kriticky chorých pacientov s COVID-19 často vyvijajú laboratórne abnormality kompatibilné s hyperkoagulabilitou. Kriticky chorí pacienti majú vysoký výskyt venózneho tromboembolizmu (VTE). Existujú najmenej dva samostatné patologické koagulačné procesy, ktoré sú dôležité pri rozvoji klinických prejavov COVID-19. V mikrocirkulácii plúc a potenciálne iných orgánov lokálne priame vaskulárne a endoteliálne poškodenie produkuje mikrovaskulárne zrazeniny. V dôsledku hyperkoagulability existuje aj možnosť trombózy veľkých ciev v systémovom obehu. Táto infekcia ovplyvňuje zrážalivosť krvi tým, že spôsobuje dysfunkciu endotelu a abnormality krvných buniek a vedie k zápalovej aktivácii viacerých dráh, čo sú príznaky vysokého protrombotického stavu. Všetky tieto zmeny sú tiež sprevádzané abnormalitami v laboratórnych vyšetreniach pacientov s COVID-19, ako je obrovské zvýšenie hladín D-Dimérov a fibrinogénu. Klinickým výsledkom je koagulopatia a venózna tromboembolia (VTE) spojená s COVID-19, ktoré sa bežne vyskytujú u hospitalizovaných pacientov.

Práca v jednotlivých kapitolách charakterizuje etiológiu COVID-19, patologické zmeny, ktorou vírusové infekcie vyvolávajú systémovú zápalovú odpoveď a spôsobujú nerovnováhu medzi prokoagulačnými a antikoagulačnými homeostatickými mechanizmami. Antitrombotickú profylaxiu, ktorá je nevyhnutná u všetkých hospitalizovaných a imobilných pacientov, ako pri každej závažnej akútnej infekcii, pričom sa uprednostňujú heparíny, kde sa predpokladá špecifický priaznivý účinok heparínu na COVID-19 a to vďaka jeho pleiotropným účinkom.

Cieľom výskumnej práce bolo hodnotiť monitoring účinnosti antitrombotickej liečby nízkomolekulovými heparínmi (LMWH) enoxaparínu testom Anti-Xa pomocou získaných hodnôt Anti Xa aktivita a tak predchádzať riziku trombotických príhod u hospitalizovaných pacientov.

## **1 TROMBOFÍLIA A COVID - 19**

Trombofilný stav je definovaný ako klinická tendencia k vzniku trombózy alebo prítomnosť molekulových abnormalít hemostázy, ktoré predisponujú jedinca k tromboembolickej chorobe. Vyjadruje situáciu konštitučných vrodených alebo získaných faktorov náchylných k trombóze. Stančiaková,l., (2017).

### **1.1 Trombofília**

Integrita cievneho systému je zabezpečená súhrou cievnej steny, krvných doštičiek a plazmatických proteínov taktiež vrátane koagulačných faktorov a ich inhibítormov a fibrinolytického systému a jeho inhibítormov. Takáto súhra vedie k aktivácii zrážania krvi v mieste poškodenia ciev, ktoré je potrebné na zabránenie straty krvi. Súčasne je zabezpečené obmedzenie tvorby krvnej zrazeniny intraluminálne, aby sa zabránilo oklúzii cievneho lôžka (systémom inhibítormov koagulácie). Už vytvorený trombus sa rozpúšťa fibrinolytickým systémom. Kessler, P.,(2006)

Trombóza - krvná zrazenina v cievnom lôžku alebo srdcových dutinách sa vyskytuje v situácii prevahy aktivácie zrážania krvi nad kapacitou koagulačných inhibítormov a fibrinolytického systému alebo v miestach neprítomnosti prietoku krvi. Aktivácia zrážania krvi má častejšie získanú, väčšinou krátkodobú príčinu, často spojenú s poškodením ciev alebo endotelovou dysfunkciou pri chirurgických zákrokoch, traume, infekciách, a pod. Existujú však aj vrodené predispozície k zvýšenej aktivácii zrážania krvi. Znížená kapacita inhibítormov koagulácie alebo rezistencia koagulačných procesov na túto inhibíciu je často vrodená, ale existujú aj získané stavy s týmito poruchami. Kessler, P.,(2006)

Trombóza v arteriálnom lôžku je vo väčšine prípadov podmienená aterosklerotickým postihnutím cievnej steny, resp. prasknutím ateromatázneho plaku. Intenzita tejto lokálnej aktivácie hemostázy je v tomto prípade rozhodujúca a dlhodobé dispozície zohrávajú len malú úlohu.

Čiže trombofilné stavy sú vrodené a získané ochorenia spôsobené poruchou funkcie hemostázy na viacerých úrovniach. Vo všeobecnosti predstavujú pomerne variabilnú skupinu stavov, ktorá sa klinicky prejavuje trombotickými prejavmi v rozličných častiach krvného riečiska Stančiaková,l., (2017).

## **1.2 COVID-19 ovplyvňuje zrážalivosť krvi**

Zistilo sa, že COVID-19 má významný vplyv na mechanizmy zrážania krvi. U pacientov s COVID-19 bolo pozorované zvýšené riziko vzniku krvných zrazenín, ktoré môže byť spojené práve s trombofiliou.

Vírusové infekcie vyvolávajú systémovú zápalovú odpoved' a spôsobujú nerovnováhu medzi prokoagulačnými a antikoagulačnými homeostatickými mechanizmami. Zapojených je viacero patogenetických mechanizmov, včetne endoteliálnej dysfunkcie, zvýšenia von Willebrandovho faktora, aktivácie Toll-like receptora a aktivácie dráhy tkanivového faktora. Krvné doštičky sa po rozpoznaní antigénu aktivujú a interagujú s bielymi krvinkami, aby uľahčili odstraňovanie patogénov prostredníctvom aktivácie bielych krviniek a tvorby zrazenín. Trombocyty sú rozhodujúcimi mediátormi zápalu a sú súčasťou infekčných agens prostredníctvom interakcie bunkových povrchových receptorov a patogénov (receptory na rozpoznávanie patogénov) alebo derivátov imunitného systému imunoglobulínové Fc receptory a komplementové receptory. Čiže dysregulácia koagulačnej kaskády a následná tvorba intraalveolárnych alebo systémových fibrínových zrazenín sú významnými nálezmi pri koronavírusových infekciách Giannis, D.,( 2020).

Vírus COVID-19 spôsobuje zápal a poškodenie stien krvných ciev, čo môže viest' k tvorbe krvných zrazenín. Ukázalo sa tiež, že COVID-19 môže spôsobiť aj zvýšenie hladiny koagulačných faktorov v krvi, ktoré prispievajú k tvorbe krvných zrazenín.

Trombofilia môže mať závažné následky, keďže krvné zrazeniny môžu blokovať cievy a viest' k ochoreniam, ako sú napríklad mŕtvia, srdcový infarkt alebo plúcna embólia. U pacientov s COVID-19 je preto dôležité monitorovať riziko vzniku krvných zrazenín a prípadne podstúpiť liečbu, ktorá im pomôže minimalizovať toto riziko a zlepšiť ich prognózu. Han H.,(2020).

## **1.3 Patogenéza COVID-19**

Vírus sa prenáša kvapôčkami dýchacích ciest, vstupuje do krvného obehu a hlavne sa dostáva do tkanív exprimujúcich receptory ACE-2. Vrátane alveolárnych buniek typu 2, plúc, gastrointestinálneho traktu, endotelových buniek srdca a krvných ciev, pericyty, adipocyty a nervové bunky, tu sa vírus viaže na hostiteľské ACE-2 receptory (Marchandot. B., 2020).

Vírus následne preniká do hostiteľských buniek prostredníctvom membránovej fúzie alebo endocytózy. Vírusový obsah sa uvoľní vo vnútri hostiteľských buniek a jeho vírusová RNA vstupuje do jadra na replikáciu, pomocou vírusovej mRNA na výrobu vírusových proteínov. Neskôr sa vytvoria nové vírusové častice a nakoniec sa uvoľnia. Vírusová adhézia na ACE-2 receptory nasledovaná vírusovou replikáciou spôsobuje infiltráciu zápalových buniek, apoptózu endotelových buniek a mikrovaskulárnu trombózu. (Georgia Kaifafa a kol.2020)

Hyperkoagulačný stav u pacientov s COVID-19 pochádza z komplexnej zápalovej reakcie na vírus, pri ktorej hemostáza a imunitný systém spolupracujú na obmedzení šírenia vírusovej infekcie. Fyziologická imunitná trombóza sa môže vyvinúť do nadmernej, dysregulovanej tvorby imunologicky sprostredkovaných trombov a šíriť sa najmä v mikrocirkulácii. Niekol'ko vírusových infekcií môže mať spoločné abnormálne koagulačné procesy, ako je krvácanie, trombóza alebo oboje ( Ragnoli B.,2020).

## **2 COVID-19 A RIZIKOVÉ FAKTORY TROMBÓZY**

Rizikové faktory spojené s ochorením Covid-19 sa môžu týkať závislosti na jednotlivcoch a ich zdravotnom stave. Existuje niekoľko rizikových faktorov, ktoré môžu zvyšovať pravdepodobnosť vážneho priebehu ochorenia Covid-19.

### **2.1 COVID-19 a rizikové faktory**

Zatiaľ čo väčšina pacientov s COVID-19 má mierne príznaky, v niektorých prípadoch môže viest' k ľažkému zápalu plúc alebo smrti. Medzi hlavné rizikové faktory takýchto prípadov patrí vek 60 a viac rokov. Starší jedinci a ľudia s oslabeným imunitným systémom sú vystavení výrazne väčšiemu riziku, že budú mať závažné príznaky choroby. Fajčenie, obezita, nadmerné pitie a už existujúce komorbidity môžu tiež zvýšiť riziko nakazenia(Liu, Wei, a kol.,2019).

### **2.2 Rizikové faktory COVID-19 súvisiace s trombózou**

Imobilizácia, obmedzenie pohybu pacienta, môže viest' k dlhšiemu sedeniu alebo ležaniu na jednom mieste. Tento stav zhorší obeh krvi a krvi v žilách, čo zvyšuje riziko tvorby krvných zrazenín.

Systémový zápal, stav po nakazení vírusom, môže reagovať nadmernou zápalovou reakciou v tele, ovplyvniť funkciu a zvýšiť riziko trombózy. Taktiež mechanická ventilácia, ktorá sa používa na podporu dýchania môže byť spojená s rizikom trombóz. Tromb sa tvorí v cievach, čo môže viest' k závažným komplikáciám, ako je plúcna embólia, zavedenie zrazeniny do plúcnej artérie, alebo hlboká žilová trombóza, tvorba krvných zrazenín v hlbokých žilách. Ďalšími rizikovými faktormi sú hospitalizácia na JIS, inštalácia centrálnych žilových katéterov a zvýšenie niektorých biomarkerov (Miesbach,2020).

### **2.3 Hypoxia**

V súvislosti s Covid-19, hypoxia sa často spája so závažnými prípadmi ochorenia. Faktor, ktorý prispieva k hypoxii u pacientov s COVID-19 je pneumónia. Výrazný zápal plúc môže obmedziť schopnosť plúc prijímať a distribuovať kyslík do krvi. Preto by sa mala venovať hypoxii osobitná pozornosť (Thachil J., 2020).

Môže spustiť aj trombogenézu po infekcii COVID-19. Hypoxia sa vyskytuje hlavne v stredne ľažkých alebo ľažkých prípadoch COVID-19 a môže viest' k poruchám endotelu a hyperkoagulabilite (Spittle J.,2020).

Dá sa povedať, že pacienti s COVID-19 s hypoxiou trpia protrombotickými stavmi prostredníctvom upregulácie PAI-1 a stimulácie syntézy prokoagulantov, ako je TF a von Willebrandov faktor (Katneni UK, 2020).

## **2.4 Korelácia COVID - 19 a krvná skupina ABO**

Taktiež korelácia medzi COVID-19 a krvnou skupinou ABO ukázala podľa štúdie Zhao a kol., že u pacientov skupiny A je väčšia pravdepodobnosť, že budú symptomatickými pacientmi s COVID-19 ako u pacientov zo skupiny O. Vo všeobecnosti je ABO pleiotropným lokusom, ktorý súvisí s trombotickými ochoreniami, ako je VTE. Predpokladá sa, že rozdiel v hladinách trombotického rizika súvisí s hladinami VWF, ktoré vykazujú nižšie u pacientov v skupine O a hladinami IL-6 (Zhao, Jiao, a kol., 2020).

## **2.5 Poškodenie pečene**

Covid-19 môže mať vplyv aj na pečeň, najmä u niektorých pacientov s vážnym priebehom ochorenia. Poškodenie pečene je posledným rizikovým faktorom trombózy počas infekcie COVID-19, ktorý stojí za zmienku. Infekcia pečene vírusom zahŕňa zvýšenie alanínaminotransferázy, aspartátaminotransferázy a bilirubínu. Keďže pečeň je hlavným zdrojom hemostázy a plazmatických bielkovín, postihnutá pečeň môže viest' k pomerne škodlivým dysreguláciám koagulačného systému (Ahmed,S.,2020).

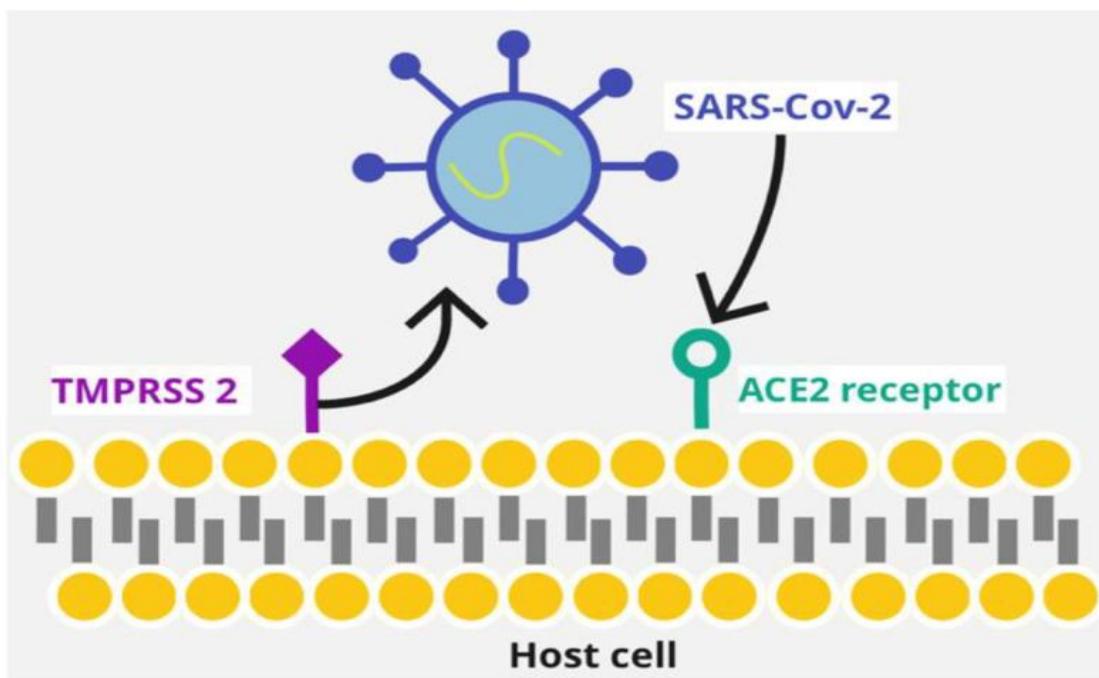
SARS-CoV-2 je zodpovedný za ochorenie COVID-19, ktoré sa prejavuje širokou škálou príznakov. Tieto rizikové faktory ako sme vyššie uviedli, môžu zvyšovať pravdepodobnosť vážneho priebehu ochorenia.

### 3 INFEKCIA SARS-CoV-2 a COVID-19

Infekcia SARS-CoV-2 a ochorenie COVID-19 sa stali hlavnými témami celosvetovej pozornosti od ich vzniku v roku 2019. SARS-CoV-2 je nový koronavírus, ktorý sa prvýkrát objavil v meste Wuhan v provincii Chu-pej v Číne.

#### 3.1 Infekcia SARS-CoV-2

Vstup vírusu sa spustí, keď sa podjednotka S1 glykoproteínu vírusového spike (S) SARS-CoV-2 viaže na hostiteľský receptor ACE2, je to enzym konvertujúci angiotenzín 2. (obrázok č.1). V skutočnosti je interakcia proteínu S1 a receptora kľúčová pre určenie infekcie SARS-CoV-2. Je však tiež dôležité, aby bol proteín S aktivovaný transmembránovou proteázou serín-2 (TMPRSS2) skôr, ako sa viaže na receptor ACE2 a vstúpi do hostiteľskej bunky (Salian, VS.,2020).



Obrázok 1. Väzba SARS-CoV-2 na hostiteľský receptor (Salian, VS.,2020).

Väzba SARS-CoV-2 na hostiteľský receptor. SARS-CoV-2 sa viaže na receptor ACE2 hostiteľskej bunky po tom, čo TMPRSS2 aktivuje vírusový proteín S.

Po infekcii vedie downregulácia ACE2 ktorá je spôsobená SARS-CoV-2 k deregulácii dráh systém renín-angiotenzín-aldosterón (RAAS) a systém Kinín-Kallikreín (KKS), čo môže mať za následok vážne ochorenie a smrteľný výsledok (Salian, VS.,2020).

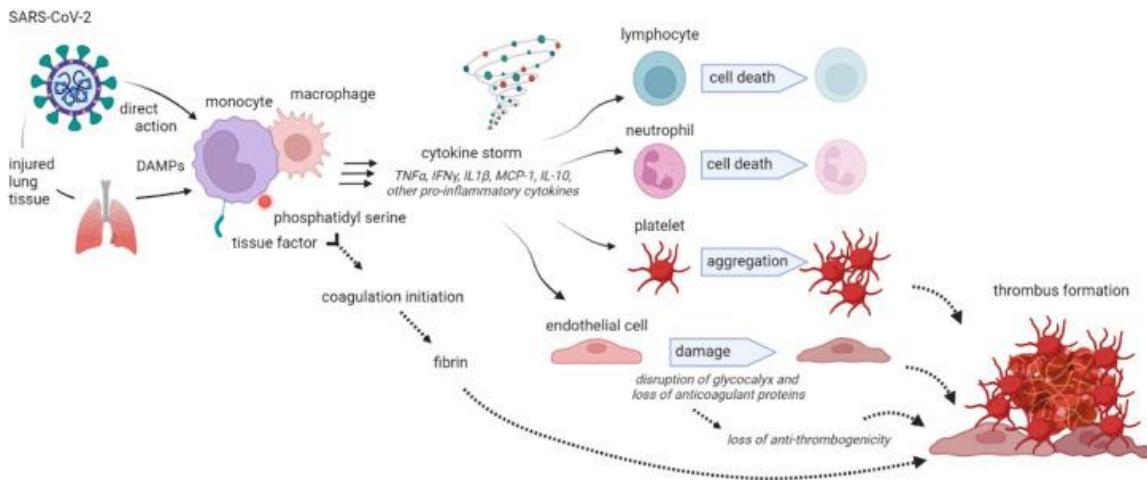
### **3.2 COVID-19 a trombozápal**

Pokial' ide o hematopoetickej systém, COVID-19 možno považovať za protrombotické ochorenie. Účinky infekcie SARS-CoV-2 na ľudský organizmus nastupujú v počiatočných fázach ochorenia a v inkubačnej dobe. Počas tejto doby príznaky chýbajú a hodnota leukocytov a lymfocytov v periférnej krvi je väčšinou normálna. Krátko potom, čo sa vyskytne virémia a vírus sa začne šíriť, najmä do tkanív, ktoré exprimujú vysoké hladiny ACE2. Neskôr, o jeden až dva týždne po objavení sa prvých príznakov, dochádza k zvýšeniu systémových zápalových mediátorov a dochádza k významnej lymfopénii, ktorá je často spojená s potrebou starostlivosti na JIS (Kaiafa,G., a kol.2020).

### **3.3 Cytokínová bûrka**

Pri COVID-19 sa trombozápal a porucha koagulácie objavujú prostredníctvom špecifických ciest, ako je napríklad zápal a bûrka cytokínov. Aktivácia prirodzenej imunity vyvolaná SARS-CoV-2 má za následok zvýšenie produkcie prozápalových cytokínov bunkami, ako sú neutrofily, T-bunky, makrofágy, fibroblasty, pneumonocyty, endotelové bunky a dendritické bunky . Je nevyhnutné zdôrazniť, že aj keď uvoľnovanie cytokínov má dôležitú úlohu v imunitnom systéme a je následne žiaduca jeho nadmerná aktivácia, môže vážne poškodiť mnohé systémy (Lazzaroni, M. G., a kol.,2020).

Obrázok dva zobrazuje účinky zápalovej odpovede na infekciu COVID-19 so syndrómom uvoľnenia cytokínov a dysreguláciou imunitného systému s konečným efektom hyperkoagulačného stavu.



Obrázok 2. Účinky zápalovej odpovede na infekciu COVID-19 so syndrómom uvoľnenia cytokínov (Lazzaroni, M. G., a kol.,2020).

### 3.4 Špecifické faktory IL-6 A IL-2

Konkrétnie pri COVID-19 sa objavujú prozápalové cytokíny, ktoré sú vo výraznej miere exprimované ako súčasť cytokínovej búrky. Môžeme povedať, že zo všetkých uvedených cytokínov sú IL-6 a IL-2 silne spojené so závažnosťou ochorenia. Znamená to, že sú vyššie u kriticky chorých pacientov s COVID-19 ako u bežných pacientov s COVID-19 .

Explozívne uvoľňovanie týchto prozápalových cytokínov vyvoláva veľkú expresiu biologických parametrov zápalu. Ukázalo sa, že in vivo okrem hyperkoagulačného stavu možno u pacientov so zápalovými stavmi napr. sepsa, nájsť aj vyššie hladiny špecifických faktorov, ako sú TNF-a, IL-6 a IL-1. IL-6 má mnoho úloh v zápalovom procese. Napríklad indukuje produkciu TF v makrofágoch v priebehu zápalu. V plazme pacientov s COVID 19 vedie zvýšenie IL-6 a IL-6R, ktoré súvisí s infekciou k posilneniu endotelových buniek a TF. Touto infekciou vyvolaná koagulopatia môže hrať klúčovú úlohu pri trombocytopénii, zatiaľ čo cytokínová búrka spúšťa trombocytózu (Lazzaroni,a kol.2020).

Okrem toho sa IL-6 podieľa aj na syntéze iných koagulačných faktorov, ako je fibrinogén a faktor VIII (FVIII) a pri pôsobení na endotelové bunky podporuje sekréciu vaskulárny endoteliálny rastový faktor, čím sa indukuje vaskulárna permeabilita. Okrem toho je IL-6, IL-1 $\alpha$  vo veľkej miere exprimovaný, aktivovanými krvnými doštíčkami, endotelovými bunkami a monocytmi počas predzápalovej fázy a spája koagulačný systém so zápalom. (Savla, Shreya R.,a kol.,2021).

### **3.5 Systém komplementu**

Systém komplementu je kľúčovou súčasťou vrodenej imunitnej odpovede počas infekcie COVID-19. Tiež sa podieľa na patogenéze trombózy u pacientov s COVID-19, pri poruchách, ako je poškodenie endotelu, trombóza, trombocytopénia a krvácanie. Sú to rizikové faktory úmrtnosti pre kriticky chorých pacientov s COVID-19.

Systém komplementu zdieľa tri dráhy, prostredníctvom ktorých aktivuje plazmatické proteíny na obranu hostiteľa. Prvá cesta je spustená kontaktom hostiteľa a antigén, druhá je aktivovaná komplexmi antigén a protilátka. Zatiaľ čo tretia je lektínová dráha, ktorá viaže polysacharidy na povrch antigénu na hostiteľské bunky. V tretej dráhe vírus napáda a poškodzuje hostiteľské bunky. Tieto bunky exprimujú ACE2 receptor, čím spôsobuje trombozápalovú odpoveď, ktorá ďalej aktivuje komplementový systém.

Vo všetkých troch vyššie uvedených dráhach sú C3 a jeho deriváty hlavnými prvkami komplementového systému (Tomo, Sojit,a kol.,2021).

### **3.6 Klinický priebeh infekcie SARS-CoV-2**

Hoci je klinický priebeh u pacientov s infekciou koronavírusom 2 (SARS-CoV-2) väčšinou priažnivý, môže sa vyvinúť ťažký akútne respiračné syndróm vyžadujúci hospitalizáciu na jednotke intenzívnej starostlivosti. Keďže infekcia postihuje predovšetkým dýchací systém, môžu byť postihnuté aj iné orgány. Najmä medzi ťažko chorými pacientmi sa u väčšiny vyvinie hyperkoagulačný stav, ktorý ovplyvňuje nepriažnivý klinický výsledok.

Vysoká zápalová záťaž spojená s COVID-19 a zápalom v cievnom systéme môže viesť ku kardiovaskulárnym komplikáciám s rôznymi klinickými prejavmi. Okrem vysokej prevalencie trombotických príhod sa u kriticky chorých pacientov s COVID-19 často vyvíjajú laboratórne abnormality kompatibilné s hyperkoagulabilitou. Je známe, že kriticky chorí pacienti majú vysoký výskyt venózneho tromboembolizmu (VTE) (Scialo, Filippo,a kol.,2020).

### **3.7 Hematologické prejavy pacientov s COVID-19**

Značný počet jedincov infikovaných COVID-19 zostáva asymptomatických. Definícia asymptomatického je pozitívny test na COVID-19, ale klinické príznaky a zobrazovacie sú normálne. Pacient s miernymi symptómami má akútну infekciu horných dýchacích ciest alebo zažívanie symptómy. Zatiaľ čo stredne závažné prípady trpia pneumóniou bez zjavnej hypoxémie alebo CT hrudníka s léziami.

Na druhej strane t'ažkí pacienti čelia pneumónii s hypoxémiou. Napokon, kritický prípad COVID-19 má zvyčajne ARDS, môže mať šok, srdcové zlyhanie, encefalopatiu, koagulačnú dysfunkciu, poškodenie myokardu a akútne poškodenie obličiek. Symptómy zvyčajne nastupujú na siedmi deň po infekcii, dýchavičnosť na ôsmi deň, zápal plúc na deviaty deň a ARDS vyžaduje na desiaty až jedenásťty deň prijatie na jednotku intenzívnej starostlivosti (JIS) (Lumbers, Eugenie R., a kol.,2020).

Z najčastejších hematologických prejavov u pacientov s COVID-19 je trombocytopenia, zvýšená trombóza. Okrem toho môže COVID-19 viesť k zvýšeným hladinám niektorých zložiek krvi, ako sú D-Diméry a fibrinogén. Niektorí pacienti s COVID-19 môžu mať tiež zvýšené hladiny bielkoviny, CRP, krvné bunky, ako sú erytrocyty, leukocyty a lymfocyty. Niektorí majú anémiu a leukocytózu, zatiaľ čo iní môžu mať lymfopéniu.

Je dôležité, aby pacienti s COVID-19 podstúpili pravidelné krvné testy, aby sa sledovali ich krvné hodnoty a aby sa zabezpečilo, že akékoľvek hematologické prejavy sa čo najskôr diagnostikujú a liečia (Yuki, Koichi,a kol.,2020).

### **3.8 Prevalencia a incidencia VTE u pacientov s COVID-19**

Komplikácie VTE boli prvýkrát hlásené až u 30% pacientov s COVID-19 prijatých na jednotku intenzívnej starostlivosti (JIS) v Číne a Holandsku. Následné štúdie u kriticky chorých pacientov s COVID-19 z USA, Talianska a Francúzska preukázali trombózu v intravenóznych katétroch a arteriálne vaskulárne okluzívne príhody vrátane akútneho IM, akútnej ischémie končatín a mozgovej príhody. Najnovší prehľad zistil, že prevalencia DVT a PE u pacientov s COVID-19 na JIS kolíše od 0% do 54%. Na druhej strane skupina talianskych výskumníkov na Lekárskej fakulte Univerzity Cattolica del Sacro Cuore, ktorí pozorovali, že výskyt DVT u pacientov, ktorí nie sú na JIS, hospitalizovaných pre pacientov s COVID-19, je 12%. Tieto výsledky sa zhodovali s nedávnou metaanalýzou, ktorá skúmala riziko VTE u pacientov s COVID-19, zistila, že výskyt VTE je 26%, zatiaľ čo DVT a PE boli 12% a 14%. Štúdia, ktorá skúmala pacientov z dvoch popredných nemocní v čínskom Wu-chane, zistila, že zo 184 pacientov na jednotke intenzívnej starostlivosti sa len u viac ako (27%) pacientov vyvinula VTE, zatiaľ čo u menej ako 5% pacientov sa vyvinul arteriálny tromboembolizmus (TE) (Kofteridis, Diamantis P., a kol.,2021).

V rovnakej línii Middeldorp a kol. ukázali, že HŽT sa vytvorila u rovnakého percenta (27%) pacientov na JIS a 2% pacientov bez JIS s COVID-19.

Holandská štúdia so 184 pacientmi s pneumóniou COVID-19 prijatými na JIS zistila 49% kumulatívny výskyt trombotických komplikácií, najmä zmien naznačujúcich plúcnu embóliu (PE) pozorovaných na plúcnom angiograme pomocou počítačovej tomografie (CT). Ďalšie štúdie z Holandska a Francúzska tiež naznačujú, že VTE sa vyskytuje u 20–30% kriticky chorých pacientov s COVID-19, a to aj pri profylaxii. Pneumónia, vysoký vek, PT > 3 s a aPTT > 5 s boli individuálnymi prediktormi VTE u týchto pacientov.

Taktiež Khan a kol podporili tieto výsledky hlásením VTE dolných končatín u 20 z 81 pacientov s COVID-19 s priemerným vekom 60 rokov, ktorým nebola podaná preventívna antikoagulácia. Laboratórne testy týchto pacientov ukázali lymfopéniu, predĺžené aPTT a vysoké hodnoty D-Dimérov. Preto VTE bola venovaná nevyhnutná pozornosť u kritických pacientov s COVID-19 a rozvinul sa oveľa častejšie ako SARS (Kofteridis, Diamantis P., a kol., 2021).

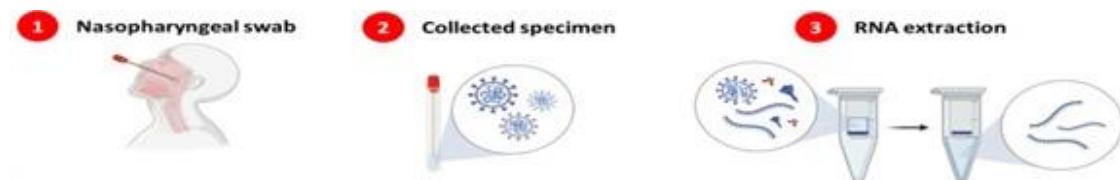
## 4 COVID-19 DIAGNOSTICKÉ POSTUPY

Na sledovanie a prognózu každého štátia ochorenia o infekcii SARS-CoV-2 v decembri 2019 boli vyvinuté rôzne testovacie súpravy a testy na diagnostiku COVID-19. Lekári majú niekoľko metód diagnostiky, vrátane krvných testov, ultrazvuku a CT vyšetrenia.

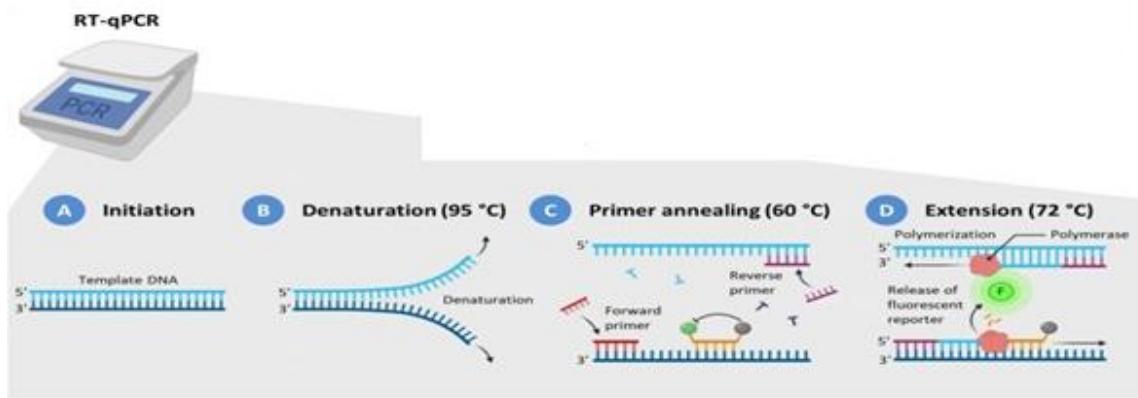
### 4.1 Test založený na PCR

Metódou reverznej transkripcie-polymerázovej reťazovej reakcie (RT-PCR). Z klinickej vzorky je väčšinou dominantný v molekulárno-genetických testoch na detekciu vírusovej RNA. Je to komerčne dostupný test na COVID-19. Taktiež zo vzorky tampónov z nosa a očných sekrétov sa používa test RT-PCR (Bhattarai, Kashi Raj, a kol.,2018).

Postup RT-PCR testu na detekciu vírusového genómu z klinickej vzorky je znázornnené na obrázku tri a štyri. Tento test zahŕňa izoláciu vírusovej RNA z klinickej vzorky, po ktorej nasleduje generovanie komplementárnej DNA (cDNA) RNA-dependentnou DNA polymerázovou reakciou. cDNA sa konvertuje na dvojvláknovú DNA (dsDNA) pomocou PCR amplifikácie. Amplifikácia tejto vzorky DNA prebieha dovtedy, kým sa vírusová cDNA nedeteguje fluorescenčným alebo elektrickým signálom (VanGuilder, Heather D., a kol.,2008).



Obrázok 3. Odobratie vzorky z nosa pomocou tampónu (Seo, Giwan, a kol.,2020).



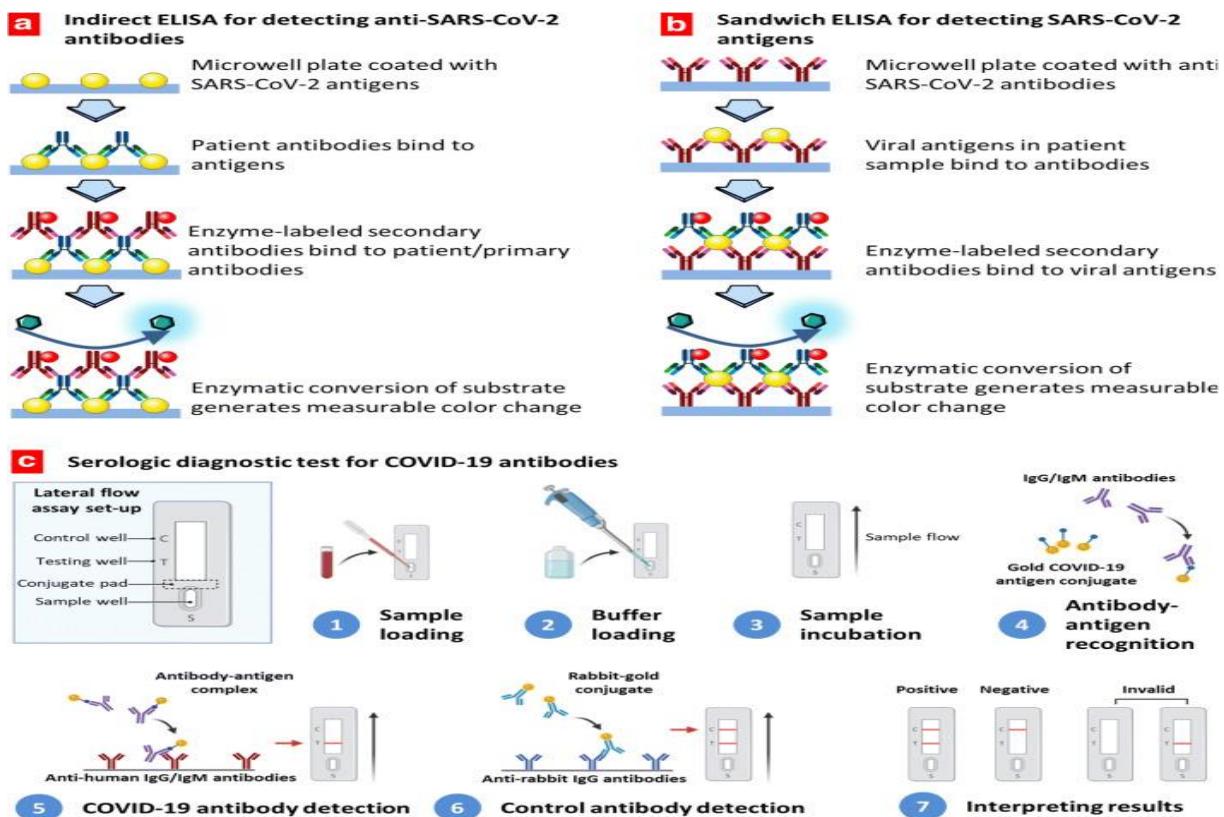
Obrázok 4. Koncept fluorescenčnej detekcie v kvantitatívnej fluorescenčnej PCR (Seo, Giwan, a kol.,2020).

Postup diagnostiky COVID-19 prostredníctvom RT-PCR.

Táto metóda zahŕňa odber vzorky a extrakciu vzorky vírusovej RNA. Extrahovaná vzorka RNA sa reverznou transkripciou prevedie na svoju komplementárnu DNA (cDNA). Nakoniec sa amplifikácia tejto vzorky DNA uskutoční v qPCR a vírusová cDNA sa deteguje fluorescenčným signálom (Seo, Giwan, a kol.,2020).

#### 4.2 Sérologický test

Sérologický test, zahŕňa analýzu biologických tekutín alebo krvného séra na identifikáciu prítomnosti určitých biomarkerov, ako sú protilátky. Vo všeobecnosti sa používa na monitorovanie priebehu ochorenia. Poznáme dva typy imunotestov ELISA a to detekcia antigénov COVID-19 alebo protilátok proti vírusovým antigénom. Obidva testy sú podobné len sa líšia potiahnutím mikrotitračnej doštičky. Ak je potiahnutý antigénmi, tak sa používa na detekciu protilátok vytvorených proti vírusu. Naopak, potiahnutie antivírusovými protilátkami umožňuje detekciu vírusových antigénov. Ako je znázornené na obrázku päť, najprv sa vzorka pacienta obsahujúca vírusové antigény pridá do mikrojamkovej platne potiahnutej protilátkou anti-SARS-CoV-2. Potom sa pridá enzymom značená detekčná protilátku. Na konci sa pridá substrát vhodný pre enzym detekčnej protilátky, aby sa vytvoril kolorimetrický signál, ktorý sa môže merat' pomocou čítačky platní (Bryant, Juliet E., a kol.,2020).



Obrázok 5. Dva typy imunotestov ELISA a to detekcia antigénov COVID-19 alebo protilátok proti vírusovým antigénom (Carter, Linda J., a kol., 2020).

#### 4.3 Sérologické testy na báze nanočastíc

Vedci skúmali aj AuNP kolorimetrickým biologickým testom založeným na nanočasticích zlata, pre možnú diagnostiku ochorenia COVID-19. Ako napr. Huang a kol. pripravili systém laterálneho toku na báze nanočastíc zlata (AuNP-LF). Bol vyrobený z rôznych ľahko dostupných anorganických nanomateriálov. Tento systém AuNP-LF vie detegovať protilátku IgM vyvinutú vo vzorke séra pacienta namierenú proti vírusovému patogénu SARS-CoV-2. Detekčný prúžok AuNP-LF bol pripravený potiahnutím nukleoproteínu SARS-CoV-2 ako antigénu, po ktorom pokračovala konjugácia antihumánej protilátky IgM. Tento prúžkový systém AuNP-LF dokázal detegovať vírus SARS-CoV-2 v klinických vzorkách do 15 minút (Huang, Chao, a kol., 2020).

#### 4.4 CT zobrazovanie

V mnohých krajinách sa používalo ako nástroj skorej diagnostiky ochorenia COVID-19 skenovanie počítačovou tomografiou (CT), hlavne z dôvodu nedostatku testovacích súprav. Ako diagnostický prvok boli použité abnormálne pozorovania na snímkach hrudníka.

V CT hrudníka pacientov s COVID-19 v počiatočnom štádiu ochorenia sa zvyčajne pozorovali bilaterálne aj periférne zábrusové opacity. Zatiaľ čo v neskoršom štádiu ochorenia boli pozorované vzory dlažby nepravidelného tvaru (Ai, Tao, a kol.,2019).

Včasná diagnostika infekcie SARS-CoV-2 a liečba trombofilie sú kľúčové pre zabezpečenie čo najlepších výsledkov pre pacientov s COVID-19.

## **5 LABORATÓRNA DIAGNOSTIKA TROMBOFÍLIE U PACIENTOV S COVID-19**

Testovanie hemostázy má dôležitú úlohu u diagnostikovaných pacientov s COVID 19. Zvýšené hladiny D-Diméru sú kľúčovým laboratórnym markerom. Diagnostický postup zahŕňa aj PT, počet Tr, fibrinogén a ďalšie markery ako aPTT, parametre fibrinolýzy, koagulačné faktory, prírodné antikoagulanciá, antifosfolipidové protilátky.

### **5.1 Metódy diagnostiky trombofílie u pacientov s COVID-19**

Pacienti s COVID-19 môžu mať niektoré laboratórne abnormality a komplikácie VTE. Medzi najčastejšie narušené laboratórne parametre patrí predĺžený protrombínový čas (PT) a aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (aPTT). Následne dochádza k zníženiu oboch v dôsledku spotreby koagulopatie, zvýšeného fibrinogénu, zvýšeného počtu krvných doštičiek. Taktiež k trojnásobnému zvýšeniu hladín D-Dimérov a zvýšených C-reaktívnych proteínov (Giannis, Dimitrios, a kol., 2020).

Tabuľka 1. Súhrn laboratórnych testov v súvislosti s Covid-19.

<b>Súhrn laboratórnych testov a ich očakávaného výsledku v súvislosti s COVID-19</b>	
Testy, pri ktorých sa očakáva zvýšenie ich úrovne	Testy, pri ktorých sa očakáva zníženie ich úrovne
aPTT (v akútnej fáze) ALT a AST CRP D-dimér Fibrinogén (v akútnej fáze) LDH PT (v akútnej fáze) CBC (krvné doštičky a lymfocyty v akútnom štádiu)	albumín aPTT (v neskorej fáze) CBC (krvné doštičky a lymfocyty v neskorom štádiu) Fibrinogén (v neskorej fáze) PT (v neskorej fáze)

Skratky: aPTT, aktivovaný parciálny tromboplastín; ALT, alanínaminotransferáza; AST, aspartátaminotransferáza; CBC, kompletný krvný obraz; CRP, C-reaktívny proteín; LDH, laktátdehydrogenáza; PT, protrombínový čas Devreese, Katrien M. J., a kol., 2015).

Zvýšený fibrinogén a D-Diméry sú často pozorované laboratórne abnormality kompatibilné s hyperkoagulabilitou a sú považované za dva najdôležitejšie markery (Khan, Inayat Hussain, a kol., 2020). Tabuľka číslo jedna nám zahŕňa súhrn laboratórnych testov pri ktorých sa očakáva zvýšenie alebo zníženie ich úrovne.

## 5.2 Hladiny D-Diméru u pacientov s COVID-19

V správnom klinickom nastavení normálna hladina D-Diméru naznačuje, že nedochádza k významnej aktivácii intravaskulárnej koagulácie. Samotné testovanie D-Dimérov nestačí na diagnostické rozhodnutia pri VTE alebo DIC, preto sa častejšie používa ako súčasť diagnostického algoritmu. Zistilo sa, že výrazne zvýšené hladiny D-Diméru zvyšujú pravdepodobnosť PE. Naopak, u septických pacientov sa predpokladá, že pokles D-Diméru naznačuje inhibíciu fibrinolýzy a je spojený s vyššou mortalitou (Semeraro, Fabrizio, a kol. 2019).

Sledovanie laboratórnych parametrov, vrátane hladiny D-dimérov, môže byť u pacientov s COVID-19 užitočné na určenie rizika vzniku krvných zrazenín a komplikácií spojených s trombofilou. D-Diméry sú proteíny, ktoré sa uvoľňujú do krvi po rozklade krvných zrazenín. Čiže sú produkované v krvi po rozklade fibrínového polyméru plazmínom. Fibrín je molekula, ktorá je uložená v ARDS. D-Diméry označujú úroveň poškodenia plúc. Vo všeobecnosti D-Diméry monitorujú závažnosť zápalu tak, že sa zvyšujú s progresiou ochorenia, takže hodnoty D-Dimérov sú  $> 1,5 \text{ mg/l}$ . Progresívny nárast hladín D-dimérov bol skutočne pozorovaný u pacientov s COVID-19 (Loo, Joan, a kol., 2020).

Pri tomto ochorení sú významne zvýšené, čo pravdepodobne odráža trombózu plúcneho vaskulárneho lôžka a fibrinolýzu. D-Diméry odrážajú tvorbu fibrínovej zrazeniny, zosiet'ovanie zrazeniny pomocou FXIIIa a fibrinolýza.

Zdá sa, že výrazné zvýšenie D-Dimérov u ochorenia COVID-19 odráža aktiváciu koagulácie z virémie a cytokínovej býrky, ale superinfekcia a dysfunkcia orgánov sú ďalšími možnými príčinami. Z takmer 1500 hospitalizačí COVID-19 Li a kol. našli dve vstupné kovariáty, ktoré korelovali so zvýšeným rizikom úmrtia a to vek (OR 1,18; 95% CI 1,0–1,4) a východiskovú hladinu D-Diméru (OR 3,0; 95% CI 1,0–7,0) (Lippi, Giuseppe., 2019).

Štvornásobné zvýšenie hladín D-Dimérov by sa malo považovať za významné podľa predbežných usmernení medzinárodnej spoločnosti pre trombózu a hemostázu (ISTH) o rozpoznaní a manažmente koagulopatie pri COVID-19.

### **5.3 Hladiny fibrinogénu u pacientov s COVID-19**

Fibrinogén je glykoproteínový komplex, ktorý sa enzymaticky premieňa trombínom na fibrín v čase poškodenia tkaniva, čo spôsobuje zrážanie krvi a zastavenie krvácania. Laboratórne parametre pacientov s COVID-19 preukázali protrombickú diatézu. Jeho vysoké hladiny sú spojené s trombózou aj nezávisle od akútnej fázy. Okrem toho vysoký fibrinogén prispieva k viskozite krvi. Je to jeden z prvkov Virchowovej triády, ktorý hrá úlohu pri vzniku trombózy (Zou, Ying, a kol., 2020).

Krvné doštičky sú pritiahované do oblasti cytokínom indukovaného endotelového poškodenia a aktivujú sa. Prostredníctvom procesu aktivácie krvných doštičiek sa z  $\alpha$ -granúl krvných doštičiek uvoľňujú molekuly ako doštičkový faktor štyri (FIV) a neutrofily aktivujúci peptid-2, ktoré sa podielajú na nábore a aktivácii monocytov/makrofágov a neutrofilov. Ďalšie imunitné účinky aktivovaných krvných doštičiek zahŕňajú to, že sú dôležitým zdrojom prozápalového IL-1 $\beta$ , ako aj ďalší nábor neutrofilov prostredníctvom interakcie povrchového P-selektínu. Vplyv krvných doštičiek na imunitnú funkciu a trombózu bol špecificky zdokumentovaný u pacientov s COVID-19 (Hottz, Eugenio D., a kol., 2020).

### **5.4 Hladiny PT, aPTT u pacientov s COVID-19**

U pacientov s COVID-19 sa zistili pri porovnaní so zdravými kontrolami predĺžené protrombínové časy (PT). Veľmi mierne predĺžené PT (vyjadrené v sekundách) boli pozorované u pacientov, ktorí neprežili a u pacientov s COVID-19 v kritickej starostlivosti. Boli hlásené aj mierne predĺžený aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (aPTT).

Predĺžený aPTT je ťažké interpretovať u pacientov s COVID-19, pretože možno identifikovať mnoho príčin predĺženého aPTT. Ako je prítomnosť heparínu, lupus antikoagulancia a zvýšený C-reaktívny proteín (CRP). To sú všetko základné stavy, ktoré sa často vyskytujú u týchto pacientov. aPTT sa tiež uvádza ako skrátený, potenciálne v dôsledku zvýšeného faktora (F) VIII a fibrinogénu v situácii akútnej fázy (Ranucci, Marco, a kol., 2020).

## **5.5 Počet krvných doštičiek u pacientov s COVID-19**

Počet krvných doštičiek je test často vykonávaný u chorých pacientov. Výskyt trombocytopénie je však u pacientov s COVID-19 relatívne nízky.

Prehľad štúdií zameraných na počet krvných doštičiek ukazuje, že u menšiny pacientov je počet krvných doštičiek nižší ako  $100 \times 10^9 / l$ . U väčšiny ľažko chorých pacientov s COVID-19 bola zistená miernejšia trombocytopénia (počet krvných doštičiek bol pod  $150 \times 10^9 / l$ ) (Giannis, Dimitrios, a kol.,2020).

Metaanalýza ukázala, že nízky počet krvných doštičiek (priemerný rozdiel:  $31 \times 10^9 / l$ ) súvisel so zvýšenou závažnosťou ochorenia a úmrtnosťou u pacientov s COVID 19. Trombocytóza bola opísaná aj u pacientov s dlhším pobytom v nemocnici. Výskyt trombocytopénie oproti trombocytóze môže pravdepodobne závisieť od štadia ochorenia, ktoré je výsledkom konzumnej koagulopatie na jednej strane a stimulácie megakaryocytov vyvolanej cytokínovou búrkou na strane druhej (Porfidia, Angelo, and Roberto Pola.,2020). Koagulopatia u pacientov s COVID-19 súvisí s vysokým rizikom VTE a je spojená so zvýšeným rizikom úmrtia. Algoritmus založený na laboratórnych testoch dostupných vo všetkých laboratóriách môže pomôcť pri zvládaní koagulopatie pri COVID-19. Bol navrhnutý Medzinárodnou spoločnosťou pre trombózu a hemostázu, počnúc D-Dimérmi, PT, počtom krvných doštičiek a fibrinogénom (Mucha, Simon R., a kol.,2020).

Koagulopatia je slabý prognostický faktor a mali by sa vyvinúť optimálne stratégie na včasné diagnostiku, prevenciu a rýchlu liečbu VTE u pacientov s COVID-19. Profylaxia trombózy heparínom s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) preukázala priaznivé výsledky pri prevencii koagulopatie a znížení rizika úmrtnosti v dôsledku trombotických príhod.

## **6 ANTIKOAGULAČNÁ LIEČBA HEPARÍNOM S NÍZKOU MOLEKULOVOU HMOTNOSŤOU (LMWH)**

Amtikoagulancia zasahujú rôznymi mechanizmami do koagulačnej kaskády. Medzi parenterálne prípravky patrí nefrakciovany heparín, medzi perorálny potom warfarín, antagonista vitamínu K a najnovšia skupina priamych perorálnych antikoagulancií. Hlavnými indikáciami antikoagulancií je liečba a prevencia žilovej tromboembolickej choroby.

### **6.1 Antikoagulačná liečba antagonistov vitamínu K**

Antikoagulancia patria medzi často predpisované lieky. Mechanizmus ich účinku spočíva v zásahu do koagulačnej kaskády na rôznych úrovniach. Táto liečba je schopná zabrániť závažným komplikáciám vrátane smrti. Je teda nutné ju nielen správne indikovať, ale tiež správne používať. Jednotlivé antikoagulanciá majú svoje špecifiká, líšia sa mechanizmom účinku, spôsobom podávania a ďalšími charakteristikami (Hirmerová J.,2021).

Historicky bola antikoagulačná liečba založená na podávaní antagonistov vitamínu K (VKA), najmä warfarínu a syntromu, ktoré pôsobia najmä znížením syntézy aktívnych faktorov (F) závislých od vitamínu K a to sú FII, FVII, FIX a FX. Kvôli dlhej oneskorenej fáze antikoagulačnej indukcie, dodatočnému inhibičnému účinku na dva fyziologické inhibítory zrážania krvi (tj proteín C a proteín S) a zároveň úzkemu terapeutickému rozsahu sú VKA podporované už desaťročia s počiatočným alebo dodatočným použitím heparínyových derivátov. Tieto bežne zahŕňali nefrakcionovaný heparín (unfractionated heparín, UFH) . Je to komplexný mukopolysacharid s molekulovou hmotnosťou 3000-30000 daltónov (Da). Patrí medzi nepriame antikoagulanciá a na rozvinutie plného antikoagulačného účinku vyžaduje prítomnosť ATIII. Komplex heparín a Antitrombín (ATIII) inaktivuje faktory FVa FXa aj FIXa, FXIa, FXIIa. Nie je absorbovaný perorálne ale vo forme kontinuálnej intravenóznej infúzie. Neskôr bol nahradený heparínom s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) (Franchini M., a kol.,2016).

## **6.2 Antikoagulačná liečba LMWH**

Nízkomolekulové heparíny, low molecular weight heparins- LMWH vznikajú z heparínu chemickou či enzymatickou depolymerizáciou ako fragmenty s priemernou molekulovou hmotnosťou 4500-5000 Da. LMWH pôsobí prevažne na faktor Xa v menšej miere na faktor IIa (FIIa) vykazuje konzistentnejšiu interindividuálnu farmakologickú aktivitu. Mechanizmus účinku LMWH spočíva prevažne v inhibícii F Xa (aktivita anti Xa), v menšej miere vykazujú aj aktivitu anti F IIa. Oproti UFH majú LMWH priaznivejší pomer riziko-benefit a priaznivejšie farmakokinetické vlastnosti. Majú menej nežiadúcich účinkov a postupne nahradili UFH vo väčsine indikácií. Sú hojne používané u hospitalizovaných pacientov ale aj u ambulantných (Hirmerová J.,2021).

V dôsledku zriedkavého, ale možného výskytu heparínom indukowanej trombocytopénie (HIT) sa potom uvoľnili ďalšie zlúčeniny, medzi ktorými je fondaparín, syntetický pentasacharid, ktorý prevažne inhibuje faktor X (FX) a len mierne skrížene reaguje s heparínom. Podobne ako heparíny, aj fondaparín sa podáva parenterálne subkutánne (Franchini M.,a kol., 2016).

## **6.3 Nové perorálne antikoagulanciá NOAC**

Takmer pred 10 rokmi v dôsledku mnohých obmedzení tradičných antikoagulačných liekov (VKA, heparíny a fondaparín) bola vyvinutá nová kategória liekov. Tieto zlúčeniny, predtým známe ako „nové perorálne antikoagulanciá“ (NOAC), boli teraz konečne definované ako „priame perorálne antikoagulanciá“ (DOAC). Patria sem látky, ktoré priamo inhibujú aktivovaný faktor II (F IIa) alebo aktivovaný faktor X (FXa). Spomedzi tejto poslednej skupiny terapeutík už boli rivaroxaban, apixaban a edoxaban schválené na prevenciu mozgovej príhody u pacientov s fibriláciou predsiení alebo prevenciu a liečbu venózneho tromboembolizmu (Favaloro, J., 2012).

## **6.4 Priame perorálne antikoagulanciá**

Významnou nevýhodou tradične používaných antikoagulancií (antagonisty vitamínu K, nefrakcionovaný heparín) je potreba ich monitorovania. V poslednom desaťročí boli do antitrombotickej liečby zavedené priame perorálne antikoagulanciá (direct oral anticoagulants – DOAC), ktoré priamo inhibujú buď trombín, aktivovaný faktor II (FIIa), alebo aktivovaný faktor X (FXa).

Okrem termínu DOAC je táto skupina antikoagulancií označovaná aj ako cieľovo špecifické perorálne antikoagulanciá (target-specific oral anticoagulants – TSOAC) alebo aj ako nové alebo tzv. „non-antivitamin K“ perorálne antikoagulanciá (new/novel/non-vitamin K antagonists (VKA) oral anticoagulants – NOAC) (Staško J.,2019).



Obrázok 6. Miesto účinku DOAC (Staško J.,2019).

NOAC redukujú výskyt CMP a systémovej embólie u pacientov po ischemickej CMP v dôsledku fibrilácie predsiení. Táto redukcia je najmä v dôsledku výskytu hemoragických a nie ischemických CMP. NOAC delíme do dvoch hlavných skupín: priame inhibítory trombínu (dabigatran) a priame inhibítory faktora Xa (rivaroxaban, apixaban, edoxaban). Výhodou NOAC je hlavne rýchly nástup účinku, menší interakčný potenciál a predikovateľná antikoagulačná účinnosť. To umožňuje ich podanie vo fixných dávkach bez nutnosti bežne monitorovať antikoagulačnú účinnosť tak, ako to bolo potrebné pri warfaríne (Garcia a kol., 2013).

DOAC – algoritmus zhodnotenia stavu antikoagulácie



Vysvetlivky: DOAC – nové perorálne antikoagulanciá, aPTT – aktivovaný parciálny tromboplastínový čas, TT – trombínový čas, PT – protrombínový čas, anti-Xa – anti-Xa aktivita, dTT – dilučný trombínový čas

Obrázok 7. Algoritmus zhodnotenia stavu antikoagulácie (DOAC) (Staško J.,2019).

Heparíny sú najpoužívanejšie injekčné antikoagulanciá. Zvyšujú inhibičnú aktivitu antitrombínu, najmä na trombín pri použití nefrakcionovaného heparínu (UFH) a na aktivovaný faktor X (Xa) pri použití heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) (Franchini, M., a kol.,2015).

UFH sa vo veľkej miere používa na jednotkách intenzívnej starostlivosti kvôli svojmu krátkemu polčasu, kompatibilite s renálnym zlyhaním a dostupnosti reverznej látky. Monitorovanie liečby UFH je však hlavným problémom z dôvodu vysokej variability antikoagulancií medzi pacientmi, úzkeho terapeutického okna a rizika trombózy alebo krvácania po podávkovaní alebo predávkovaní. UFH možno monitorovať meraním aktivity anti-faktora Xa alebo aktivovaného parciálneho tromboplastínového času (aPTT) (Favaloro, J., a kol.2013).

Naopak, pacienti užívajúci LMWH nepotrebuju rutinné laboratórne sledovanie, pretože sa podávajú fixné dávky upravené na hmotnosť. Testovanie aktivity anti-faktora Xa sa odporúča v prípadoch, ako je obezita, zlyhanie obličiek, extrémny vek a tehotenstvo (Bonar, R., a kol.,2015).

## **7 MONITOROVANIE HEPARÍNOVEJ ANTIKOAGULAČNEJ LIEČBY**

Antikoagulačná liečba heparínom sa zdá byť základom liečby kriticky chorých pacientov s COVID-19 s VTE pre jej antitrombotické, protizápalové, protikomplementové a priame antivírusové účinky. Heparín inhibuje aktiváciu neutrofilov, viaže zápalové cytokíny a znižuje aktiváciu endotelu, čím blokuje búrku cytokínov, ktorá je primárnoch patogennou udalosťou VTE u pacientov s COVID-19 (Mucha,R., a kol., 2020).

### **7.1 Vyšetrenie Heparín Anti-Xa**

Nízkomolekulárny heparín je liek, ktorý znižuje krvnú zrážanlivosť čiže má antikoagulačný účinok. Liečia sa ním pacienti s trombózou a ľudia s vysokou predispozíciou rizika rozvoja trombózy. Vyšetrenie Heparín Anti-Xa stanovuje úbytok funkčnej aktivity koagulačného faktora FX (Anti-Xa aktívita) a tým nepriamo množstvo LMWH v krvi osoby ktorá sa vyšetruje. Niektoré rizikové skupiny vyžadujú u pacientov vykonávať tento test opakovane, čím môžeme tak sledovať účinnosť liečby LMWH. Takto sa zaistí správne dávkovanie lieku a zabráni závažným krvácavým komplikáciám.

Na monitorovanie heparílovej antikoagulačnej liečby sa odporúča test Anti-Xa, pretože závažná reakcia akútnej fázy ako je vysoký fibrinogén a vysoký faktor VIII (FVIII), skracuje aPTT.

### **7.2 Anti-Xa aktívita (AXA) - kontrola účinnosti liečby LMWH**

Liečba LMWH nie je obvykle monitorovaná, avšak v niektorých prípadoch sa vyžaduje monitoring, ktorý sa sleduje pomocou metódy Anti-Xa. Tieto prípady zahŕňajú tehotných, obéznych, veľmi mladých, alebo naopak starých pacientov a tiež tých, ktorí majú ochorenie obličiek alebo poruchu funkcie obličiek (dysfunkcia). LMWH sa primárne odbúrava v obličkách. Akýkoľvek stav, ktorý znižuje funkciu obličiek, môže spôsobiť zhoršenie odbúravania LMWH, tým zvýšiť jeho koncentráciu v krvi a tak vyvolat' potenciálne zvýšenie rizika masívneho krvácania. Anti-Xa sa nevyšetruje rutinne, ale môže byť vykonávaný kedykoľvek na stanovenie účinku LMWH. Monitorovanie hladiny LMWH pomocou Anti-Xa je tzv. „peak“ test (Baluwala, Israfil, a kol., 2017).

### **7.3 Odber krvi na test Anti-Xa aktivita (AXA)**

Vzorka krvi sa odoberá štyri hodiny po podaní LMWH. Predpokladá sa, že v tejto dobe je najvyššia hladina LMWH. Pokial' je podozrenie na zlé odbúravanie LMWH, je možné vykonať odber vzorky krvi aj mimo stanoveného časového intervalu. Ak chceme zistiť najnižšiu dosiahnutú koncentráciu LMWH v krvi, odoberieme vzorku krvi pred podaním dávky pacientovi. Odber sa nesmie uskutočniť cez heparinizovaný port pre riziko falošnej pozitivity, ktorá nastane z kontaminácie odobratej krvi. Spracovanie vzorky v laboratóriu je potrebné vykonať do 1 hod. od odberu (Baluwala, Israfil, a kol., 2017).

Na Anti-faktor Xa aktivita (AXA) sa vykonáva do odberovej nádoby koagulačnej skúmavky citrát - modrá. Odber treba uskutočniť ako sme už vyššie uviedli optimálne štyri hodiny po podaní LMWH, alebo

po minimálne: 2. – 3. dávke pri terapeutickom dávkovaní á 24 h2

3. – 4. dávke pri terapeutickom dávkovaní á 12 h2

Test možno vyšetriť jeden-krát denne, pri intenzívnej starostlivosti dva-krát denne (min. a max. aktivita) (Príbalový leták 2022).

Je nutné šetrné zaobchádzanie so vzorkou, dbať na kvalitné oddelenie plazmy od bunkových elementov tak, aby nedošlo k aktivácii koagulácie. Pri ikterickej plazme je dôležité mať na pamäti poruchu pečene a tým ovplyvnené koagulačné výsledky. Starú a nesprávne odobratú vzorku nevyšetrujeme (SOP-PLO-HEM-45., 2023).

### **7.4 Vyhodnocovanie Anti-Xa aktivita (AXA)**

Výsledky vyšetrenia Anti-Xa sa vyhodnocujú s ohľadom na podávaný heparín čiže typ LMWH, ako aj čas odberu vzorky a ochorenie, ktoré je liečené. Výsledky z rôznych laboratórií nemusia byť rovnaké, lebo ich referenčné medze sú odlišné.

Všeobecne pre LMWH platí, ak sú výsledky laboratórnych testov v terapeutickom rozmedzí, a jeho klinická odpoved' pacienta je dobrá, to znamená že trombóza sa netvorí, nedochádza ku krvácaniu a nie sú žiadne ďalšie komplikácie, čiže liečba je vhodne nastavená. Ak je výsledok Anti-Xa vyššia, znamená to, že pacient má príliš vysoké dávkovanie, alebo sa liek nedostatočne odbúrava. V tomto prípade je zvýšené riziko masívneho krvácania.

A naopak pri hodnote Anti-Xa je pod terapeutickou hladinou, je potrebné zvýšiť dávkovanie. Vzhľadom na rozdielnosť metód na vyšetrenie Anti-Xa a výsledkov medzi laboratóriami by sa mali vzorky na kontrolné vyšetrenia zasielať len do toho istého laboratória (Baluwala, I., a kol., 2017).

## 7.5 Interpretácia

Vyšetrenie Anti-Xa aktivity slúži na monitorovanie liečby nízkomolekulovými heparínmi (LMWH). Tieto spolu s klasickými nefrakcionovanými heparínmi (UFH) patria medzi antikoagulačné lieky, ktoré ovplyvňujú zrážanie krvi. Inhibujú koagulačné faktory IIa (FIIa) a Xa (FXa), čím inaktivujú hemostázu, bránia vzniku krvných zrazenín, čiže venóznomu tromboembolizmu. LMWH sa využívajú tak na liečbu ako aj na profylaxiu venózneho trombembolizmu. UFH inhibujú rovnako FXa aj faktor FIIa. Majú preto výrazný antikoagulačný efekt s rizikom krvácania pri predávkovaní, čo vyžaduje kontrolu liečby testom aPTT. LMWH inhibujú FXa dvakrát až osemkrát silnejšie než FIIa, z čoho vyplýva najmä antitrombotický efekt, s malým rizikom krvácania. Preto ich použitie štandardne nevyžaduje laboratórnu kontrolu. Profylaktické aj terapeutické hladiny LMWH sa u vybraných pacientov kontrolujú stanovením aktivity Anti-Xa (Wei, Matthew Y., kol., 2015)

Vyšetrenie slúži na kontrolu účinnosti terapie LMWH. Účinnosť liečby je vyjadrená ako anti-faktor FXa aktivita (Anti-FXa, AXA) heparínu v jednotkách IU/ml. Hodnota Anti-FXa zodpovedá skôr antikoagulačnému efektu LMWH, ako priamej koncentrácií LMWH. Najvyššie hodnoty Anti-FXa sa dosiahnú za tri – päť hodín po s.c. podaní LMWH (SOP-PLO-HEM-45., 2023).

Cieľové hodnoty pri prevencii hlbokého žilového tromboembolizmu sú:

Anti-FXa = 0,2 – 0,5 IU/m

Tabuľka 2. Cieľové terapeutické hodnoty Anti-FXa pri liečbe LMWH

Cieľové terapeutické hodnoty Anti-FXa pri liečbe LMWH <sup>2,5-7</sup>			
		Cieľová terapeutická hodnota AXA [IU/mL]	
LMWH	Obchodný názov	á 12 h	á 24 h
<b>Enoxaparín</b>	Clexane	0.6 – 1.0	1.0 – 2.0
<b>Dalteparín</b>	Fragmin	N/A	0.5 – 1.5
<b>Nadroparín</b>	Fraxiparine	0.6 – 1.0	1.3

(Príbalový leták 2022).

Princíp metódy je založený na fotometrickej analýze, kde aktívny FXa štiepi chromogénny substrát a to p-nitroanilín (pNA) naviazaný na krátke peptid. Uvoľnený pNA sa meria pri 405 nm. Množstvo pNA je nepriamo úmerné prítomnosti LMWH inhibujúceho FXa (Príbalový leták 2022).

Monitoring sa odporúča hlavne u pacientov liečených LMWH s rizikom zmeny farmakokinetiky LMWH, ide o predovšetkým terapeutické dávky LMWH, ako je obezita, kachexia, renálne zlyhávanie, pediatrickí pacienti, geriatrickí pacienti ( $>70$  rokov). Ďalej pacienti s rizikom hemorágie (napr. hepatopatie), opakovaných trombóz, gravidné ženy, onkologickí pacienti podstupujúci operačný výkon (Boneu, B., a kol., 2001).

## **8 MONITOROVANIE ÚČINKU LMWH U PACIENTOV COVID-19**

Je zrejmé, že zmeny hemostatickej rovnováhy u pacientov s COVID-19 sú silne narušené a prispievajú k vysokému protrombotickému stavu, čo odôvodňuje použitie antikoagulačnej liečby.

U všetkých pacientov s kritickým alebo akútnym ochorením súvisiacim s COVID-19 by sa mala zvážiť profylaktická dávka nízkomolekulárneho heparínu (LMWH). Ak je LMWH kontraindikovaný, ako napríklad zlyhanie obličiek alebo ECMO, v tomto prípade sa môže podať nefrakcionovaný heparín. Prebiehajú antikoagulačné klinické štúdie s cieľom identifikovať optimálne možnosti profylaktiky a liečby (Susen, S., a kol.,2021).

Monitorovanie heparílovej terapie, najmä UFH, v podmienkach zápalového stavu ako u pacientov s COVID-19, je výzvou pre laboratórium hemostázy. V podmienkach hlbokej koagulopatie môže byť použitie aPTT na monitorovanie liečby UFH obmedzené neschopnosťou použiť aPTT v akútnejch fázach. Ako už bolo uvedené, základné stavy u pacientov s COVID-19 môžu predĺžiť aPTT (prítomnosť lupusového antikoagulancia, zvýšené CRP) alebo skrátiť aPTT (vysoký FVIII a vysoký fibrinogén). To môže viesť k nadhodnoteniu alebo podhodnoteniu antikoagulačného účinku UFH (Susen, S., a kol.,2021).

V súlade s tým v klinickej vinete, ktorá bola nedávno publikovaná v New England Journal of Medicine bol prezentovaný klinický scenár pacienta hospitalizovaného s ľažkým ochorením COVID-19 a diskutované dve rôzne antikoagulačné stratégie. Väčšina odborníkov navrhuje zintenzívnený antikoagulačný režim, zahŕňajúci strednú dávku heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou (napr. enoxaparín, 0,5 mg/kg dvakrát denne), u pacientov s COVID-19. Tento prechodný režim dávkowania enoxaparínu, ktorý sa zdá byť bezpečný u pacientov s COVID-19, bol extrapolovaný zo štúdií u pacientov s traumou (Kofteridis, P., a kol.,2021).

Taktiež sa u pacientov s renálnou dysfunkciou, ľažkou obezitou alebo u pacientov s vysokým rizikom trombózy alebo krvácania, sa odporúča Anti-Xa monitorovanie heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou.

Kofteridis a kol. počas štúdie postupovali podľa protokolu individualizovanej profylaktickej antikoagulácie na základe merania Anti-Xa. Konkrétnie použili sekvenčné meranie Anti-Xa na prispôsobenie dávky enoxaparínu s cieľom dosiahnuť hladiny Anti-Xa 0, 4–0, 5 IU / ml (vyšší tertil profylaktického rozsahu).

Anti-Xa sa meral každé 2–3 dni po každej zmene dávky enoxaparínu. Prekvapivo medzi 16 pacientmi priatými kvôli COVID-19, ktorí boli pôvodne liečení enoxaparínom 40 mg/denne, (81%) pacientov potrebovalo úpravu dávky z dôvodu hladín Anti-Xa nižších ako 0,4 IU/ml (zaujímavé je, že 2 z 13 (15%) pacientov mali hladiny Anti-Xa < 0,2 IU/ml) (Kofteridis, P., a kol.,2021).

Na základe tohto prístupu bola na úspešné prispôsobenie profylaxie u 11 z 13 pacientov (85%) potrebná stredná dávka enoxaparínu 60 mg (medzikvartilný rozsah 50–80 mg) raz denne, pričom iba jeden (8%) mal hladiny vyššie a iba jeden (8%) má hladiny medzi 0,3 a 0,4 IU/ml. Dôležité je, že žiadny pacient v malej sérii prípadov nezomrel ani sa nerozvinula klinicky evidentná trombóza alebo krvácanie. Sekvenčné meranie Anti-Xa by teda mohlo byť bezpečnou metódou na úspešné prispôsobenie individualizovanej profylaktickej antikoagulačnej liečby u hospitalizovaných pacientov s COVID-19 (Kofteridis, P., a kol.,2021).

Bolo popísané, že liečba u pacientov s COVID-19 bola komplikovaná potrebou veľmi vysokých dávok UFH na dosiahnutie adekvátnej antikoagulácie na základe pomery aPTT, čo je fenomén opísaný ako heparínová rezistencia (definovaná ako potreba viac ako 35 000 jednotiek heparínu za 24 hodín na dosiahnutie terapeutických hladín aPTT). Tento jav možno vysvetliť vysokými hladinami FVIII. Skutočná heparínová rezistencia, kde sú hladiny aktivity aPTT a Anti-Xa primerane nižšie, ako sa očakávalo, sa bežne spája so zníženou hladinou ATIII (Beun, R., a kol.,2020).

Predchádzajúce štúdie ukázali, že hladina Anti-Xa je vhodnejším parametrom na monitorovanie antitrombotickej aktivity ako aPTT, hoci diskusia pokračuje. Aj u pacientov s COVID-19 sa zdá, že test Anti-Xa je spoľahlivejší na monitorovanie liečby UFH. Napriek výhode nižšej citlivosti na biologické premenné sú však hlavnými nevýhodami merania Anti-Xa variabilita zloženia činidiel medzi jednotlivými testami, náklady a nižšia dostupnosť v laboratóriách (Baluwala, I., a kol.,2017).

Ak je optimálna dávka na tromboprofylaxiu u pacientov na JIS nejasná, dávka najmenej 50 medzinárodných jednotiek/kg telesnej hmotnosti je v súlade s niektorými usmerneniami, najmä u pacientov s COVID-19, kde sa často uvádzajú nadváha. Preto sa dávka navrhnutá autormi zdá byť veľmi suboptimálna.

Okrem toho dávka 40 mg enoxaparínu bola tiež dávkou hlásenou pri tromboprofylaxii v dvoch štúdiách, ktoré uvádzali veľmi vysokú mieru VTE. Preto sa zdá, že riziko VTE výrazne prevyšuje prínos liečby (Piagnerelli, M., a kol.,2020).

Piagnerelli a kol. odporúčajú skôr prispôsobiť dávky LMWH podľa BMI: 60 mg pre BMI 30 kg/m<sup>2</sup> alebo 30 kg/m<sup>2</sup> a 80 mg pre BMI rovnajúce sa alebo 40 kg/m<sup>2</sup>. Dávky sa môžu upraviť na základe merania maximálnej hladiny Anti-Xa a ak riziko prevyšuje prínos nad rizikom krvácania v dôsledku vyššej frekvencie akútneho zlyhania obličiek u týchto pacientov, možno zmerať najnižšiu aktivitu Anti-Xa alebo je možné stanoviť nefrakcionovaný heparín (Piagnerelli, M., a kol.,2020).

LMWH sa často používa u pacientov v nemocnici na prevenciu a liečbu VTE vďaka relatívne predvídateľnému farmakokinetickému profilu a ľahkému monitorovaniu pomocou Anti-FXa aktivity. Monitorovanie profylaxie sa bežne nepoužíva. Na základe publikovaných štúdií sa však navrhol primeraný cieľový rozsah pre profylaxiu medzi 0,2 a 0,4/0,5 IU/ml. Existujú známe situácie, napríklad v tehotenstve, pri poruche funkcie obličiek a obezite, v ktorých štandardné dávky nemusia dosiahnuť optimálnu tromboprofylaxiu. Neistota však zostáva, pokiaľ ide o hodnotu monitorovania Anti-FXa v takýchto skupinách. Zväženie rizikových faktorov trombózy a krvácania špecifických pre pacienta spolu so vzťahom medzi Anti-FXa aktivitou a klinickým výsledkom môže byť dôležitejšie. Toto je obzvlášť dôležité pri COVID-19, pri ktorom existuje známe spektrum trombózy a rizika krvácania v neskorších štádiách infekcie . Okrem toho, rastúca literatúra o histológii pitvy preukazuje heterogenitu prejavov trombotických ochorení, vrátane vzájomne sa vylučujúcich hlbokej žilovej trombózy a PE, často napriek antikoagulačnej liečbe. Pre plíucnu vaskulárnu oklúziu, ktorá je viac trombotická ako embolická, vyššie dávky LMWH nemusia byť nevyhnutne účinnejšie (Tang, Ning, a kol.,2020).

Kedžže trombotické komplikácie boli často hlásené a spojené s vyššou úmrtnosťou u pacientov na JIS s COVID-19, je pravdepodobne potrebná vyššia dávka LMWH riadená Anti-Xa aktivitou.

Test Anti-Xa je užitočným monitorovacím parametrom na určenie stupňa antikoagulačnej aktivity LMWH hodnotením funkcie špecifického koagulačného kofaktora, faktora Xa (FXa). (Tang, Ning, a kol.,2020).

## **9 CIELE PRÁCE**

Cieľom diplomovej práce bolo vypracovať hodnotenie účinnosti monitoringu antikoagulačnej liečby LMWH testom Anti-Xa na základe výsledkov hospitalizovaných pacientov, ktorým bola v Dolnooravskej nemocnici s poliklinikou MUDr. L.N. Jégého v Dolnom Kubíne vyšetrená hladina D-Dimérov ako prediktívneho faktora ochorenia COVID-19 a monitoring liečby nízkomolekulovými heparínmi, testom Anti-Xa (AXA), ktorý slúži na kontrolu účinnosti terapie LMWH ako prevencie a liečby hlbokého žilového tromboembolizmu, pri infekcii koronavírusom SARS-CoV-2.

Výskumné ciele práce:

1. Zhodnotiť účinnosť liečby LMWH Anti-Xa aktivitou (AXA) u mužov a žien hospitalizovaných s Covid – 19.
2. Zhodnotiť účinnosť liečby LMWH Anti-Xa aktivitou (AXA) podľa vekového rozmedzia u pacientov hospitalizovaných s Covid – 19.
3. Porovnať hladinu D-Dimérov na začiatku hospitalizácie a po jej ukončení, počas antitrombotickej liečby (LMWH).

## **9.1 Spracovanie literárnych zdrojov**

Ako prvé bolo nevyhnutné zostaviť literárny prehľad a dôkladne preskúmať všetky relevantné odborné zdroje na splnenie našich vopred stanovených cieľov. Na konci práce uvádzame literárne zdroje, ktoré boli písané nie len v slovenskom jazyku, ale aj v cudzom jazyku, pričom najčastejším zahraničným jazykom bola angličtina a čeština. Literatúru do diplomovej práce sme vyhľadávali prostredníctvom Centra vedecko-technických informácií Slovenskej republiky (CVTI), pričom najužitočnejší poskytovateľ informácií nám poslúžili databázy ako PubMed, alebo Medline. Okrem elektronických článkov, ktoré tvorili hlavnú časť našej rešerše, nám ako relevantný zdroj poslúžili aj články v printovej podobe z odborných časopisov alebo knižné zdroje. Odborné články sme doplnili aj o informácie zo sprievodných dokumentov od spoločnosti SIEMENS, ktoré boli súčasťou analyzátoru SYSMEX Ca-1500. Pri vyhľadávaní nám ako kľúčové slová pomohli: trombofília, Covid – 19, anti Xa, monitoring LWMH.

## **9.2 Miesto výskumu**

Spracovanie vzoriek, ktoré bolo súčasťou praktickej časti diplomovej práce sa uskutočňovalo v Dolnooravskej nemocnici s poliklinikou MUDr. Ladislava Nádaši Jégého v Dolnom Kubíne na Oddelení klinickej biochémie, hematológie a transfuziológie. Pacienti, ktorých sme zahrnuli vo výskumnom súbore boli pri hospitalizácii so symptomatickým ochorením COVID-19 ľažko a kriticky chorí a vyšetrovaní na Covid oddelení práve spomínaného zariadenia. Diagnóza COVID-19 bola definovaná diagnostikovaným výterom z nosa alebo sérologickým testom na urgentnom príjme.

## **9.3 Kritéria pre zaradenie pacientov do výskumu**

Patientov, ktorí tvoria výskumný súbor, sme vyberali na základe diagnózy, ktorá im bola stanovená na urgentnom príjme v Dolnooravskej nemocnici s poliklinikou v Dolnom Kubíne, pričom diagnóza Covid-19 je rizikový faktor, ktorý vedie k trombofílie a je potrebná tromboprotoklaxia. Kritériá na monitoring testom AXA boli dve. Ako prvé kritérium boli kritickí pacienti, ktorí mali požiadavku na doplnkový kyslík podľa posúdenia lekára. Ako druhé kritérium bola hladina D-Diméru v plazme vyššia 2 až 4-násobok hornej hranice normy na základe laboratórnych testov.

Krv pacientov, bola vyšetrená v potrebných typoch skúmaviek, v období od 1. decembra 2021 do 30. mája 2022, kedy pandémia Covid-19 bola na zostupe.

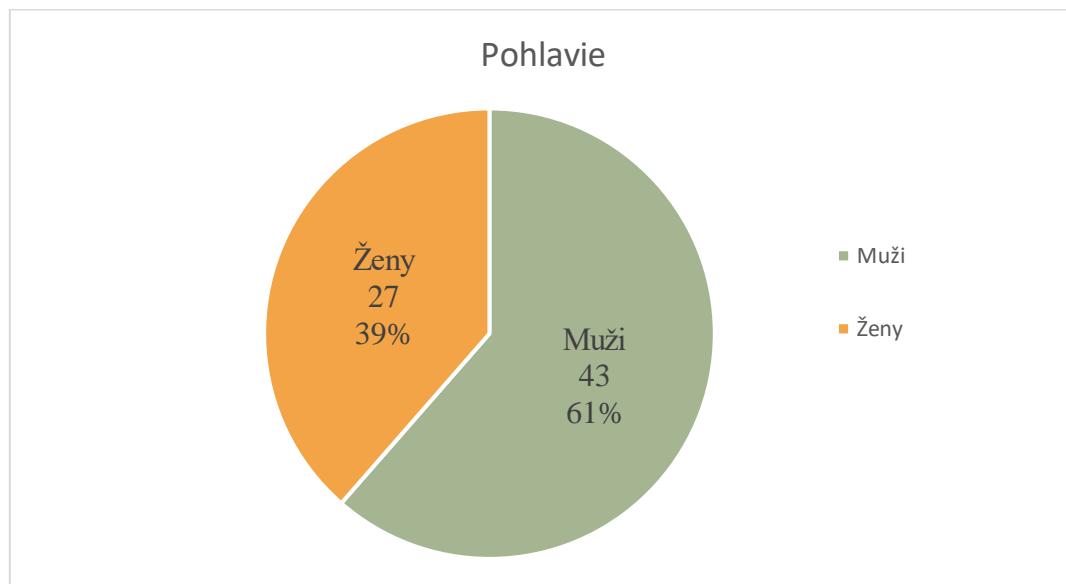
Monitoring liečby sa začal po prijatí na oddelenie Covid a skončil pri prepustení z nemocnice. Pacienti s terapeutickou dávkou dostávali Enoxaparín v dávke (Enoxaparín 1 mg/kg dvakrát denne): 0,4-1,0 U/ml alebo (Enoxaparín 1,5 mg/kg jedenkrát denne): 1-2 U/ml. 1 mg/kg.

Skupina pacientov antikoagulačnej liečby bola definovaná ako skupina, ktorá dostávala heparín s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) počas siedmich dní alebo dlhšie a bola v našej nemocnici najčastejšou používanou antikoagulačnou liečbou pri ochorení COVID-19.

#### 9.4 Charakteristika súboru

V časovom rozmedzí 6 mesiacov, čiže od 1. decembra 2021 do 30. mája 2022 bolo v laboratóriu hematológie a transfuziológie DONsP vyšetrených viac ako 120 testov na test anti Xa(AXA) a 130 na D-Diméri pričom 70 pacientov, ktorí sú súčasťou nášho súboru mali nadváhu alebo potrebovali oxygenoterapiu. Mali určenú diagnózu, ktorá v časovom rebríčku bola najčastejším vyvolávateľom trombofilie a teda pacienti mali indikáciu na liečbu LMWH a jej monitoring pomocou účinku Anti Xa testom. Počas pandémie Covid-19 u hospitalizovaných pacientov sa nakazili tak muži aj ženy takže pohlavie na mortalitu nemalo vplyv. V našej štúdii sme zaznamenali nižší podiel žien ako mužov hospitalizovaných na oddelení Covid, čo znázorňuje nás graf číslo 1.

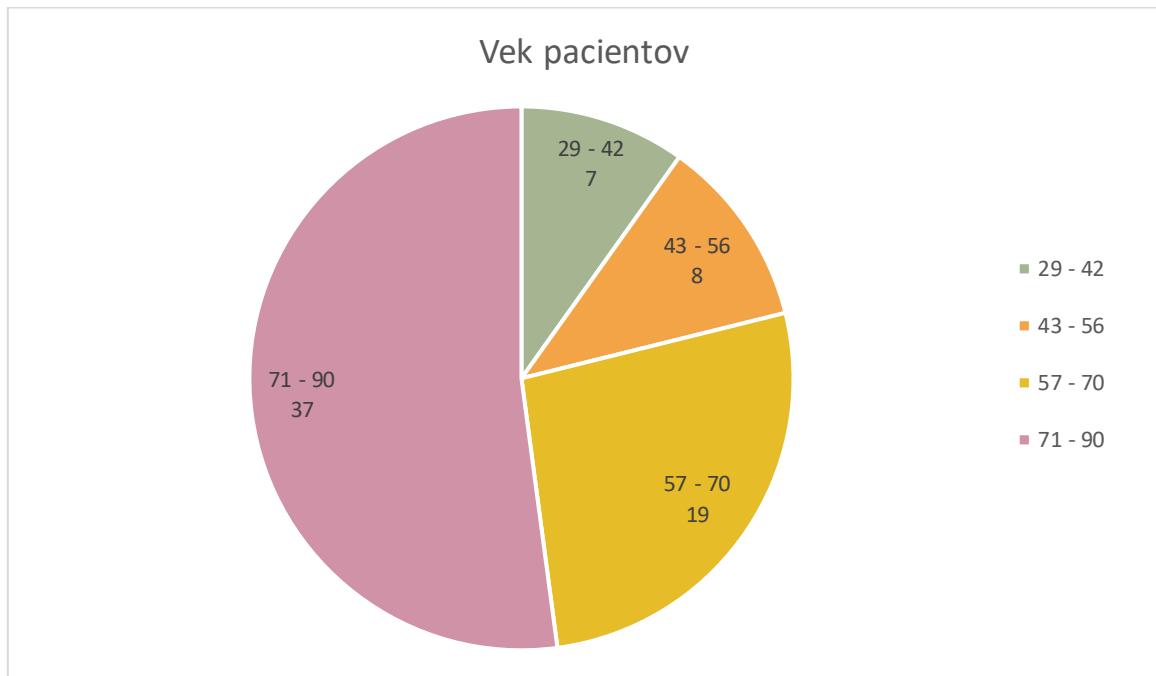
Graf 3. Deskripcia výskumného súboru podľa pohlavia



(Vlastné zhodnotenie)

Infekcia SARS-CoV-2 môže viest' k tăžkému zápalu plúc alebo smrti, ako jeden z rizikových faktorov je vek pacientov. Práve u hospitalizovaných pacientov s Covid-19 sa stretávame s vyššou vekovou hranicou nad 60 rokov, čo potvrdzuje náš graf č. 2.

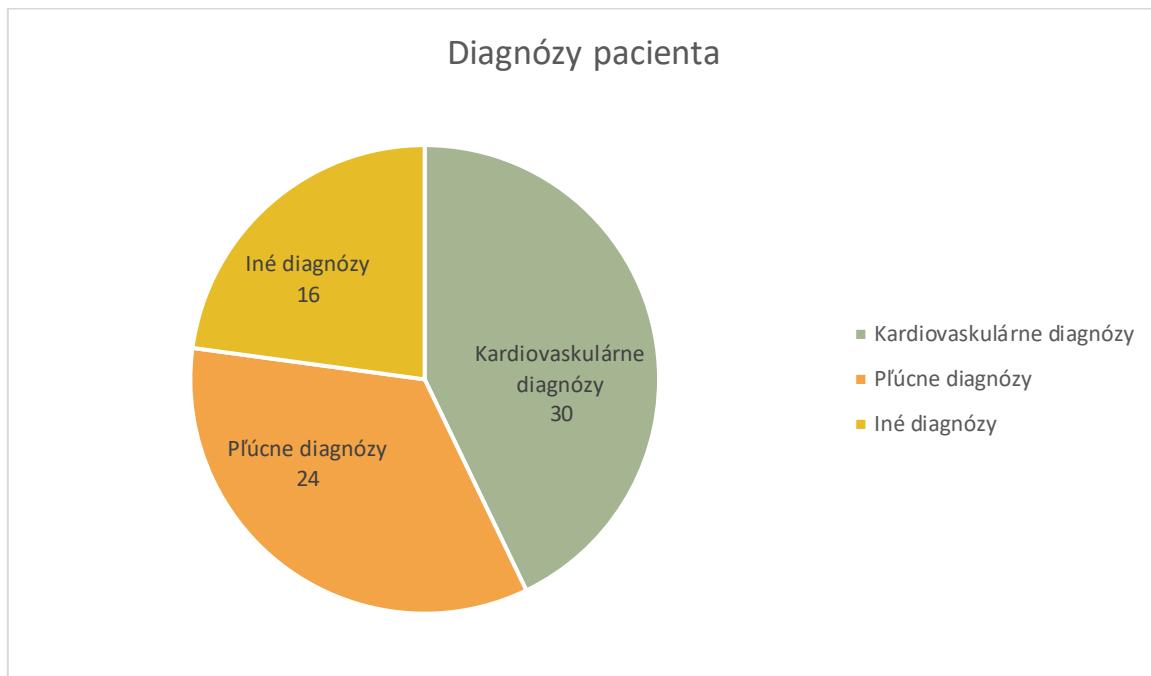
Graf 4. Deskripcia výskumného súboru podľa veku



(Vlastné zhodnotenie)

Spoločným znakom pacientov bola ako hlavná diagnóza uvádzaná potvrdená infekcia Covid-19 (U07.1), následne pacienti boli rozdelení do jednotlivých kategórií. Podiel diagnóz pacientov pri monitoringu antitrombotickej liečby zobrazuje nasledujúci graf číslo 3.

Graf 3. Deskripcia výskumného súboru diagnózy pacienta



(Vlastné zhodnotenie)

V prvej kategórii sa nachádzali pacienti s kardiovaskulárnymi diagnózami ako sú fibrilácia a flater predsienní (I 49.5), taktiež subendokardiálny infarkt myokardu (I 21.4), infarkt myokardu (I 21.0), zlyhávanie srdca bližšie neurčené (I 50.9), recidivujúca hĺbková žilová trombóza žil DK (I 80.2) a bolest' v hrudníku bližšie neurčená (R07.4).

Do druhej kategórie sme zatriedili pľúcne diagnózy pacientov so zápalom pľúc či akútnej respiračnej insuficienciou.

Poslednú kategóriu tvoria diagnózy, ktoré boli v súbore menej zastúpené. Patria tu pacienti so zlomeninou alebo stavmi súvisiace s graviditou zastúpené sú aj ochorenia obličiek a anémia(D 50.0). Túto skupinu pacientov sme zahrnuli do kategórie iné diagnózy.

## **9.5 Vyšetrenie Anti- Xa (AXA)**

Vyšetrenie Anti-Xa sme realizovali v laboratóriu klinickej biochémie, hematológie a transfuziológie v DONsP, na koagulometri SYSMEX Ca-1500 od spoločnosti SIEMENS (obrázok č.8). K detekcii sa používajú pomôcky, ktoré sú súčasťou setu, čiže Reagent, Substrát. Reagencie je potrebné skladovať pri teplote 2 – 8 °C, pretože sú citlivé na teplotu. Po otvorení setu jeho stabilita je 8 týždňov.



Obrázok 8. Prístroj SYSMEX Ca-1500 (Vlastné zhodnotenie).

## **9.6 Výskumný materiál**

Okrem spomínaných reagencií na vyšetrenie Anti-Xa, nám ako biologický materiál poslúžila venózna krv. Krv sa odoberala do plastových skúmaviek obsahujúcich antikoagulačné činidlo. Najčastejšie dodanou skúmavkou do laboratória bola skúmavka, ktorá mala citrát v pomere 0,5 ml a 4,5 ml venóznej krvi.

Vďaka citrátu nedochádza k zrážaniu krvi čiže antikoagulovaná krv by mala byť odobratá optimálne 4 hodiny po podaní LMWH.



Obrázok 9. BD VACUTAINER® - 9NC 4,5 ml (Vlastné zhodnotenie).

Transport vzorky do laboratória na testovanie po odbere mal by byť doručený čo najskôr. Z laboratórnych pomôcok nám ako jediná poslúžila laboratórna centrifúga, ktorú sme použili na centrifugáciu odobratej vzorky.

### **9.7 Bezpečnosť pri práci**

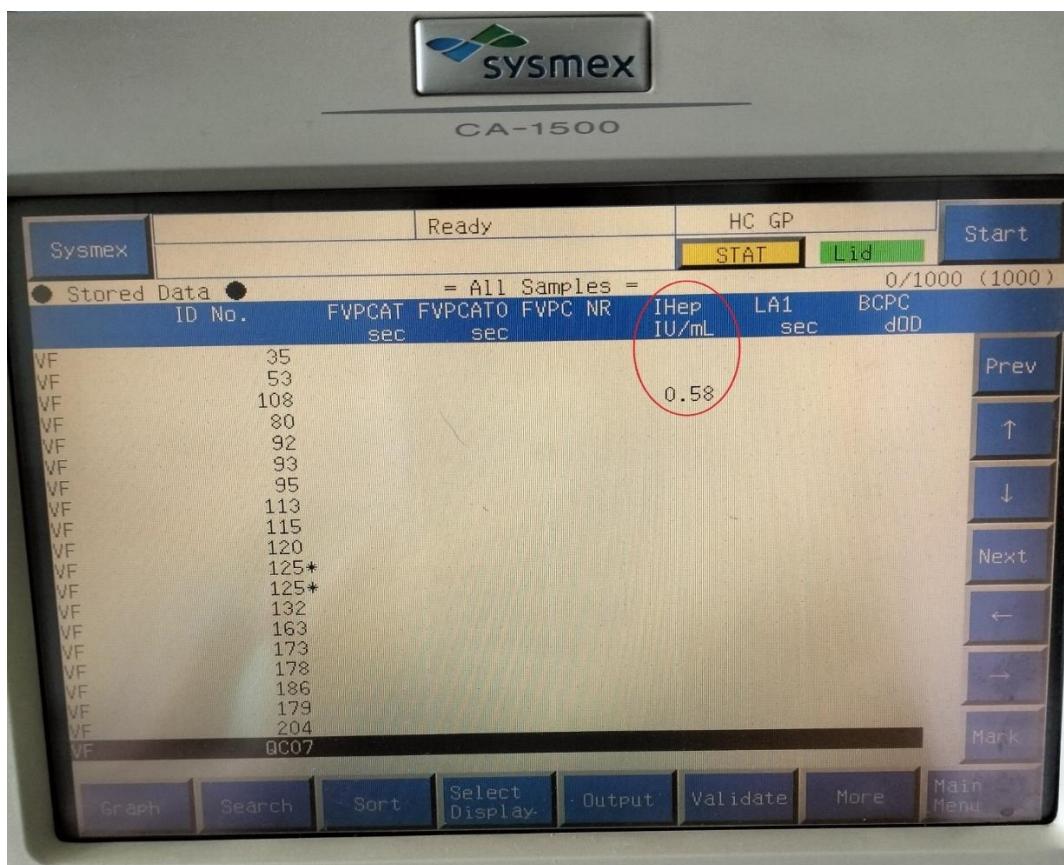
Pri realizácii vyšetrenia sme zachovali bezpečnosť pri práci, pretože sme pracovali s infekčným materiálom. Treba mať na zreteli, že materiál, s ktorým sme pracovali pochádzal od pacientov, ktorí sú v nemocnici hospitalizovaní na oddelení Covid. Preto bolo veľké riziko nakazenia sa rovnakou infekciou. Ako ochranné pomôcky sa vyžadovali, aby sme pri práci používali rukavice a respirátor (Filtering, Half, Mask, FFP2 NR).

### **9.8 Postup práce**

Pred samotným vyšetrením bolo potrebné skontrolovať či dodané reagencie sú vhodné na použitie. Znamená to, že nesmú byť nijakým spôsobom poškodené, set nesmie byť po dátume expirácie a musí byť dostatočne skontrolovaná jeho kalibrácia. Vyšetrenie spoločne s predanalytickou a analytickou fázou trvalo približne 4 hodiny a 20 minút. Pričom väčšinu času tvorila práve predanalýza. Podmienkou správneho vyšetrenia Anti-Xa je príprava pacienta a správny odber, to znamená 4 hodiny po podaní LMWH a zároveň pamätať, že sa odber nesmie vykonať cez heparinizovaný port pre riziko falošnej pozitivity z kontaminácie heparínom. Transport do hematologického laboratória bolo potrebné vykonať čo najskôr po odbere. Samotnú analýzu sme vykonávali do 1 hodiny. Odstredenie vzorky sme docielili pri 3000 rpm (revolutions per minute) za 15 minút.

Centrifugáciou krvi sme zabezpečili, aby sa erytrocyty efektívne oddelili od plazmy. Takto pripravenú vzorku sme použili na analýzu.

Na začiatok analýzy sme zaplnili koagulometer SYSMEX Ca-1500 na ľavom boku a následne prebehlo testovanie prístroja. Po dosiahnutí pracovných teplôt prechádzal prístroj do stavu READY. Vizuálne sme skontrolovali, či reagenty nie sú zakalené a sú v dostatočnom množstve. Vložili sme ich do prístroja (Reagent, Substrát) a zároveň doplnili pufer (Owren) a čistič (SORB, Savo 1:1), destilovanú vodu. Prípadne ak je potrebné vyliali odpad a vložili kvytety do prístroja. Vzorky, ktoré sme centrifugovali pri 3000 rpm 15 minút sme vložili do Racku, je súčasťou analyzátoru, stlačili ID No ENTRY, zadali číslo vzorky a stlačením ikony v hornej časti obrazovky sme vyberali požadovaný test. Potvrdili ENTER a mohlo ísť ďalšie zadanie merania. Po zadaní vzoriek sme stlačili "start" a analyzátor sám začal automaticky vykonávať analýzu a koniec práce nám signalizoval zvukový signál. Po približne 5 minútach nám stroj na displeji zobrazil hodnotu aktivity heparínu v jednotkách IU/ml.



Obrázok 10. Sysmex-Ca-1500-displej (Vlastné zhodnotenie).

Používané reagencie na vyšetrenie Anti-Xa obsahujú REAGENT, SUBSTRÁT (Obrázok 4). Povrch setu INNOVANCE® Heparin Assay je označený a toto označenie zahŕňa čiarový kód udávajúci kód testu, číslo šarže, Lot súpravy, a dátum, do kedy môže byť použitý.

Následne bol použitý Test INNOVANCE® Heparin Assay (obrázok č.), ktorý generuje výsledky testov s menším počtom krokov, takto zjednoduší pracovný tok s ľahko použiteľnými kvapalnými činidlami a jedinou kalibračnou krivkou pre nefrakcionovaný heparín (UFH) aj heparín s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH). Je to automatizovaný chromogénny test na kvantitatívne stanovenie aktivity nefrakcionovaného heparínu (UFH) a nízkomolekulového heparínu (LMWH) v citrátovej ľudskej plazme. Má široký a konzistentný rozsah testu 0,10 až 1,50 IU/ml pre UFH a LMWH je podporovaný piatimi úrovňami kalibrátora pre väčšiu presnosť. Jednoduchá kalibrácia pre UFH a LMWH znížuje zložitosť a eliminuje riziko vyhodnocovania na nesprávnej krivke. Nie je žiadna ručná príprava, čiže výhodou je jednoduchá manipulácia s ním a použitie sa realizuje na hemostatických systémoch Siemens Healthineers a Sysmex®.



Obrázok 11. Heparínový test INNOVANCE (Vlastné zhodnotenie).

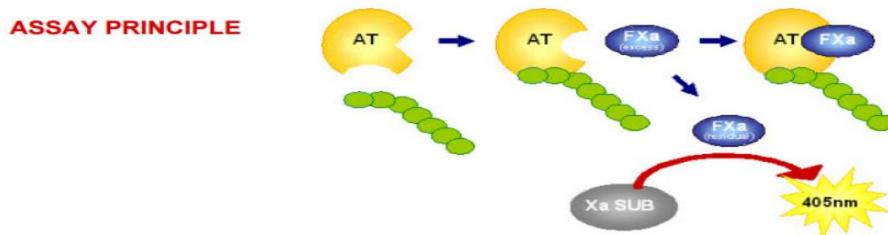
Výrobcovia naznačujú, že monitorovanie koncentrácií Anti-Xa je potrebné len vtedy, ak je predpokladané trvanie liečby dlhšie ako 14 dní.

Z praktického hľadiska by sa koncentrácie Anti-Xa mali merať iba vtedy, ak sa pacient bude liečiť LMWH počas dlhého obdobia ( $> 14$  dní) alebo má špecifický rizikový faktor, ako je poškodenie obličiek, ktoré by ovplyvnilo vylučovanie LMWH (Egan, a kol., 2015).

### 9.9 Princíp Anti- Xa (AXA)

Nízkomolekulárne heparíny ovplyvňujú prevažne aktivitu faktora Xa (FXa), preto je vhodné ich sledovanie Anti-Xa testom. Nameraná Anti-Xa aktivita sa považuje za priamo úmernú plazmatickej koncentrácií.

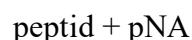
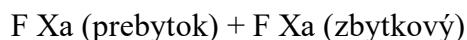
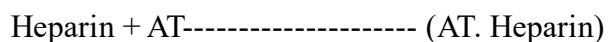
Odporúčanou metódou je chromogénny postup. Plazma pacienta sa pridá k známemu množstvu nadbytku faktora Xa (FXa). Ak je heparín prítomný v plazme, naviaže sa na antitrombín a vytvorí komplex s faktorom Xa (FXa). Množstvo reziduálneho faktora Xa(FXa) je nepriamo úmerné množstvu heparínu v plazme. Zvyškový faktor Xa (FXa) sa deteguje pridaním substrátu, ktorý napodobňuje prirodzený substrát faktora Xa (FXa). Ten sa štiepi zvyškovým faktorom Xa(FXa), pričom sa uvoľňuje farebná zlúčenina (chromofór), ktorú je možné detegovať spektrofotometrom. Množstvo uvoľneného chromofóru je nepriamo úmerné aktivite prítomného heparínu. Každé uvoľnenie chromogénneho substrátu sa meria oproti kalibračnej krivke, ktorá je špecifická pre každý heparín ( Barras M.,2023).



Obrázok 12. Princíp ( Barras M.,2023).

Čiže v praxi faktor Xa (FXa) sa pridáva ku zmesi neriedenej plazmy a chromogénneho substrátu, v prebytku. Behom inkubácie je inaktivovaný Antitrombínom III, s prispením heparínu prítomného vo vyšetrovanej plazme.

Po inhibícii F Xa komplexom (ATIII-Heparín) reaguje zvyškový faktor Xa (FXa) so substrátom za vzniku peptidu a p-nitroanilínu (pNA), ktorých zvýšenie absorbancie sa meria kinetickým testom pri 405 nm. Dextránsulfát znižuje vplyv antagonistov heparínu (Kohoutová,S.,2011).



Nízkomolekulový heparín (LMWH) nemá takmer žiadny vplyv na globálne testy. Výhodou je menšia väzba na plazmatické bielkoviny, bielkoviny uvoľňované aktivovanými trombocytmi a endotelovými bunkami a menšia väzba na makrofágy. Ak sa monitorovanie aktivity Anti-Xa považuje za potrebné, odber vzoriek sa má uskutočniť čo najskôr po začatí alebo úprave liečby.

Heparíny s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) majú polčas rozpadu štyri až šesť hodín u priemerných dospelých a rovnovážny stav nastane v priebehu jedného dňa. Pri poruche funkcie obličiek sa polčas predĺži, ale to by nemalo zhoršiť hodnotenie týchto pacientov, u ktorých existuje riziko krvácania. Maximálna plazmatická aktivita alebo koncentrácia nad cielovým rozsahom zvyšuje riziko krvácania. Na odhadnutie tejto maximálnej koncentrácie (C max) je odporúčaný čas odberu vzoriek štyri hodiny po dávke ( Barras M.,2023).

kategória	Úroveň Anti-Xa
Pacienti neužívajúci heparín	0 U/ml
Terapeutický rozsah na liečbu DVT	LMWH [Enoxaparín 1 mg/kg dvakrát denne]: 0,4-1,0 U/ml
	LMWH [Enoxaparín 1,5 mg/kg jedenkrát denne]: 1-2 U/ml
	Danaparoid: 0,5-0,8 U/ml
Profylaxia DVT	Nie je definovaný rozsah, ale vo všeobecnosti v oblasti 0,1-0,3 U/ml merané 3-4 hodiny po subkutánnej injekcii

( Barras M.,2023)

## **9.10 Štatistické spracovanie údajov**

Údaje vyšetrenia Anti Xa testom spoločne s príslušnými diagnózami (ochoreniami) pacientov sme získavali prostredníctvom Laboratórneho informačného systému (LIS) na oddelení hematológie transfuziológie v DONsP v Dolnom Kubíne. Jednotlivé údaje boli zbierané v časovom období 6 mesiacov, teda od 1. decembra 2021 do 31. mája 2022. Po zozbieraní potrebných údajov sme dostupné informácie zaznačili do programu Microsoft Excel, pričom pacientov sme selektovali do jednotlivých kategórií. Najskôr na základe základného ochorenia, ktoré ich sprevádzalo počas celej hospitalizácie, ku ktorej sme neskôr priradili namerané hodnoty Anti Xa (AXA) a D-Dimérov ich zostup pri monitoringu účinku liečby.

Ďalším kritériom pri hodnení monitoringu účinku Anti Xa pacientov bol vek a zároveň sme aj určili podiel mužov a žien zastúpených v súbore.

## 10 VÝSLEDKY

V časovom období od 1. decembra 2021 do 31. mája 2022 sme do nášho súboru zozbierali 70 pacientov, ktorí mali dýchavičnosť spolu s komorbiditami, ktoré ich predisponovali k závažnej infekcii SARS-CoV-2 a boli prijatí na covid oddelenie Dolnooravskej nemocnice s poliklinikou MUDr. L. N. Jégého v Dolnom Kubíne. Všetci boli vyšetrení pred hospitalizáciou na internom príjme spomínaného zariadenia. Percentuálne zastúpenie mužov bolo 61% u žien 39%, menšie percento bolo v našom súbore zastúpené ženské pohlavie. Priemerný vek sme vypočítali u žien 71 rokov a mužov 65 rokov, pričom najmladší pacient s Covid- 19 a vyšetrenou aktivitou anti Xa mala žena 29 rokov , zatiaľ čo najstarším bol 92 ročný muž.

Tabuľka 3. Zastúpenie pacientov

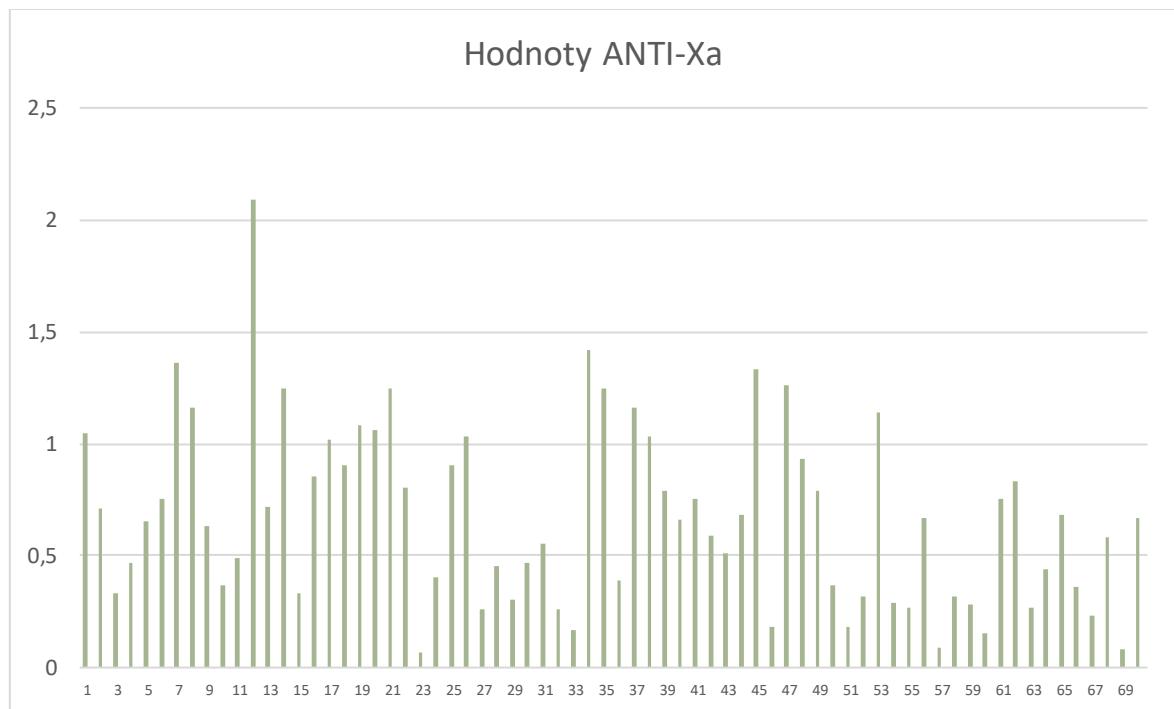
POHĽAVIE	POČET	PERCENTO	MIN VEK	MAX VEK
<b>Ženy</b>	27	39	29	91
<b>Muži</b>	43	61	40	92
<b>Spolu</b>	70	100	29	92

(Vlastné zhodnotenie)

Tromboprotexia sa vykonávala hlavne nízkomolekulárnym heparínom (LMWH) . Covid oddelenie bolo prostredím, kde je individuálna variabilita pacientov extrémna a kde tradičné antitrombotické protokoly boli často neúčinné. To sa vedelo už dlho, no hospitalizácia mnohých pacientov so zápalovými bûrkami COVID-19 zrazu zvýraznila tieto poznatky. Preto bolo rozumné navrhnúť variabilné protokoly antitrombotickej prevencie založené na začiatku na základe série individuálnych kritérií (hmotnosť, BMI a trombotické riziká). Usmernenia pre klinickú prax, manažment liečby hospitalizovaných dospelých pacientov antitrombotickej terapie Dolnooravskej nemocnice s poliklinikou MUDr. L. N. Jégého v Dolnom Kubíne, bral do úvahy výber antikoagulačných liečiv pri ktorých bolo nutné zvažovať aj liekové interakcie. U hospitalizovaných pacientov s kritickým priebehom sa preferovalo podávanie LMWH alebo nefrakciovaneho heparínu pred orálnymi antikoagulanciami, pretože heparíny majú kratšie eliminačné polčasy, môžu byť podávané i.v. alebo s.c. a vykazujú menej liekových interakcií. Úpravu dávkovania heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou (LMWH) a účinnosť liečby sme monitorovali pomocou testu Anti-Xa (AXA).

Kritériá nášho súboru boli pacienti s diagnózou COVID-19, ktorí mali pozitívny test PCR na SARS-CoV-2 vo vzorkách dýchacích ciest a potrebovali podporu dýchania, vysokoprietokovú kyslíkovú terapiu, tiež pacienti s nadváhou. Úprava terapeutickej liečebnej dávky enoxaparínu bola riadená testom Anti-Xa aktivitou. Cut-off hodnoty namerané v časovom období šest' mesiacov je znázornené na grafe č.1.

Graf 4. Hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivita



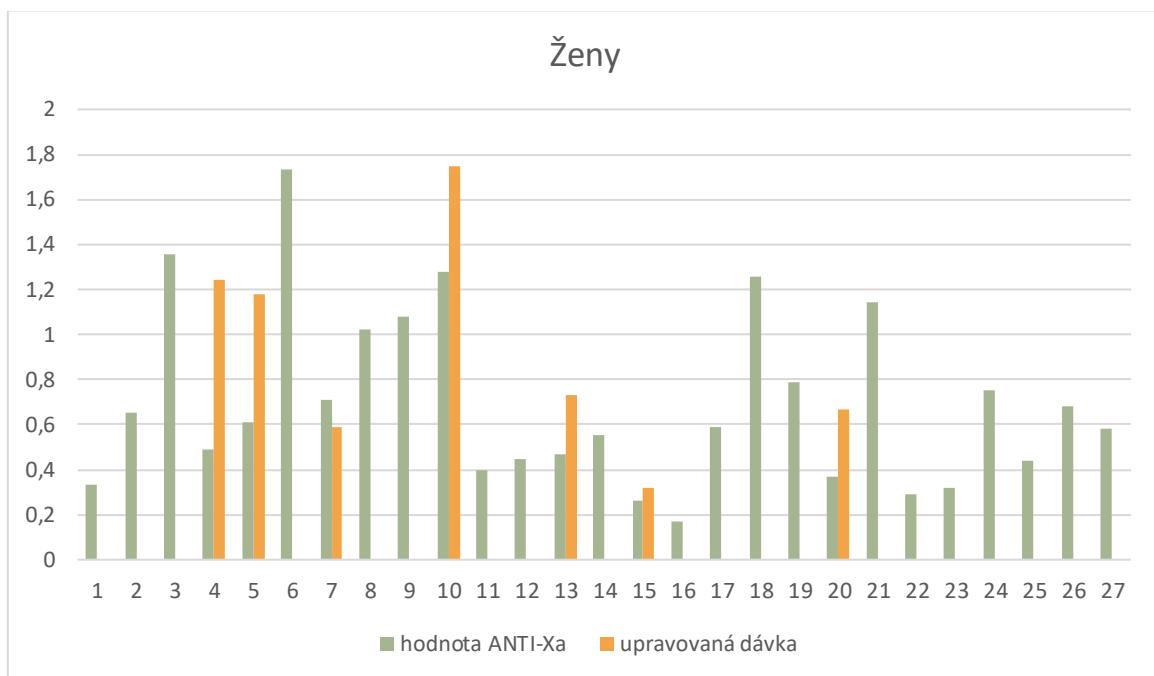
Cut-off hodnoty namerané v časovom období šest' mesiacov (Vlastné zhodnotenie).

Na grafe vidíme, že terapeutická liečebná dávka enoxaparínu bola nastavená na (Enoxaparín 1 mg/kg dvakrát denne): 0,4-1,0 IU/ml alebo (Enoxaparín 1,5 mg/kg jedenkrát denne): 1-2 IU/ml. Taktiež môžeme vidieť že u 11 pacientov boli hodnoty nižšie (0,1-0,3 IU/ml) v profylaktickej dávke, kvôli diagnózam ktoré sme zaradili do kategórie iné a to stavy súvisiace s graviditou a zlomenina.

Úprava dávky vo väčšine nebola potrebná len u niektorých pacientoch ktorí mali nízku hladinu Anti-Xa, alebo na základe hladiny D-Dimérov, ktoré aj napriek zahájenej antitrombotickej liečbe boli vysoké.

Namerané hodnoty pomocou testu AntiXa (AXA) pri monitoringu antitrombotickej liečby nízkomolekulovými heparínmi LMWH nám ukazujú na dosiahnuté rozpäťie hodnôt (0,4-1,0 IU/ml a rozpäťie hodnôt 1-2 IU/ml u obidvoch pohlaviach ako ženy tak i muži. Namerané hodnoty sme znázornili graficky jednotlivo pre mužov a ženy.

Graf 5. Hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity u žien

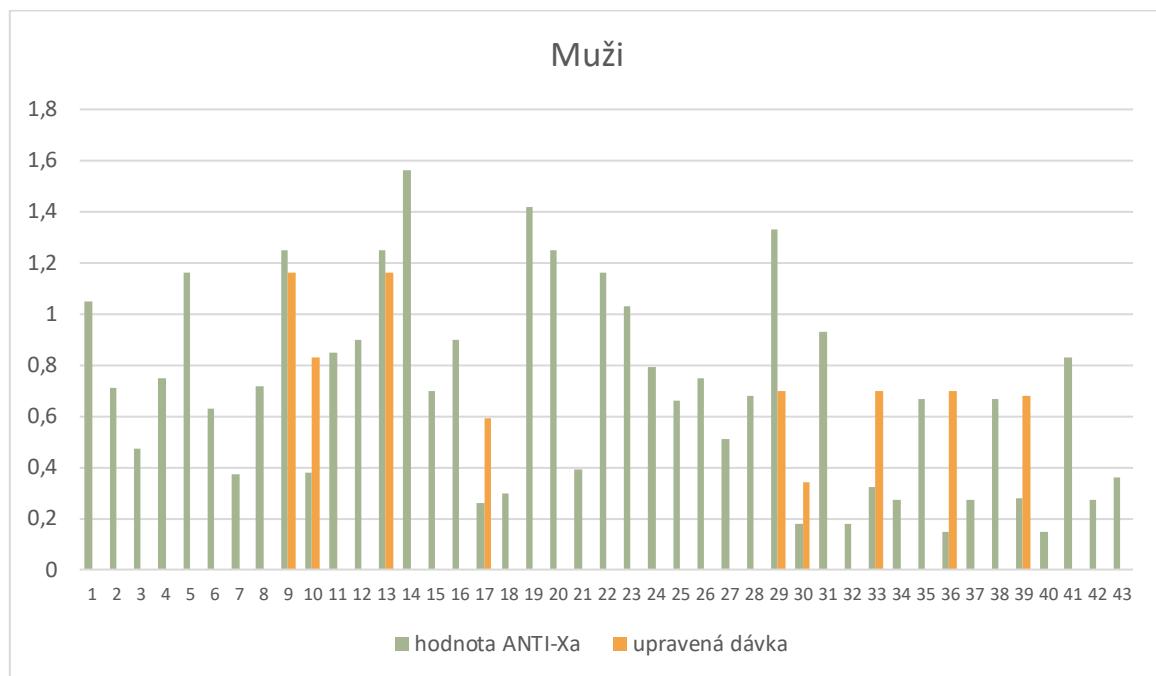


(Vlastné zhodnotenie)

Hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity boli v terapeutickom rozsahu 0,4-1,0 U/ml a 1-2 IU/ml, iba šiestim pacientkam čiže pacientky číslo štyri, päť, desať, 15, 20, 13, bola dávka upravovaná na vyššiu hodnotu a jednej pacientke číslo sedem na nižšiu hodnotu. Pacientky číslo jeden, 15,16,22,23 mali hodnoty odporúčané na rozsah v rozpäti 0,1-0,3 IU/ml, boli liečené profylaktickou dávkou .

V porovnaní s pohlavím ženy sme u mužov mali hodnoty taktiež v terapeutickom rozsahu 0,4-1,0 IU/ml a 1-2 IU/ml. Taktiež ako u žien sme aj u mužov zaznamenali hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity 0,1-0,3 IU/ml u štyroch pacientov ktorí boli liečení profylaktickou dávkou. Vyššie opísané hodnoty mužov sú zobrazené na grafe č.3.

Graf 6. Hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity u mužov



(Vlastné zhodnotenie)

Namerané hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity u mužov boli v terapeutickom rozsahu, upravované hodnoty sme zaznamenali u deviatich pacientov a to číslo deväť, 13, 29 sa dávky upravili na nižšie, čo zaznamenávajú hodnoty Anti Xa, u pacientov číslo desať, 17, 30, 33, 36, a pacient 39 na vyššiu dávku, ako sme aj zaznamenali zvýšené hodnoty Anti-Xa (AXA) aktivity.

Všetci zahrnutí pacienti vo výskumnom súbore boli liečení dávkami nízkomolekulového heparínu (LMWH) na predídenie trombotických príhod počas hospitalizácie s upravenými dávkami na telesnú hmotnosť a podstúpili aspoň jedno meranie Anti-Xa, pričom ďalšie stanovenia Anti-Xa boli klinicky riadené. Maximálne hladiny Anti-Xa boli hodnotené pomocou chromogénneho testu v citrátovej plazme odobratej 4 hodiny po podaní LMWH. LMWH (enoxaparín) sa podával dvakrát denne o 6:00 a 18:00 na dosiahnutie terapeutického rozsahu 0,4-1,0 IU/ml alebo sa podával jedenkrát denne o 6:00, aby sa umožnil odber krvi počas rannej zmeny o 10:00 na dosiahnutie terapeutického rozsahu 1-2 IU/ml a pacienti s profilaktickou dávkou v rozpätí 0,1-0,3 IU/ml.

Namerané hodnoty Anti-Xa u mužov sa pohybovali od 0,4 IU/ml – do 0,1 IU/ml a od 1 IU/ml - do 1,6 IU/ml , ženy mali v súbore rozsah od 0,4 IU/ml - do 0,8 IU/ml a od 1,0 IU/ml – do 1,8 IU/ml na terapeutické liečenie. Cieľové hodnoty zaznamenané v súbore sa mierne líši od bežnejšie navrhovaného 0,2–0,5 UI/ml .

Kedžže niektorí autori navrhli prijať vyššie cieľové hodnoty Anti-Xa na profylaxiu LMWH, keď sú pacienti charakterizovaní signifikantne vyšším rizikom trombózy, ako máme definovaný náš súbor pacientov, naši respondenti mali nastavenú liečbu jednotlivo podľa hmotnosti a klinických indikácií na rozsahu 0,4–0,1 IU/ml a 1-2 IU/ml, prípadne sa dávka upravovala podľa kliniky pacienta, aby sa zabezpečila odporúčaná hranica od 0,4 IU/ml a neprekročil sa prah 1,0 IU/ml , čo súvisí so zvýšeným rizikom krvácania.

Anti-Xa aktivita bola u všetkých pacientov meraná 89-krát, z toho 16 pacientov malo druhé meranie po úprave dávky. 29 meraní u mužov bolo v terapeutickom rozsahu od 0,4 - 0,96 IU/ml, medián Anti-Xa aktivity bol 0,70 IU/ml pri liečbe Enoxaparín 1 mg/kg dvakrát denne (0,4-1,0 IU/ml) , štyri merania boli nižšie z dôvodu klinických indikácií od 0,34-0,39 UI/ml (0,4 IU/ml), pri liečbe Enoxaparín 1,5 mg/kg jedenkrát denne boli jedenástim pacientom namerané hodnoty Anti – Xa aktivity v rozsahu 1,0-1,6 IU/ml medián bol 1,2-1,3 IU/ml a šiestim pacientom bola stanovená hodnota ktorá dosiahla rozsah od 0,2-0,3 IU/ml pri profilaktickej liečbe po subkutánnej injekcii.

Ženám bolo vykonaných 34 stanovení Anti-Xa aktivity, pričom siedmim pacientkam sme zaznamenali druhé meranie po úprave dávky. 15 meraní bolo v terapeutickom rozsahu od 0,5-0,8 IU/ml medián Anti-Xa aktivity bol 0,6 IU/ml pri liečbe Enoxaparín 1 mg/kg dvakrát denne (0,4-1,0 IU/ml) , tri merania boli nižšie od 0,32-0,33 IU/ml z dôvodu klinických indikácií, deviatim pacientkam sme namerali hodnoty Anti-Xa aktivity v rozpäti od 1,0 – 1,8 IU/ml pri liečbe Enoxaparín 1,5 mg/kg jedenkrát denne, medián bol 1,2 -1,3 IU/ml, pri profilaktickej liečbe rozsah v oblasti 0,1-0,3 IU/ml sme zaznamenali dvom pacientkam 0,2-0,3 IU/ml po subkutánnej injekcii.

Z Celkového počtu zúčastnených pacientov v súbore sme rozdelili do štyroch vekových skupín, kde sme udali počet, minimálny vek, maximálny vek. Z týchto údajov sme získali priemerný vek v jednotlivých skupinách a počet úmrtí čo sme zaznamenali v tabuľke č.4.

Tabuľka 4. Priemerný vek a mortalita

Veková skupina	Počet	Min vek	Max vek	Priemerný vek	Počet úmrtí
<b>29-42</b>	7	29	42	34,4	0
<b>43-56</b>	8	43	56	49,5	0
<b>57-70</b>	19	57	70	62,3	0
<b>71-90</b>	37	71	90	79,9	13

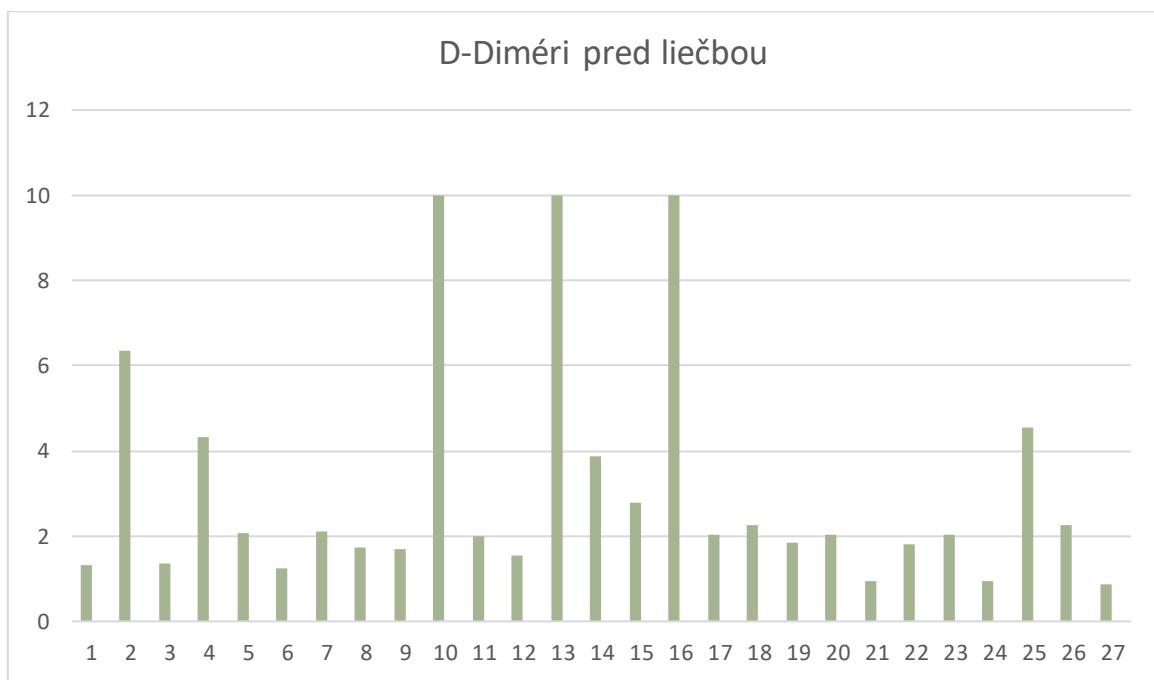
(Vlastné zhodnotenie)

Vo výskumnom súbore 70 hospitalizovaných kritických pacientov na covid oddelení, v prvej vekovej skupine sme zaznamenali siedmich, ktorí mali minimálny vek 29, maximálny 42 a priemerný vek 34,0 počas liečby nízkomolekulovými heparínmi LMWH nezomrel žiadny pacient, druhá veková skupina v ktorej boli ôsmi pacienti s minimálnym vekom 43 a maximálnym vekom 56 bol priemerný vek 50 taktiež sme nezaznamenali žiadne úmrtie počas liečby LMWH, tretiu skupinu tvorili 19 pacienti s minimálnym vekom 57 a maximálnym 70 ani v tejto skupine s priemerným vekom 62 nebolo zaznamenané úmrtie, v poslednej štvrtej ktorú tvorilo najväčší počet, 37 pacientov pri minimálnom veku 71 a maximálnom veku 90 kde bol priemerný vek 80 sme zaznamenali 13 násobnú mortalitu. Vo výskumnom súbore bola u starších osôb potvrdená úmrtnosť, vek bol jeden z rizikových faktorov, čo môžeme vidieť v tabuľke, že z 37 pacientov zomrelo 13 z toho 10 boli muži a tri ženy. Celkovo úmrtnosť u starších osôb sa pozoruje vyššia miera u mužov 14% ako u žien 11%.

Koagulačná dysfunkcia u pacientov s COVID-19 zákerne vedie k progresii do závažného ochorenia a smrteľného výsledku a je charakterizovaná zvýšeným D-Dimérom a trombami v žilách a tepnách. Vysoká hladina D-Diméru v COVID-19 je vyvolaná nadmernými zrazeninami a hypoxémiou. Zvýšenie D-Diméru sme pozorovali u pacientov s COVID-19 s ťažkým ochorením, ktoré významne koreluje s mortalitou. Keďže D-Dimér je produkтом degradácie fibrínu, jeho prítomnosť môže predpovedať plúcnu embóliu a hlbokú venóznu trombózu (DVT). Prognostická úloha hyperkoagulability u pacientov s COVID-19 je nejednoznačná. Preto D-Dimér možno považovať za globálny marker aktivácie hemostázy pri COVID-19.

V našom súbore sme hodnotili hladiny na začiatku pri príjme pacienta a na konci hospitalizácie ako predikčnú hodnotu D-Diméru pre jeho závažnosť, mortalitu a výskyt udalostí venózneho tromboembolizmu (VTE) u pacientov s COVID-19. D-Dimér je produktom degradácie fibrínu a zohráva mechanickú úlohu pri trombozápale pri COVID-19. Pacienti s D-Dimérom  $>10$  mg/l predstavujú vyššie riziko úmrtnosti v porovnaní s pacientmi s nižšími hodnotami D-Diméru. Preto je D-Dimér potenciálnym nástrojom na skríning VTE u pacientov s COVID-19 a na základe zvýšenia D-Diméru je úprava terapeutických dávok antikoagulancií pre pacientov výhodnejšia v porovnaní s profylaktickými dávkami. Hladiny D-Dimérov sme u pacientov s COVID-19 sledovali na začiatku hospitalizácie a po jej ukončení. Namerané hodnoty D-Dimérov pri príjme u žien nám ukazuje graf č. 7.

Graf 7. D-Diméri pred liečbou u žien

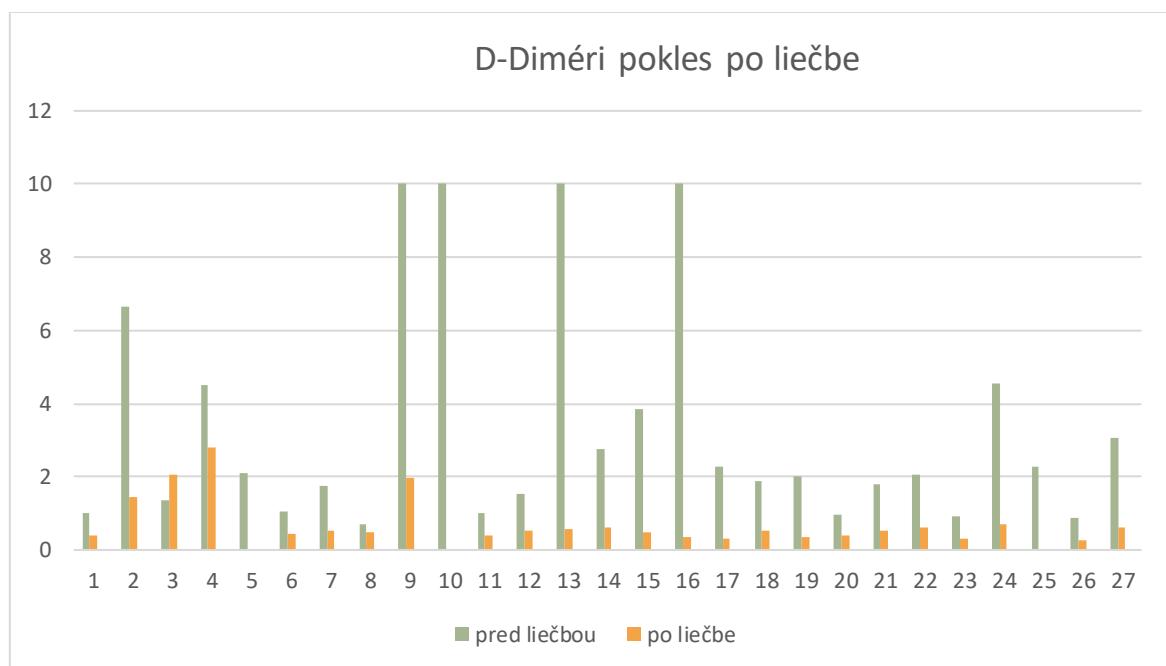


(Vlastné zhodnotenie)

Namerané hodnoty boli od dvojnásobnej hranice normy ( $N<0,5\text{mg/l}$ ) vyššie u siedmich pacientov a u 20 presahovali až štvornásobok normálnej hodnoty pri hospitalizácii.

Počiatočné zvýšené hladiny D-Diméru vo východiskovej hodnote klesli po antikoagulačnej liečbe LMWH u pacientov s COVID-19, čo naznačuje, že zmeny D-Diméru predstavujú zlepšenie hyperkoagulačného stavu, ako aj stabilný biomarker pre antikoagulačný účinok liečby. Pokles hodnôt v skúmanom súbore u žien pri liečbe nízkomolekulovými heparínmi (LMWH) sme zaznamenali na grafe č.8.

Graf 8. D-Diméri pokles po liečbe u žien

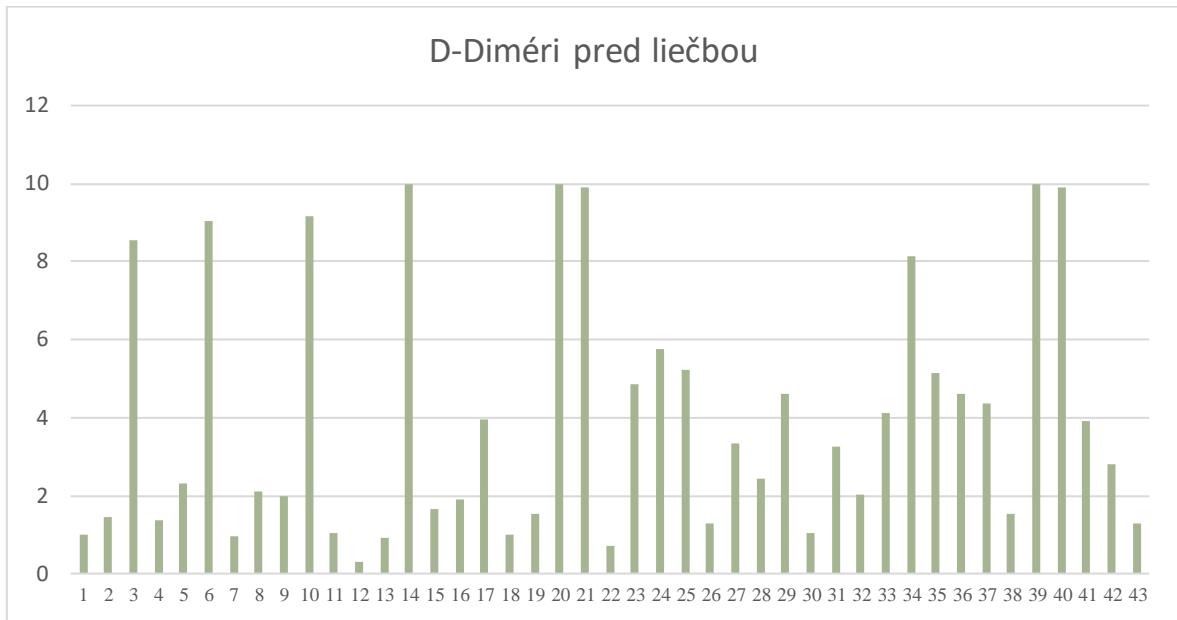


(Vlastné zhodnotenie)

Pokles D-Dimérov u žien bol viditeľný čo znázorňuje na grafe oranžový stĺpec. Pacientky číslo štyri a deväť mali hodnotu D-Dimérov trojnásobnú, (2,8 mg/l) aj pri liečbe nízkomolekulovými heparínmi LMWH, 22 pacientiek mali hodnoty v norme alebo hraničné a trom pacientkám nebola nameraná hodnota po liečbe nakoľko nastala smrť.

V súbore ktorí tvorili muži sme namerali hodnoty pred liečbou ako aj u žien dvojnásobné hranice normy ( $N < 0,5 \text{ mg/l}$ ) aj štvornásobné a vyššie, čo zobrazuje nasledujúci graf č.9.

Graf 9. D-Diméri pred liečbou u mužov

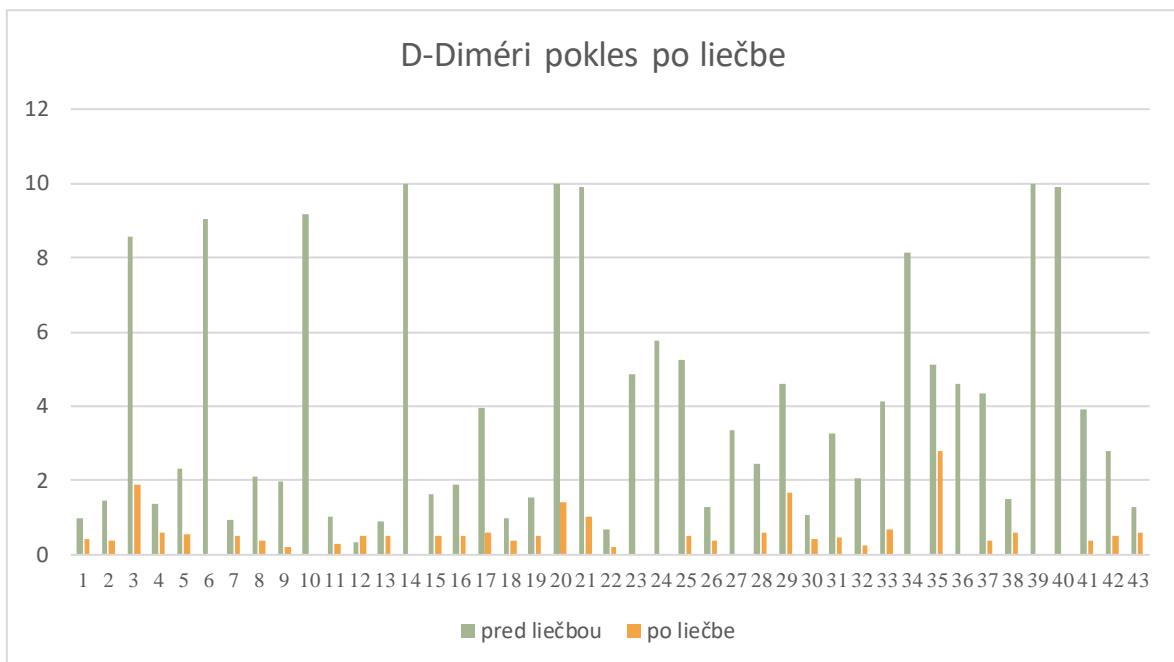


(Vlastné zhodnotenie)

Namerané hodnoty D-Dimérov u deviatich mužov dosahovali dvojnásobné hodnoty normy. U siedmich bola hodnota trojnásobná a u ostatných dvadsiatich siedmich pacientov hodnota presahovala štyrikrát normu hodnoty.

Nasledujúci graf číslo 10. znázorňuje pokles hodnôt D-Dimérov u mužov, ktoré sme zaznamenali počas liečby nizkomolekulovými heparínmi LMWH.

Graf 10. D-Diméri pokles hodnôt u mužov



(Vlastné zhodnotenie)

Rovnako ako u žien aj u mužov bol pokles D-Dimérov viditeľný. Štyrom pacientom číslo 10,20,29 a 35 aj pri výraznom poklese bola zaznamenaná hodnota 2-3krát vyššia oproti normálnej hodnote ( $N < 0,5 \text{ mg/l}$ ). 39 pacientom pokles D-Dimérov bol hraničný alebo v norme. Iba u desiatich pacientov nebola meraná hodnota po liečbe nakoľko nastala smrť.

D-Dimér je ľahko dostupný test vo všetkých nemocniacích. Pre hospitalizovaných pacientov neexistuje konsenzus o tom, ako často by sa mal merať D-Dimér alebo ako by sa malo na základe výsledkov postupovať s ohľadom na antikoaguláciu u pacientov s COVID-19. My sme sledovali namerané hodnoty na začiatku a na konci liečby. Z prezentovaných hodnôt je vidieť, že merania D-Dimérov boli prospešné. Po začatí terapeutickej antikoagulácie sme pozorovali pokles D-Diméru u žien a mužov, ako je znázornené na grafe č.8 a grafe č.10 , agresívna profylaktická antikoagulácia (dávka enoxaparínu 1mg/kg dva krát denne 0,4-1,0 IU/ml, alebo 1,5mg/kg jeden krát denne 1-2 IU/ml ) viedla k D-Dimérom pod 3 mg/l s príslušnými maximálnymi hladinami Anti-Xa ako sme uviedli na grafe č.5 a grafe č. 6.

Vrchol Anti-Xa test je užitočným monitorovacím parametrom na určenie stupňa antikoagulačnej aktivity LMWH hodnotením funkcie špecifického koagulačného kofaktora, faktora Xa (FXa) . Kvôli hyperkoagulačnému stavu u našich pacientov analyzovali maximálne hodnoty Anti-Xa 4 hodiny po podaní, aby sme určili účinnosť LMWH.

Agresívna antikoagulačná liečba s primeraným monitorovaním maximálnej hladiny Anti-Xa priniesla na našom pracovisku uspokojivé výsledky. Môžeme povedať, že na základe našich zistených parametrov D-Dimérov a hodnoty pomocou testov Anti-Xa aktivity, liečba LMWH bola účinná. Síce 13 hospitalizovaní pacienti zomreli, dôvodom nebola nedostatočná antikoagulačná liečba, ale na základe ochorenia infekcie koronavírusom SARS-CoV-2, veku a ich pridružených komorbidít, nastala mortalita.

## **DISKUSIA**

Veľká zápalová odpoved' u pacientov s infekciou SARS-CoV-2 môže viest' k hyperkoagulačnému stavu, mikrotrombóze, trombóze veľkých ciev a v konečnom dôsledku k smrti. Všetkým hospitalizovaným pacientom by sa mala poskytnúť včasná profylaxia VTE. Terapeutická antikoagulačná liečba môže byť prospešná pre kriticky chorých pacientov. Dôkladné sledovanie trombotických komplikácií je nevyhnutné a ak sa potvrdí, má sa zaviesť včasný prechod z profylaktickej na terapeutickú antikoaguláciu. Ukázalo sa, že súhra medzi zápalom a trombózou je charakteristickým znakom vírusovej infekcie SARS-CoV-2.

Naš výskum prebiehal počas zostupu Covid-19 takže sledovanie respondentov v nej bola malá skupina (70 pacientov) kde sme aj napriek ústupu infekcie Sars-cov-2 zaznamenali úmrtia a tie sme štatisticky vyhodnotili (u mužov 14% u žien 11%). Naša analýza zahŕňala sledovanie hodnoty hladín Anti-Xa aktivity u pacientov ktorých sme rozdelili podľa pohlavia veku a hodnoty D-Diméru, aby sme získali dostatočný prehľad nameraných hodnôt spojených s touto tromboprofilaxiou, ktorá sa pohybovala v rozmedzí 0,4-1 IU/l alebo 1-2 IU/l Anti Xa aktivity. Výsledky tejto štúdie ukazujú u pacientov o optimálnej liečbe Covid-19 a tým predchádzaní riziku vzniku trombotických udalostí (VTE). Analýzy nám ukázali, že antitrombotická liečba s LMWH mala prospešný vplyv na znižovanie trombotických komplikácií u nemocných s Covid-19 s vyššími dávkami enoxaparínu. Pozorovali sme že liečba kontrolovaná testom Anti-Xa bola účinná čo nám aj potvrdili klesajúce hodnoty D-Dimérov zo štvornásobných hodnôt pod hranicu 3mg/l až na normu 0,5mg/l. Celkovo sme konštaovali, že antitrombotická liečba s LMWH bola sľubnou stratégiou na zníženie rizika trombotických komplikácií u hospitalizovaných pacientov s Covid-19. Avšak rozhodnutie o začatí tejto liečby bolo so zreteľom na možný prínos a riziká pre každého pacienta individuálne. Naše výsledky korelovali so štúdiami, ktoré možno použiť na porovnanie s rizikom trombózy u pacientov Covid-19 jej liečby LMWH a monitoringom Anti-Xa testom. V štúdii Diamantis P., 2021 väčšina odborníkov navrhuje zintenzívnený antikoagulačný režim, zahŕňajúci strednú dávku heparínu s nízkou molekulovou hmotnosťou (napr. enoxaparín, 0,5 mg/kg dvakrát denne), aj keď neexistujú jasné klinické dôkazy podporujúce účinnosť tejto stratégie u pacientov s COVID-19, ako sa nedávno ukázalo aj u kriticky chorých pacientov s COVID-19. Konkrétnie použili sekvenčné meranie Anti-Xa na prispôsobenie dávky enoxaparínu s cieľom dosiahnuť hladiny Anti-Xa 0, 4–0, 5 IU / ml (vyšší tertil profylaktického rozsahu).

Anti-Xa sa meral každé 2–3 dni po každej zmene dávky enoxaparínu. Prekvapivo medzi 16 pacientmi priatými kvôli COVID-19, ktorí boli pôvodne liečení enoxaparínom 40 mg/denne, 13 (81%) pacientov potrebovalo úpravu dávky z dôvodu hladín Anti-Xa nižších ako 0,4 IU/ml (zaujímavé je, že 2 z 13 (15%) pacientov mali hladiny Anti-Xa < 0,2 IU/ml). Na základe tohto prístupu bola na úspešné prispôsobenie profylaxie u 11 z 13 pacientov (85%) potrebná stredná dávka enoxaparínu 60 mg (medzikvartilný rozsah 50–80 mg) raz denne, pričom iba jeden (8%) mal hladiny vyššie ako hladiny medzi 0,3 a 0,4 IU/ml. Dôležité je, že žiadny pacient v malej sérii prípadov nezomrel ani sa u neho nerozvinula klinicky evidentná trombóza alebo krvácanie. Sekvenčné meranie Anti-Xa by teda mohlo byť bezpečnou metódou na úspešné prispôsobenie individualizovanej profylaktickej antikoagulačnej liečby u hospitalizovaných pacientov s COVID-19 za týmto účelom (Diamantis P.,2021).

Štúdia od Thachil J a kol., a dočasné usmernenie ISTH o rozpoznaní a manažmente koagulopatie pri COVID-19. J Thromb Haemost. 2020 prezentovala rozdiel vo výskytu DVT v profylaktických a neprofylaktických podskupinách (18% a 35%). Preto je zrejmé, že riziko VTE zostáva vysoké u kriticky chorých pacientov s COVID-19 a tromboprofylaxia znižuje úmrtnosť v dôsledku trombotických príhod. Iná štúdia zistila, že heparín znížil riziko úmrtnosti u pacientov, ktorí splnili kritériá koagulopatie vyvolanej sepsou (SIC)  $\geq 4$ , a pacientov, ktorí splnili kritériá koagulopatie vyvolanej sepsou (SIC) <4, zodpovedajúcim spôsobom o 38% a 24%. Podobné výsledky sa našli v minulých výskumoch biológie vírusov SARS, v ktorých heparín preukázal 50% zníženie infekčnosti SARS-CoV2 (Diamantis P.,2021). Mattia Trunfio vo svojej štúdii, kde boli zahrnutí pacienti liečení dávkami nízkomolekulového heparínu (LMWH) upravenými na funkciu obličiek a telesnú hmotnosť a podstúpili aspoň jedno meranie Anti-Xa sa merala maximálna hladina Anti-Xa bola hodnotená pomocou chromogénneho testu (Anti-Xa STA-Liquid; STAGO, Asnieres-sur-Seine, Francúzsko) v citrátovej plazme odobratej 4 hodiny po podaní LMWH. LMWH (enoxaparín alebo parnaparín) sa podával raz alebo dvakrát denne. Cieľové hodnoty Anti-Xa boli 0,3–0,7 a 0,7–1,2 IU/ml na profylaktické a terapeutické použitie. Zatiaľ čo terapeutický cieľový rozsah je v súlade s najčastejšie navrhovaným v literatúre, priatý profylaktický cieľový rozsah sa mierne líšil od bežnejšie navrhovaného 0,2–0,5 UI/ml.

Kedžže niektorí autori navrhli prijať vyššie cieľové hodnoty Anti-Xa na profylaxiu LMWH, keď sú pacienti charakterizovaní signifikantne vyšším rizikom trombózy, nastavili profylaktický cieľový rozsah na 0,3–0,7 UI/ml, aby boli bezpečne a určite nad zvyčajne sa odporúčanú spodnú cieľovú hranicu 0,2 a neprekračili prah 0,8, čo súvisí so zvýšeným rizikom krvácania (Mattia Trunfio 2021).

Na rozdiel od toho výskumníci štúdie RAPID 7 zistili, že terapeutická dávka antikoagulácie s LMWH alebo UFH u stredne chorých hospitalizovaných pacientov s COVID-19 a zvýšenou hladinou D-Diméru významne neznížila primárny výsledok prijatia na JIS, neinvazívnej alebo invazívnej mechanickej ventilácie alebo smrť do 28 dní v porovnaní s profylaktickou dávkou LWMH alebo UFH. Terapeutická antikoagulácia však bola spojená so znížením sekundárneho výsledku úmrtia po 28 dňoch v tejto štúdii a v porovnaní s profylaktickou antikoaguláciou nedošlo k zvýšeniu závažného krvácania. V populácii pacientov na JIS vyšetrovatelia uviedli, že stredná dávka LMWH neposkytla žiadny prínos v porovnaní so štandardnou profylaktickou dávkou antikoagulácie pri prevencii VTE, liečbe extrakorporálnej membránovou oxygenáciou alebo mortalite do 30 dní. Zdá sa, že priaznivý účinok terapeutickej antikoagulácie u hospitalizovaných pacientov s COVID-19 pomocou heparínu sa nevzťahuje na iné triedy antikoagulačnej liečby. Štúdia ACTION 4 preukázala, že hospitalizovaní pacienti s COVID-19, ktorí dostávali terapeutickú antikoaguláciu s rivaroxabanom (klinicky stabilizovaní pacienti) alebo enoxaparinom (nestabilní pacienti) v porovnaní s profylaktickou antikoaguláciou s LMWH alebo UFH, nezlepšili primárny výsledok účinnosti hierarchickej analýzy času, k úmrtiu, trvanie hospitalizácie alebo trvanie doplnkového kyslíka do 30. dňa. Terapeutická antikoagulácia bola spojená so zvýšeným krvácaním u klinicky stabilných aj klinicky nestabilných pacientov. Aj keď medzi týmito štúdiami existuje množstvo podobností, existujú rozdiely, ktoré je potrebné vziať do úvahy. Kritériá pre to, kto bol považovaný za nekriticky chorého (tiež označovaného ako stredne chorý alebo prostredie bez JIS) na rozdiel od kriticky chorého (ťažko chorý alebo prostredie na JIS), sa v rámci štúdií líšili. Zložené primárne výsledky sa v rámci štúdií tiež líšili, hoci jednotlivé zložky zložených výsledkov sa často prekrývali. Všetky štúdie zahŕňali zvýšenú hladinu D-Diméru bud' ako súčasť zaraďovacích kritérií pre účasť v štúdii alebo v konečnej analýze výsledkových údajov, hoci hranica pre zvýšenú hladinu D-Diméru sa medzi štúdiami líšila (z vyššie uvedeného horná hranica normálneho rozmedzia na viac ako 4-násobok hornej hranice).

Napriek metodologickým rozdielom nám tieto štúdie pomáhajú vyvodiť 3 dôležité závery týkajúce sa účinnosti a bezpečnosti antikoagulačnej liečby u hospitalizovaných pacientov s COVID-19. Po prvej, údaje podporujú, že terapeutická antikoagulácia s LMWH je spojená so zlepšenými výsledkami u hospitalizovaných pacientov s COVID-19, ktorí nie sú kriticky chorí alebo v prostredí JIS, najmä u pacientov so zvýšenými hladinami D-Diméru. Po druhé, údaje tiež naznačujú, že pacienti, ktorí sú kriticky chorí a/alebo sú na JIS, nemajú prospech z terapeutickej antikoagulácie a vykazujú zvýšené riziko krvácania v porovnaní s pacientmi, ktorí dostávajú profylaktickú dávku antikoagulácie. Priaznivý účinok terapeutickej antikoagulácie sa znižuje a riziko krvácania sa zvyšuje u pacientov s postupne závažnejším ochorením, potenciálne súvisí s hyperzápalom, narušením endotelu, aktiváciou krvných doštičiek a koagulopatiou. Po tretie, žiadna zo štúdií by nepodporovala použitie antikoagulancia podávaného v dávke medzi profylaktickou a terapeutickou, či už u pacientov na JIS alebo u pacientov bez JIS (Lana Wahid,2021). Monitoring liečby LMWH pri prevencii VTE, štúdia Paul P. Dobesh zistila že pacientom, ktorí dostávajú LMWH na profylaxiu VTE, sa má upraviť dávka vzhľadom na obezitu a funkciu obličiek. U pacientov s BMI 30 až 40 kg/m alebo vyšším alebo s hmotnosťou nad 100 až 120 kg sa zvýšili dávky LMWH, ako je enoxaparin 40 mg dvakrát denne, 60 mg jedenkrát denne alebo 0,5 mg/kg preukázali zlepšenú účinnosť a podobnú bezpečnosť ako štandardné dávky. Podporuje sa názor, že dávky profylaxie by sa mali upravovať smerom nahor na základe prítomnosti zvýšenej telesnej hmotnosti.Vo výskumnej práci sme potvrdili tento názor u hospitalizovaných pacientov bez ohľadu na pohlavie. Taktiež druhý cieľ, liečba u pacientov s vyšším vekom bola účinná a dala šancu na vyliečenie, samozrejme záležala od včasnej diagnostiky a pridružených komorbidít v čase ochorenia.Smrteľné prípady infekcie koronavírusom 2 (SARS-CoV-2) závažného akútneho respiračného syndrómu, pri ktorých sa u pacientov vyvinula závažná venózna trombóza a/alebo PE sme zaznamenali mortalitu aj napriek účinnej liečbe ale bez možnosti kontroly hladiny D-Dimérov.

Štúdie naznačili, že zvýšená hladina D-Dimérov je prediktívnym faktorom závažnosti infekcie koronavírusom SARS-CoV-2 a tým aj spojená vyššia miera mortality a komplikácií u pacientov s COVID-19. Preto sa odporúčalo monitorovať hladinu D-Dimérov u pacientov s COVID-19 a pravidelne ich sledovať počas hospitalizácie (Demelo-Rodríguez, P., a kol.,2020). D-Diméri sú produktom degradácie fibrínu. Zvyšujú sa hlavne pri trombotických príhodách, čo naznačuje fibrinolýzu.

Vedci preto skúmali hladiny D-Dimérov kritickej pneumónie COVID-19 a ich súvislosť s vysokým rizikom VTE, závažnosťou ochorenia a rizikom mortality. Zvýšené hodnoty D-Dimérov prispeli k zlej prognóze a vysokej úmrtnosti u takýchto pacientov (Porfidia, Angelo, and Roberto Pola,2020).

Takéto zvýšené hodnoty D-Diméru možno pripísať aktivácií koagulačnej kaskády sekundárne k syndrómu systémovej zápalovej odpovede (SIRS) u pacientov s ochorením COVID-19. Zhou a kol. preukázali súvislosť medzi vysokými hladinami D-Dimérov a závažnosťou ochorenia u 129 pacientov s COVID-19 prijatých do Šanghajského klinického centra verejného zdravia. Podľa ich výsledkov bolo zvýšenie hladín D-Diméru pri miernej a závažnej infekcii  $<2 \times$  horná hranica normy (ULN) a  $>10$  ULN (Zou, Ying,a kol.,2020). Je to evidentné, keď Mucha a kol. definovali prahovú hodnotu D-Diméru pre vysokorizikových pacientov ako šesťnásobok hornej hranice, tj  $3 \text{ mg/l}$  jednotiek ekvivalentu fibrinogénu [FEU]. Podobne Artifoniho výskum ukázal pozitívnu predikčnú hodnotu 44% a 67% pre hladinu D-Diméru  $\geq 1,0 \text{ mg/ml}$  a  $\geq 3,0 \text{ mg/l}$  v jeho kohorte 65 zo 71 pacientov s VTE COVID-19 (Artifoni, Mathieu,a kol.,2020). Napríklad aj štúdia Demela-Rodríguez a kol. tiež potvrdila súvislosť medzi hladinami D-Diméru a rizikom DVT prostredníctvom retrospektívnej analýzy 156 pacientov s COVID-19, ktorí nie sú na JIS ( Demelo-Rodríguez, P., a kol., 2020).

Taktiež ďalšia prierezová štúdia zistila, že prijímacie hladiny D-Diméru boli nezávisle prepojené s vyšším rizikom proximálnej DVT. Zatiaľ čo D-Dimér, močovina, respiračná frekvencia, krvný tlak a vek 65 rokov alebo starší a (CURB-65) skôre boli nezávisle spojené s vyšším rizikom distálnej DVT u pacientov s COVID-19. Výsledky štúdie uvádzajú, že výskyt DVT je 89% pacientov s D-Dimérom  $>10 \text{ mg/l}$  v porovnaní s 16% pacientov s COVID-19 s D-Dimérom  $<10 \text{ mg/l}$ (Zhang, Li,a kol.,2020). Zvýšenie D-Diméru sa trvalo spája so závažnosťou ochorenia, mortalitou a potrebou asistovanej ventilácie. Tento koagulačný marker sa meral a monitoroval počas priebehu infekcie. Súvislosť medzi PE a D-Dimérom bola potvrdená aj francúzskym výskumom , ktorý preukázal súvislosť medzi zvýšením hladín D-Diméru a rizikom PE prostredníctvom retrospektívnej analýzy CT, angiogramu hrudníka u podozrivých a potvrdených pacientov s COVID-19 s PE a porovnali ich s hladinami D-Dimérov. V zisteniach hladiny D-Diméru vyššie ako  $3,0 \text{ mg/l}$  vykazovali 100% senzitivitu a 67% špecifickosť pre PE. Vysoké hladiny D-Diméru majú nízku hodnotu špecificity pre VTE, pretože sú zvýšené pri mnohých stavoch, ako je tehotenstvo, sepsa, malignita a pooperačné stavy.

Hladiny D-Diméru sú vysoko citlivé až (80–100%) na venózny tromboembolizmus. Preto normálne hladiny ho vylučujú ( Léonard-Lorant, Ian, a kol.,2020). Nedávna prospektívna štúdia zistila, že D-Dimér a produkty degradácie fibrínu/fibrinogénu boli signifikantne vyššie u pacientov s ťažkou infekciou SARS-CoV-2 v porovnaní s pacientmi s miernejšími formami ochorenia a že rutinné monitorovanie môže byť užitočné pri včasnej identifikácii ťažkého ochorenia. D-Dimér, reaktant akútnej fázy, je znakom nadmernej koagulácie, môže byť užitočnými laboratórnymi hodnotami na sledovanie trendu s cieľom predpovedať pravdepodobnosť trombózy a monitorovať progresiu ochorenia. Všetky štúdie, ako je uvedené vyššie, ukazujú silnú súvislosť medzi hladinami D-Dimérov a výskytom všetkých typov VTE u pacientov s COVID-19. V dôsledku toho je vhodnejšie požadovať denné hodnotenie D-Diméru na posúdenie progresie ochorenia u ťažko infikovaných pacientov. Antikoagulačná liečba by sa teda mala začať, keď sú hladiny D-Diméru  $> 10 \text{ mg/l}$  (Khan, Inayat Hussain, a kol.,2020). Niekoľko správ opísalo, že zvýšené hladiny D-Dimérov korelujú s nepriaznivým výsledkom. Preto výrazne zvýšené hladiny D-Diméru, ľubovoľne nastavené na trojnásobné až štvornásobné zvýšenie sú veľmi užitočné pri triedení a manažmente pacientov. Pacienti s takými vysokými hladinami D-Diméru by mali byť hospitalizovaní aj pri absencii iných symptómov, pretože to naznačuje zvýšenú tvorbu trombínu s potenciálnym rizikom trombózy (Crics Triggrsep,2020).

V našej výskumnej štúdii s hospitalizovanými pacientmi s COVID-19 a veľmi zvýšenými hladinami D-Dimérov znížila terapeutická dávka LMWH riziko tromboembolie a úmrtnosti v porovnaní so začiatkom pandémie. Účinok liečby bol pozorovaný najmä do 14 dní po hospitalizácii. Počet vysokorizikových pacientov potrebných na liečbu, aby sa predišlo jednej tromboembolickej príhode alebo úmrtiu, bol malý (13 vo výskumnom súbore), čo naznačuje priaznivý čistý klinický prínos režimu s terapeutickou dávkou LMWH. Pacienti hospitalizovaní s COVID-19 – najmä tí s ťažkým alebo kritickým ochorením – čelia zvýšenému riziku trombózy, najmä VTE, napriek štandardnej heparínovej tromboprototypaxii. Naša výskumná práca ukazuje zníženie tromboembolie a úmrtnosti pri použití terapeutických dávok LMWH na tromboprototypaxiu u vysokorizikových hospitalizovaných pacientov s COVID-19 čo nám potvrdili aj vyššie uvedené štúdie. Výskum identifikoval pacientov na covid oddelení s veľmi vysokým rizikom tromboembolie a úmrtnosťou (u mužov 14% výskyt v skupine so štandardnou dávkou, u žien 11%), pričom sa použilo kritérium veľmi zvýšenej hladiny D-Diméru, u ktorých bol priebeh ochorenia modifikovaný vyššou dávkou antikoagulancie na terapiu.

## **ODPORÚČANIA PRE PRAX**

Po preštudovaní danej problematiky pri ochorení infekciou SARS-CoV-2 a uvedení poznatkov sme dospeli k nasledujúcim odporúčaniam:

- snaha vyhnúť sa nákaze a to nosením rúška alebo respirátora, hlavne na miestach , kde sa nachádza veľa ľudí v uzavretých priestoroch alebo na miestach kde sa zdržiavajú chorí a to nemocnice, lekárne, verejná doprava
- dôležitá je hygiena rúk a odstup
- očkovanie proti Covid-19
- v prípade podezrenia na infekciu včasná diagnostika
- rýchle nasadenie liečby môže znížiť riziko hospitalizácie
- symptomatická liečba u nekomplikovaného priebehu covidu ktorá spočíva v doplnení vitamínov a tlmení prebiehajúcich príznakov ako kašeľ, horúčka, nádcha či iné
- systémová liečba u pacientov s vysokým rizikom tăžkého priebehu podľa metodických usmernení MZ SR, sa používajú ATB, antivirotiká, antikoagulačná liečba, monoklonálne protilátky, terapia kyslíkom a iné
- pacienti by mali začať s postupným zvyšovaním svojej fyzickej aktivity, je dôležité vyhnúť sa dlhodobému sedeniu alebo ležaniu, aby sa predišlo riziku tvorby krvných zrazenín
- správna výživa, podpora imunitného systému (vitamín D,C, zinok) a dostatočný príjem tekutín sú kľúčové pre zotavenie
- pandémia nového koronavírusu je už viac ako dva roky, stále existuje veľa dôvodov na to, prečo ho nebrať na ľahkú váhu, najmä v prípade ľudí ktorých toto ochorenie vážne ohrozenie kvôli ich veku či chronickým ochoreniam

## ZÁVER

V roku 2019 bol v čínskom Wu-chane identifikovaný nový koronavírus. Svetová zdravotnícka organizácia (WHO) klasifikovala tento kmeň ako pandémiu začiatkom roku 2020, pričom rýchlo zasiahla milióny prípadov na celom svete a prekonala jednotky intenzívnej starostlivosti. Jednou z charakteristických čít identifikovaných pri závažnom SARS-CoV-2 sú abnormálne a komplexné koagulačné a hematologické abnormality, vrátane významne zvýšených hodnôt D-Diméru a fibrínu/fibrinogénu, ktoré môžu zvýšiť morbiditu a mortalitu v pacientov ako sme opísali v teoretickej časti výskumnej práce. Agresívna antikoagulačná liečba s primeraným monitorovaním maximálnej hladiny Anti-Xa priniesla na našom pracovisku uspokojivé výsledky.

COVID-19 je ochorenie s vysokým trombotickým rizikom a heparínová terapia s dávkami LMWH alebo UFH prispôsobenými úrovni rizika je potrebná u všetkých hospitalizovaných pacientov, najmä u obéznych a kriticky chorých pacientov. Pravidelné biologické monitorovanie je nevyhnutné na optimalizáciu antikoagulačného manažmentu a liečby a je dôležité posilniť spoluprácu a komunikáciu medzi oddelením a hematologickým laboratóriom.

Záverom možno povedať, že u pacientov hospitalizovaných s COVID-19 so zvýšenou koncentráciou D-Diméru počiatočná terapeutická antikoagulácia v nemocnici s enoxaparínom pre nestabilných pacientov počas 30 dní zlepšila klinické výsledky u kriticky chorých pacientov a zvýšila tak šancu na vyliečenie.

## LITERÁRNE ZDROJE

Yuki, Koichi, et al. “COVID-19 Pathophysiology: A Review.” Clinical Immunology, vol. 215, 2020, p. 108427, <https://doi.org/10.1016/j.clim.2020.108427>.

Ahmed, Sakir, et al. “Thrombosis in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) through the Prism of Virchow’s Triad.” Clinical Rheumatology, vol. 39, no. 9, 2020, pp. 2529–43, <https://doi.org/10.1007/s10067-020-05275-1>. [PubMed]

Ai, Tao, et al. “Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases.” Radiology, vol. 296, no. 2, 2020, pp. E32–40, <https://doi.org/10.1148/radiol.2020200642>.

Anti Xa Assay (Heparín assay ) anti- faktor Xa assay, (2016), obrázok, <https://blog.naver.com/hyouncho2/220789133928>

Artifoni, Mathieu, et al. “Systematic Assessment of Venous Thromboembolism in COVID-19 Patients Receiving Thromboprophylaxis: Incidence and Role of D-Dimer as Predictive Factors.” Journal of Thrombosis and Thrombolysis, vol. 50, no. 1, 2020, pp. 211–16, <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02146-z>.

Baluwala, Israfil, et al. “Therapeutic Monitoring of Unfractionated Heparin – Trials and Tribulations.” Expert Review of Hematology, vol. 10, no. 7, July 2017, pp. 595–605, <https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1345306>.

Baluwala, Israfil, et al. “Therapeutic Monitoring of Unfractionated Heparin – Trials and Tribulations.” Expert Review of Hematology, vol. 10, no. 7, July 2017, pp. 595–605, <https://doi.org/10.1080/17474086.2017.1345306>.

Barras M., ABNORMAL LABORATORY RESULTS 36 : NUMBER 3 : JUNE 2013, Anti-Xa assays, Aust Prescr ;36:98–101, <https://www.nps.org.au/assets/82c6a6ceea998ab6-ff4eccf59155-c847e86a9da68f07c400e15d508aeeb00c229ee2fddaa72d3337ed692bb1.pdf>

Bettina Kemkes-Matthes, Univerzitná nemocnica Gießen a Marburg, Nemecko, Heparínový test INNOVANCE, Siemens Healthineers ,(2023), <https://www.siemens-healthineers.com/sk/hemostasis/innovance-assays/innovance-heparin>

Beun, Robert, et al. "Thromboembolic Events and Apparent Heparin Resistance in Patients Infected with SARS-CoV-2." *International Journal of Laboratory Hematology*, vol. 42, no. S1, 2020, pp. 19–20, <https://doi.org/10.1111/ijlh.13230>.

Bhattarai, Kashi Raj, et al. "Compliance with Saliva Collection Protocol in Healthy Volunteers: Strategies for Managing Risk and Errors." *International Journal of Medical Sciences*, vol. 15, no. 8, 2018, pp. 823–31, <https://doi.org/10.7150/ijms.25146>.

Bonar, Roslyn, et al. "The Effect of the Direct Factor Xa Inhibitors Apixaban and Rivaroxaban on Haemostasis Tests: A Comprehensive Assessment Using in Vitro and Ex Vivo Samples." *Pathology*, vol. 48, no. 1, 2016, pp. 60–71, <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2015.11.025>.

Boneu, Bernard, and Philippe De Moerloose. "How and When to Monitor a Patient Treated with Low Molecular Weight Heparin." *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, vol. 27, no. 05, 2001, pp. 519–22, <https://doi.org/10.1055/s-2001-17961>.

Bryant, Juliet E., et al. "Serology for SARS-CoV-2: Apprehensions, Opportunities, and the Path Forward." *Science Immunology*, vol. 5, no. 47, May 2020, p. eabc6347, <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abc6347>.

Carter, Linda J., et al. "Assay Techniques and Test Development for COVID-19 Diagnosis." *ACS Central Science*, vol. 6, no. 5, May 2020, pp. 591–605, <https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c00501>.

CRICS TRIGGERSEP Group (Clinical Research in Intensive Care and Sepsis Trial Group for Global Evaluation and Research in Sepsis), et al. "High Risk of Thrombosis in Patients with Severe SARS-CoV-2 Infection: A Multicenter Prospective Cohort Study." *Intensive Care Medicine*, vol. 46, no. 6, 2020, pp. 1089–98, <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06062-x>.

Demelo-Rodríguez, P., et al. "Incidence of Asymptomatic Deep Vein Thrombosis in Patients with COVID-19 Pneumonia and Elevated D-Dimer Levels." *Thrombosis Research*, vol. 192, 2020, pp. 23–26, <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2020.05.018>.

Devreese, Katrien M. J., et al. "Interference of C-Reactive Protein with Clotting Times." *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 53, no. 5, Jan. 2015, <https://doi.org/10.1515/cclm-2014-0906>.

Egan, Gregory, and Mary H. H. Ensom. "Measuring Anti-Factor Xa Activity to Monitor Low-Molecular-Weight Heparin in Obesity: A Critical Review." *The Canadian Journal of Hospital Pharmacy*, vol. 68, no. 1, 2015, pp. 33–47, <https://doi.org/10.4212/cjhp.v68i1.1423>.

Favaloro, Emmanuel J., and Giuseppe Lippi. "The New Oral Anticoagulants and the Future of Haemostasis Laboratory Testing." *Biochimia Medica*, 2012, pp. 329–41, <https://doi.org/10.11613/BM.2012.035>.

Favaloro, Emmanuel J., et al. "Laboratory Testing for the New Oral Anticoagulants: A Review of Current Practice." *Pathology*, vol. 45, no. 4, 2013, pp. 435–37, <https://doi.org/10.1097/PAT.0b013e328360f02d>.

Flohr, H., and W. Breull. "Effect of Etafenone on Total and Regional Myocardial Blood Flow." *Arzneimittel-Forschung*, vol. 25, no. 9, Sept. 1975, pp. 1400–03.

Franchini, Massimo, et al. "Carrion's Disease after Blood Transfusion." *Blood Transfusion*, 2015, <https://doi.org/10.2450/2015.0096-15>.

Giannis, Dimitrios, et al. "Coagulation Disorders in Coronavirus Infected Patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and Lessons from the Past." *Journal of Clinical Virology*, vol. 127, 2020, p. 104362, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104362>. [PubMed]

Giannis, Dimitrios, et al. "Coagulation Disorders in Coronavirus Infected Patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and Lessons from the Past." *Journal of Clinical Virology*, vol. 127, 2020, p. 104362, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104362>.

Giannis, Dimitrios, et al. "Coagulation Disorders in Coronavirus Infected Patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and Lessons from the Past." *Journal of Clinical Virology*, vol. 127, 2020, p. 104362, <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104362>.

Gremillet, Marion, et al. "Monitoring Heparin Therapy: Stability of Two Different Anti-Xa Assays Using Blood Samples Collected in Citrate-Containing and CTAD Tubes." *Thrombosis Journal*, vol. 21, no. 1, Feb. 2023, p. 21, <https://doi.org/10.1186/s12959-023-00465-8>.

Griffin, G. J., et al. "Soil Fungistasis: Elevation of the Exogenous Carbon and Nitrogen Requirements for Spore Germination by Fungistatic Volatiles in Soils." *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 21, no. 10, Oct. 1975, pp. 1468–75, <https://doi.org/10.1139/m75-218>.

Gupta, Aakriti, et al. "Extrapulmonary Manifestations of COVID-19." *Nature Medicine*, vol. 26, no. 7, 2020, pp. 1017–32, <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>.

Han, Huan, et al. "Prominent Changes in Blood Coagulation of Patients with SARS-CoV-2 Infection." *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, vol. 58, no. 7, June 2020, pp. 1116–20, <https://doi.org/10.1515/cclm-2020-0188>. [PubMed]

Hirmerová Jana, Antikoagulační léčba – co by měl vědět farmaceut, Plzeň, PRAKTIČKÉ LÉKÁRENSTVÍ 2021; 17(1): 14–21 /, file:///C:/Users/adminka/Desktop/1.hepar%C3%ADny%20Xa%202023-30.01.23/Solen\_lek-202101-0002.pdf%20hepar%C3%ADny%2030.1.2023.pdf

Hottz, Eugenio D., et al. "Platelet Activation and Platelet-Monocyte Aggregate Formation Trigger Tissue Factor Expression in Patients with Severe COVID-19." *Blood*, vol. 136, no. 11, Sept. 2020, pp. 1330–41, <https://doi.org/10.1182/blood.2020007252>.

Huang, Chao, et al. "Rapid Detection of IgM Antibodies against the SARS-CoV-2 Virus via Colloidal Gold Nanoparticle-Based Lateral-Flow Assay." *ACS Omega*, vol. 5, no. 21, June 2020, pp. 12550–56, <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01554>.

infekcie Sars-cov-2 zaznamenali úmrtia a tie sme štatisticky vyhodnotili.

Kaifafa, Georgia, et al. "Coagulation Profile of COVID-19 Patients." *Life*, vol. 12, no. 10, Oct. 2022, p. 1658, <https://doi.org/10.3390/life12101658>. [PubMed]

Katneni, Upendra K., et al. "Coagulopathy and Thrombosis as a Result of Severe COVID-19 Infection: A Microvascular Focus." *Thrombosis and Haemostasis*, vol. 120, no. 12, 2020, pp. 1668–79, <https://doi.org/10.1055/s-0040-1715841>. [PubMed]

Khan, Inayat Hussain, et al. "The Need to Manage the Risk of Thromboembolism in COVID-19 Patients." *Journal of Vascular Surgery*, vol. 72, no. 3, 2020, pp. 799–804, <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2020.05.015>.

Khan, Inayat Hussain, et al. "The Need to Manage the Risk of Thromboembolism in COVID-19 Patients." *Journal of Vascular Surgery*, vol. 72, no. 3, 2020, pp. 799–804, <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2020.05.015>.

Kofteridis, Diamantis P., et al. "Personalized Prophylactic Anticoagulation in Hospitalized Patients with Covid-19 – The Role of Anti-Xa Monitoring." *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 27, no. 8, 2021, pp. 1188–89, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.04.024>.

Kofteridis, Diamantis P., et al. "Personalized Prophylactic Anticoagulation in Hospitalized Patients with Covid-19 – The Role of Anti-Xa Monitoring." *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 27, no. 8, 2021, pp. 1188–89, <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.04.024>.

Kohoutová Simona, BAKALÁŘSKÁ PRÁCE, Přehled vývoje antikoagulační léčby a možnosti jejího monitorování, Praha (2011), online: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/50374/130043739.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Lazzaroni, Maria Grazia, et al. "Coagulation Dysfunction in COVID-19: The Interplay between Inflammation, Viral Infection and the Coagulation System." *Blood Reviews*, vol. 46, 2021, p. 100745, <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100745>.

Léonard-Lorant, Ian, et al. "Acute Pulmonary Embolism in Patients with COVID-19 at CT Angiography and Relationship to d -Dimer Levels." *Radiology*, vol. 296, no. 3, 2020, pp. E189–91, <https://doi.org/10.1148/radiol.2020201561>.

Lippi, Giuseppe, and Emmanuel J. Favaloro. "D-Dimer Is Associated with Severity of Coronavirus Disease 2019: A Pooled Analysis." *Thrombosis and Haemostasis*, vol. 120, no. 05, 2020, pp. 876–78, <https://doi.org/10.1055/s-0040-1709650>.

Liu, Wei, et al. "Analysis of Factors Associated with Disease Outcomes in Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus Disease." *Chinese Medical Journal*, vol. 133, no. 9, May 2020, pp. 1032–38, <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000775>.

Loo, Joan, Spittle, et al. "COVID-19, Immunothrombosis and Venous Thromboembolism: Biological Mechanisms." *Thorax*, vol. 76, no. 4, 2021, pp. 412–20, <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216243>. [PubMed]

Loo, Joan, et al. "COVID-19, Immunothrombosis and Venous Thromboembolism: Biological Mechanisms." *Thorax*, vol. 76, no. 4, 2021, pp. 412–20, <https://doi.org/10.1136/thoraxjnl-2020-216243>.

Lumbers, Eugenie R., et al. "The Lung, the Heart, the Novel Coronavirus, and the Renin-Angiotensin System; The Need for Clinical Trials." *Frontiers in Medicine*, vol. 7, May 2020, p. 248, <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00248>.

Marchandot, Benjamin, et al. "COVID-19 Related Coagulopathy: A Distinct Entity?" Journal of Clinical Medicine, vol. 9, no. 6, May 2020, p. 1651, <https://doi.org/10.3390/jcm9061651>. [PubMed]

Miesbach, Wolfgang, and Michael Makris. "COVID-19: Coagulopathy, Risk of Thrombosis, and the Rationale for Anticoagulation." Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, vol. 26, Jan. 2020, p. 107602962093814, <https://doi.org/10.1177/1076029620938149>.

Mucha, Simon R., et al. "Coagulopathy in COVID-19: Manifestations and Management." Cleveland Clinic Journal of Medicine, vol. 87, no. 8, 2020, pp. 461–68, <https://doi.org/10.3949/ccjm.87a.ccc024>.

Oxley, Thomas J., et al. "Large-Vessel Stroke as a Presenting Feature of Covid-19 in the Young." New England Journal of Medicine, vol. 382, no. 20, May 2020, p. e60, <https://doi.org/10.1056/NEJMc2009787>.

pacientov.

Piagnerelli, Michaël, et al. "Optimizing the Risk-Benefit Balance of Thromboprophylaxis in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019." Critical Care Medicine, vol. 48, no. 10, Oct. 2020, pp. e988–89, <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000004509>.

Porfidia, Angelo, and Roberto Pola. "Venous Thromboembolism in COVID-19 Patients." Journal of Thrombosis and Haemostasis, vol. 18, no. 6, 2020, pp. 1516–17, <https://doi.org/10.1111/jth.14842>.

Porfidia, Angelo, and Roberto Pola. "Venous Thromboembolism in COVID-19 Patients." Journal of Thrombosis and Haemostasis, vol. 18, no. 6, 2020, pp. 1516–17, <https://doi.org/10.1111/jth.14842>.

Ragnoli, Beatrice, et al. "Interrelationship between COVID-19 and Coagulopathy: Pathophysiological and Clinical Evidence." International Journal of Molecular Sciences, vol. 24, no. 10, May 2023, p. 8945, <https://doi.org/10.3390/ijms24108945>. [PubMed]

Ragnoli, Beatrice, et al. "Interrelationship between COVID-19 and Coagulopathy: Pathophysiological and Clinical Evidence." International Journal of Molecular Sciences, vol. 24, no. 10, May 2023, p. 8945, <https://doi.org/10.3390/ijms24108945>. [PubMed]

Ranucci, Marco, et al. “The Procoagulant Pattern of Patients with COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome.” Journal of Thrombosis and Haemostasis, vol. 18, no. 7, 2020, pp. 1747–51, <https://doi.org/10.1111/jth.14854>.

Ruzsiková A., Tomek A., Zvarová M., Robert Mikulík R., Monitorování účinku nových orálních antikoagulancií, Mezinárodní centrum klinického výzkumu FN u sv. Anny v Brně,(2014), Neurológia pre prax | 2014; 15(3),  
[\(Solen\)](file:///C:/Users/adminka/Desktop/1.hepar%C3%ADny%20Xa%202023-30.01.23/monitorovanie%20nov%C3%BDch%20antikoagul%C3%A1cií23.1..pdf)

Salian, Vrishali S., et al. “COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies.” Molecular Pharmaceutics, vol. 18, no. 3, Mar. 2021, pp. 754–71, <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00608>. [PubMed]

Savla, Shreya R., et al. “Cytokine Storm Associated Coagulation Complications in COVID-19 Patients: Pathogenesis and Management.” Expert Review of Anti-Infective Therapy, vol. 19, no. 11, Nov. 2021, pp. 1397–413, <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1915129>.

Scialo, Filippo, et al. “ACE2: The Major Cell Entry Receptor for SARS-CoV-2.” Lung, vol. 198, no. 6, 2020, pp. 867–77, <https://doi.org/10.1007/s00408-020-00408-4>.

Semeraro, Fabrizio, et al. “Low D-Dimer Levels in Sepsis: Good or Bad?” Thrombosis Research, vol. 174, 2019, pp. 13–15, <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2018.12.003>.

Seo, Giwan, et al. “Rapid Detection of COVID-19 Causative Virus (SARS-CoV-2) in Human Nasopharyngeal Swab Specimens Using Field-Effect Transistor-Based Biosensor.” ACS Nano, vol. 14, no. 4, Apr. 2020, pp. 5135–42, <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c02823>.

SOP-PLO-HEM-45, Kvantitativní stanovení Anti-Xa aktivity, 77.pdf anti Xa 30.1.2023.pdf,  
[\(Solen\)](file:///C:/Users/adminka/Desktop/1.hepar%C3%ADny%20Xa%202023-30.01.23/77.pdf%20anti%20Xa%2030.1.2023.pdf)

Spyropoulos, Alex C., et al. “Efficacy and Safety of Therapeutic-Dose Heparin vs Standard Prophylactic or Intermediate-Dose Heparins for Thromboprophylaxis in High-Risk Hospitalized Patients With COVID-19: The HEP-COVID Randomized Clinical Trial.” JAMA Internal Medicine, vol. 181, no. 12, Dec. 2021, p. 1612, <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2021.6203>.

Stančiaková, Lucia a kol., Trombofilné stavy, Martin, Vaskulárna medicína, 2017, 9(2): 54–58, <https://www.solen.sk/storage/file/article/a37e4fe9c79108d40883da73f825d714.pdf>

Staško J., PhD.1 , Ján Staško, jr.2 , Lucia Stančiaková, Miroslava Dobrotová, Jela Ivanková Ingrid Škorňová, Juraj Sokol , Dagmar Statelová, Peter Kubisz, Martin, Laboratórne monitorovanie priamych perorálnych antikoagulancií, Vaskulárna medicína | 2019;11(1) |Solen.sk, <file:///C:/Users/adminka/Desktop/1.hepar%C3%ADny%20Xa%202023-30.01.23/C4%8D%C3%A1nok%20Anti%20Xa%202023.1..pdf>, (Solen)

Susen, Sophie, et al. “Prevention of Thrombotic Risk in Hospitalized Patients with COVID-19 and Hemostasis Monitoring.” Critical Care, vol. 24, no. 1, 2020, p. 364, <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03000-7>.

Tang, Ning, et al. “Anticoagulant Treatment Is Associated with Decreased Mortality in Severe Coronavirus Disease 2019 Patients with Coagulopathy.” *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 18, no. 5, 2020, pp. 1094–99, <https://doi.org/10.1111/jth.14817>.

Thachil, Jecko. “Hypoxia—An Overlooked Trigger for Thrombosis in COVID-19 and Other Critically Ill Patients.” *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, vol. 18, no. 11, 2020, pp. 3109–10, <https://doi.org/10.1111/jth.15029>. [PubMed]

Tomo, Sojit, et al. “Complement Activation and Coagulopathy - an Ominous Duo in COVID19.” *Expert Review of Hematology*, vol. 14, no. 2, Feb. 2021, pp. 155–73, <https://doi.org/10.1080/17474086.2021.1875813>.

VanGuilder, Heather D., et al. “Twenty-Five Years of Quantitative PCR for Gene Expression Analysis.” *BioTechniques*, vol. 44, no. 5, 2008, pp. 619–26, <https://doi.org/10.2144/000112776>.

Wei, Matthew Y., and Salena M. Ward. “The Anti-Factor Xa Range for Low Molecular Weight Heparin Thromboprophylaxis.” *Hematology Reports*, vol. 7, no. 4, Nov. 2015, p. 5844, <https://doi.org/10.4081/hr.2015.5844>.

Zhan, Haoting, et al. “Diagnostic Value of D-Dimer in COVID-19: A Meta-Analysis and Meta-Regression.” *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, vol. 27, Jan. 2021, p. 107602962110109, <https://doi.org/10.1177/10760296211010976>.

Zhang, Li, et al. "Deep Vein Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in Wuhan, China: Prevalence, Risk Factors, and Outcome." *Circulation*, vol. 142, no. 2, July 2020, pp. 114–28, <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046702>.

Zhao, Jiao, et al. "Relationship Between the ABO Blood Group and the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Susceptibility." *Clinical Infectious Diseases*, vol. 73, no. 2, July 2021, pp. 328–31, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1150>. [PubMed]

Zou, Ying, et al. "Analysis of Coagulation Parameters in Patients with COVID-19 in Shanghai, China." *BioScience Trends*, vol. 14, no. 4, Aug. 2020, pp. 285–89, <https://doi.org/10.5582/bst.2020.03086>.

Zou, Ying, et al. "Analysis of Coagulation Parameters in Patients with COVID-19 in Shanghai, China." *BioScience Trends*, vol. 14, no. 4, Aug. 2020, pp. 285–89, <https://doi.org/10.5582/bst.2020.03086>.

## PRÍLOHY

**Dolnooravská nemocnica s poliklinikou MUDr. L. N. Jégého Dolný Kubín  
Hematologicko-transfuziologické oddelenie**

### Súhlas.

Súhlasím s využitím poznatkov databázy informačného systému LIS, TIS našej pracovníčky Be. Anny Hubčíkovej k záverečnej diplomovej práci.

V Dolnom Kubíne, 18.09.2023

**Mgr.Jarmila Mrišková**  
*Mrs*  
**vedúca laborantka HTO**

Dolnooravská nemocnica s poliklinikou MUDr. L. N. Jégého Dolný Kubín	<b>P51283031501</b> HEMATOLOGICKO-TRANSFUSIOLOGICKÉ ODDELENIE
--	--