



## Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-17-0054**

**Nové perorálne antikoagulanciá v prevencii najzávažnejších kardiovaskulárnych ochorení, ich účinok na trombocyty, liekové interakcie, bezpečnosť a možnosti použitia liečby aj u onkologických pacientov**

Zodpovedný riešiteľ **MUDr. Michal Mokáň, PhD.**

Príjemca **Univerzita Komenského v Bratislave - Jesseniova lekárska fakulta v Martine**

### Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

I. Interná klinika, Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

Klinika hematológie a transfuziológie, Jesseniovej lekárskej fakulty v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave

### Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

zahraničný partner neparticipoval na projekte

### Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

Neboli plánované výstupy vo forme patentových prihlášok, vynálezov alebo úžitkových vzorov

### Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Učebnice:

Nehaj F, Sokol J. ECG Interpretation. 1. vyd. Martin : Vydavateľstvo Osveta , 2020, 168 s. Impaktované a karentované práce:

1. Nehaj F, Sokol J, Ivankova J, Mokaň M, Mokaň M, Stasko J. Edoxaban affects TRAP-dependent platelet aggregation. J Thromb Thrombolysis. 2020 May;49(4):578-583. doi: 10.1007/s11239-020-02093-9. PMID: 32221807.

2. Nehaj F, Sokol J, Ivankova J, Mokaň M, Mokaň M. Effect of Bisoprolol on the Level of Dabigatran. Am J Ther. 2020 Mar/Apr;27(2):e159-e164. doi: 10.1097/MJT.0000000000000786. PMID: 30074534.

3. Sokol J, Nehaj F, Ivankova J, Mokaň M, Zolkova J, Lisa L, Linekova L, Mokaň M, Stasko J. Impact of Dabigatran Treatment on Rotation Thromboelastometry. Clin Appl Thromb Hemost. 2021 Jan-Dec;27:1076029620983902. doi: 10.1177/1076029620983902. PMID: 33523711

4. Sokol J, Nehaj F, Ivankova J, Mokaň M, Lisa L, Zolkova J, Vadelova L, Mokaň M, Stasko J. Impact of Edoxaban on Thrombin-Dependent Platelet Aggregation. Clin Appl Thromb Hemost. 2020 Jan-Dec;26:1076029620948585. doi: 10.1177/1076029620948585. PMID: 33054412

5. Sokol J, Nehaj F, Ivankova J, Mokan M. Interaction Between Direct Factor Xa Inhibitors and Digoxin. *Am J Ther.* 2019 Sep/Oct;26(5):e649-e652. doi: 10.1097/MJT.0000000000000851. PMID: 30252680.
6. Sokol J, Nehaj F, Ivankova J, Mokan M, Mokan M. First evidence: rivaroxaban and apixaban reduce thrombin-dependent platelet aggregation. *J Thromb Thrombolysis.* 2018 Oct;46(3):393-398. doi: 10.1007/s11239-018-1709-z. PMID: 30039454.
7. Sokol J, Nehaj F, Ivankova J, Mokan M, Mokan M, Stasko J. Dabigatran affects thrombin-dependent platelet aggregation after a week-long therapy. *Scand Cardiovasc J.* 2018 Aug;52(4):227-231. doi: 10.1080/14017431.2018.1480798.
8. Nehaj F, Sokol J, Ivankova J, Mokan M, Kovar F, Stasko J, Mokan M. First Evidence: TRAP-Induced Platelet Aggregation Is Reduced in Patients Receiving Xabans. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018 Sep;24(6):914-919. doi: 10.1177/1076029617734310. Epub 2017 Oct 19. PMID: 29050502.
9. Sokol J, Hrncar M, Nehaj F, Stasko J. Plasma Levels of Vascular Endothelial Growth Factor and Selected Hemostatic Parameters in Association With Treatment Response in Multiple Myeloma. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2019 Jan-Dec;25:1076029618823280. doi: 10.1177/1076029618823280. PMID: 30845824.
10. Nehaj F, Sokol J, Mokan M, Ivankova J, Mokan M. Thrombin Receptor Agonist Peptide-Induced Platelet Aggregation Is Reduced in Patients Receiving Dabigatran. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2018 Mar;24(2):268-272. doi: 10.1177/1076029617713871. Epub 2017 Jul 13. PMID: 28703014.
11. Sokol J, Guman T, Chudej J, Hlebaskova M, Stecova N, Valekova L, Kucerikova M, Stasko J. Ixazomib, lenalidomide, and dexamethasone combination in "real-world" clinical practice in patients with relapsed/refractory multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2022 Jan;101(1):81-89. doi: 10.1007/s00277-021-04663-0. Epub 2021 Sep 22. PMID: 34550463.

### **Uplatnenie výsledkov projektu**

Výstupy v projekte sa uplatnia hlavne v klinickej praxi u pacientov užívajúcich nové perorálne antikoagulanty (DOAK). K hlavným záverom projektu uplatniteľným v praxi patrí:

1. DOAK-y ovplyvňujú agregáciu indukovanú trombínom a TRAP-6. Ich užívanie signifikantne redukuje agregáciu trombocytov. Tento poznatok má zásadný vplyv na zvýšenie rizika rozvoja krvácajúcich prejavov, predovšetkým u pacientov užívajúcich konkomitantne antiagregačné lieky. Monitoring agregácie trombocytov vie odhaliť rizikové skupinu pacientov so zvýšením krvácajúcim rizikom.
2. Naša práca ukázala, že metóda rotačnej trombelastometrie (point of care) sa vie uplatniť v situáciách, kedy je potrebné rýchlo stanoviť prítomnosť alebo neprítomnosť DOAK-ov (napr. urgentné chirurgické zákroky, krvácajúce komplikácie...). Z výsledkov vyplýva, že hladina DOAK-ov (gatanov a xabanov) signifikantne koreluje s hodnotami CT (clotting time) a MCF (maximum clot firmness) pri využití In-tem a Ex-tem testov v rámci rotačnej trombelastometrie.
3. Z našich prác tiež vyplýva, že bisoprolol zvyšuje koncentráciu dabigatranu a digoxín znižuje hladinu rivaroxabanu a apixabanu. Tento nový poznatok zvýši bezpečnosť užívaných DOAK-ov, predovšetkým u pacientov s atriálnou fibriláciou (AF).
4. K priekopníckemu zisteniu patrí pilotná genetická štúdia. V géne V géne CYP2J2 - haplotyp tcgaag je výrazne nižší v skupine pacientov s AF, s významným OR 0,632, čo ukazuje na jeho ochranný potenciál, a haplotyp tcgggg je výrazne vyšší v skupine AF, s OR 1,560, čo naznačuje jeho rizikový potenciál. Potenciálne rizikové haplotypy CYP3A4 tcgggg a tcggag. Skúmaním génov CYP2J2 a CYP3A4 sme teda odhalili rizikové a protektívne alely, ktoré sú priamo zapojené do metabolizmu DOAK-ov.

Tieto štyri najvýznamnejšie poznatky sa už teraz využívajú v klinickej praxi po celom svete. Umožňujú predovšetkým identifikovať pacientov so zvýšením krvácajúcim rizikom pri užívaní DOAK-ov, monitorovať ich účinok na hemostázu pacientov (novou rýchlou metódou rotačnej trombelastometrie) a vyhľadávať pacientov s rizikovým, resp. protektívnym haplotypom v rámci metabolizácie xabanov a gatanov.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)**

V rámci schváleného projektu sme mali naplánovaných celkovo 5 hlavných cieľov. Projekt splnil všetky vytýčené úlohy.

- 1.) Monitoring liečby. Pacientom na liečbe dabigatranom stanovujeme anti-IIa aktivitu a pacientom na liečbe apixabanom, rivaroxabanom a edoxabanom stanovujeme anti-Xa aktivitu. Tieto nové metodiky boli zavedené počas riešenia projektu ako štandardné vyšetrovacie metódy. Ich nevýhoda je zdĺhavé vyšetrenie.
  - 2.) Vyšetrenie agregácie. Pre klinickú prax je pri hodnotení dôležité predovšetkým posúdenie, či je agregačná odpoveď v norme, znížená alebo úplne chýba. Znížená agregačná odpoveď po induktore svedčí pre zníženú doštičkovú agregabilitu. Z vyšetrovaných pacientov sa javí, že agregačná odpoveď po TRAP-6 a trombíne je znížená predovšetkým u pacientov na liečbe dabigatranom. Mierne zníženie sme pozorovali aj u pacientov liečených xabanmi (apixabanom, rivaroxabanom, edoxabanom).
  - 3.) Zavedenie novej metodiky monitoringu liečby. Do klinickej praxe sme zaviedli novú a rýchlu metódu stanovenia prítomnosti alebo neprítomnosti DOAK-ov - rotačnú trombelastometriu. Z výsledkov vyplýva, že hladina DOAK-ov (gatranov a xabanov) signifikantne koreluje s hodnotami CT (clotting time) a MCF (maximum clot firmness) pri využití In-tem a Ex-tem testov v rámci rotačnej trombelastometrie.
  4. Liekové interakcie. V našej práci sme opísali doposiaľ nepoznané liekové interakcie. Bisoprolol zvyšuje koncentráciu dabigatranu a digoxín naopak znižuje hladinu rivaroxabanu a apixabanu. Tento nový poznatok zvýši bezpečnosť užívaných DOAK-ov, predovšetkým u pacientov s atriálnou fibriláciou.
  - 5.) Genetické pozadie metabolizácie DOAK-ov. Hlavnými detekčnými metódami, ktoré používame na typizáciu sú TaqMan Real-Time PCR s využitím špecifických TaqMan prób, a metóda HRM (high resolution melting) využívajúca teplotnú diferenciu pri topení variantných amplikónov. V géne V géne CYP2J2 - haplotyp tcgaag je výrazne nižší v skupine pacientov s AF, s významným OR 0,632, čo ukazuje na jeho ochranný potenciál, a haplotyp tcgggg je výrazne vyšší v skupine AF, s OR 1,560, čo naznačuje jeho rizikový potenciál. Potenciálne rizikové haplotypy CYP3A4 tcgggg a tcggag. Skúmaním génov CYP2J2 a CYP3A4 sme teda odhalili rizikové a protektívne alely, ktoré sú priamo zapojené do metabolizmu DOAK-ov.
- Všetky nové poznatky priamo ovplyvňujú klinickú prax u pacientov užívajúcich DOAK - zvýšenie bezpečnosti a nové metódy monitorovania ich účinnosti.

### **Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)**

As part of the approved project, we planned a total of 5 main goals. The project fulfilled all the tasks set.

- 1.) Treatment monitoring. We determine anti-IIa activity in patients treated with dabigatran and anti-Xa activity in patients treated with apixaban, rivaroxaban and edoxaban. These new methodologies were introduced during the project as standard investigation methods. Their disadvantage is a lengthy examination.
- 2.) Aggregation. For clinical practice is by evaluation important first of all advisement, whether aggregation response is normal, decreased or is completely missing. Decreased aggregation response after inductor testified for decreased platelet aggregability. We found that the aggregation response after TRAP-6 and thrombin appears to be reduced primarily in patients treated with dabigatran. We also observed a slight reduction in patients treated with xabanes (apixaban, rivaroxaban, edoxaban).
- 3.) New treatment monitoring methodology. We have introduced into clinical practice a new and fast method of determining the presence or absence of DOACs - rotary thrombelastometry. The results show that the level of DOACs (gatran and xabanes) is significantly correlated with CT (clotting time) and MCF (maximum clot firmness) values when using In-tem and Ex-tem tests in the framework of rotary thrombelastometry.
4. Liekové interakcie. V našej práci sme opísali doposiaľ nepoznané liekové interakcie. Bisoprolol zvyšuje koncentráciu dabigatranu a digoxín naopak znižuje hladinu rivaroxabanu a apixabanu. Tento nový poznatok zvýši bezpečnosť užívaných DOAK-ov, predovšetkým u pacientov s atriálnou fibriláciou.
- 5.) Genetické pozadie metabolizácie DOAK-ov. Hlavnými detekčnými metódami, ktoré používame na typizáciu sú TaqMan Real-Time PCR s využitím špecifických TaqMan prób, a metóda HRM (high resolution melting) využívajúca teplotnú diferenciu pri topení variantných amplikónov. V géne V géne CYP2J2 - haplotyp tcgaag je výrazne nižší v skupine pacientov s AF, s významným OR 0,632, čo ukazuje na jeho ochranný potenciál, a haplotyp tcgggg je

výrazne vyšší v skupine AF, s OR 1,560, čo naznačuje jeho rizikový potenciál. Potenciálne rizikové haplotypy CYP3A4 tcgggg a tcggag. Skúmaním génov CYP2J2 a CYP3A4 sme teda odhalili rizikové a protektívne alely, ktoré sú priamo zapojené do metabolizmu DOAC-ov.

4.) Drug interactions. In our work, we described hitherto unknown drug interactions. Bisoprolol increases the concentration of dabigatran, and digoxin, on the contrary, decreases the level of rivaroxaban and apixaban. This new knowledge will increase the safety of used DOACs, especially in patients with atrial fibrillation.

5.) Genetic background of DOAC metabolism. The main detection methods we use for typing are TaqMan Real-Time PCR using specific TaqMan probes, and the HRM (high resolution melting) method using the temperature difference - melting variant amplicons. In the CYP2J2 gene, the tcgaag haplotype is significantly lower in the AF group, with a significant OR of 0.632, indicating its protective potential, and the tcgggg haplotype is significantly higher in the AF group, with an OR of 1.560, indicating its risk potential. Potential risk CYP3A4 haplotypes tcgggg and tcggag. Thus, by examining the CYP2J2 and CYP3A4 genes, we revealed risk and protective alleles that are directly involved in the metabolism of DOACs.