




# In Silico Κλινικές Μελέτες για τη Βελτιστοποίηση της Αντιπηκτικής Αγωγής

Μιχαέλα Παπαχαραλάμπους, Ευάγγελος Δ. Καραλής\*

Εργαστήριο Βιοφαρμακευτικής-Φαρμακοκινητικής, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 15784, Αθήνα

 DOI: [10.60988/p.v37i1.89](https://doi.org/10.60988/p.v37i1.89)

## ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ:

**Αντιπηκτικά; κλινικές δοκιμές in silico· Μη βιταμίνη Κ από του στόματος αντιπηκτικά (NOAC)· ανταγωνιστές βιταμίνης Κ (VKAs)· Αναστολείς παράγοντα Χα**

## ARTICLE INFO:

Received: January 10, 2025

Accepted: January 15, 2025

Available on line: March 24, 2025

## \* CORRESPONDING AUTHOR:

Ευάγγελος Δ. Καραλής  
vkaralis@pharm.uoa.gr

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αντιπηκτική θεραπεία διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην πρόληψη και τη διαχείριση θρομβοεμβολικών διαταραχών, με παραδοσιακά φάρμακα όπως οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ (Vitamin K Antagonists, VKAs) να χρησιμοποιούνται ευρέως εδώ και δεκαετίες. Ωστόσο, οι VKA παρουσιάζουν προκλήσεις όπως ένα στενό θεραπευτικό παράθυρο, διαιτητικές και φαρμακευτικές αλληλεπιδράσεις και την ανάγκη τακτικής παρακολούθησης. Ως αποτέλεσμα, έχουν αναπτυχθεί νεότερες κατηγορίες αντιπηκτικών, όπως τα μη ανταγωνιστικά της βιταμίνης Κ από του στόματος αντιπηκτικά (Non-Vitamin K Oral Anticoagulants, NOACs) και παρεντερικοί αναστολείς του παράγοντα Χα. Τα NOACs, συμπεριλαμβανομένων των άμεσων αναστολέων θρομβίνης και των αναστολέων του παράγοντα Χα, προσφέρουν πιο προβλέψιμα φαρμακολογικά προφίλ, σταθερή δοσολογία και λιγότερες αλληλεπιδράσεις, παρέχοντας σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι των ABK. Επιπλέον, η εμφάνιση των in silico κλινικών μελετών (In Silico Clinical Trials, ISCTs) αντιπροσωπεύει μια μετασχηματιστική προσέγγιση στην ανάπτυξη φαρμάκων, επιτρέποντας την προσομοίωση κλινικών αποτελεσμάτων χρησιμοποιώντας υπολογιστικά μοντέλα. Οι ISCTs προσφέρουν μια αποτελεσματική, ηθική και οικονομικά αποδοτική εναλλακτική λύση στις παραδοσιακές κλινικές δοκιμές αναπαραγόμενα βιολογικά συστήματα και προβλέποντας αλληλεπιδράσεις φαρμάκων, ασφάλεια και αποτελεσματικότητα σε εικονικούς πληθυσμούς ασθενών. Αυτό είναι ιδιαίτερα επωφελές για τη διαχείριση σύνθετων ομάδων ασθενών, όπως οι ηλικιωμένοι ή τα άτομα με σπάνιες νόσους, όπου η συμμετοχή σε κλινικές δοκιμές είναι δύσκολη. Η ενσωμάτωση των ISCTs με νέα αντιπηκτικά παρουσιάζει ένα πολλά υποσχόμενο μέλλον για την εξατομικευμένη ιατρική, μειώνοντας την ανάγκη για

εκτεταμένες δοκιμές σε ανθρώπους ή ζώα, ενισχύοντας παράλληλα τις θεραπευτικές στρατηγικές. Αυτή η εργασία συζητά την εξέλιξη των αντιπηκτικών θεραπειών, το ρόλο των ISCTs στη βελτιστοποίηση της θεραπείας και τις δυνατότητες για μια πιο προσαρμοσμένη, αποτελεσματική προσέγγιση στη διαχείριση των διαταραχών πήξης.

## 1. Εισαγωγή

### 1.1 Θρόμβωση και αντιπηκτικοί παράγοντες

Η πήξη, μια θεμελιώδης φυσιολογική διαδικασία στο ανθρώπινο σώμα, παίζει ζωτικό ρόλο στη διατήρηση της αιμόστασης αποτρέποντας την υπερβολική απώλεια αίματος μετά από αγγειακή βλάβη. Αυτή η περίπλοκη διαδικασία ενορχηστρώνεται μέσω ενός πολύπλοκου καταρράκτη αυστηρά ρυθμιζόμενων βιοχημικών αντιδράσεων, που συχνά αναφέρονται ως «ακολουθία καταρράκτη» της πήξης<sup>1</sup>. Αυτές οι αντιδράσεις διεξάγονται από μια εξειδικευμένη ομάδα πρωτεϊνών συλλογικά γνωστών ως παράγοντες πήξης, οι οποίοι λειτουργούν συνεργιστικά για να εξασφαλίσουν αποτελεσματικό σχηματισμό θρόμβων. Μέχρι σήμερα, οι ερευνητές έχουν εντοπίσει δεκατρείς διαφορετικούς παράγοντες πήξης, ο καθένας με μια μοναδική λειτουργία που συμβάλλει στη συνολική ρύθμιση και εξέλιξη της διαδικασίας πήξης<sup>2</sup>. Αυτοί οι παράγοντες, που συχνά ορίζονται από ρωμαϊκούς αριθμούς (I έως XIII), αλληλεπιδρούν με διαδοχικό τρόπο για να ενισχύσουν την απόκριση στον τραυματισμό, σταθεροποιώντας τελικά το σχηματισμό θρόμβου αίματος. Παράγοντες όπως το ινωδογόνο (παράγοντας I), η προθρομβίνη (παράγοντας II) και ο παράγοντας VIII, μεταξύ άλλων, διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο σε διαφορετικά στάδια του καταρράκτη πήξης. Χωρίς την ακριβή δράση αυτών των παραγόντων, ο οργανισμός θα δυσκολευόταν να ελέγξει την αιμορραγία, υπογραμμίζοντας τον απαραίτητο ρόλο τους στη διαφύλαξη της αγγειακής ακεραιότητας και της συνολικής υγείας<sup>3</sup>.

Η ανακάλυψη και ο χαρακτηρισμός αυτών των

παραγόντων ήταν κρίσιμης σημασίας για την κατανόηση διαταραχών που σχετίζονται με την πήξη, όπως η αιμορροφιλία, η οποία σχετίζεται με ελλείψεις στους παράγοντες VIII ή IX<sup>3</sup>. Επιπλέον, οι αντιπηκτικές θεραπείες συχνά στοχεύουν συγκεκριμένα σημεία σε αυτόν τον καταρράκτη για την πρόληψη του παθολογικού σχηματισμού θρόμβων, αποδεικνύοντας την κλινική σημασία αυτής της διαδικασίας<sup>2</sup>. Οι παράγοντες πήξης μπορούν επίσης να ταξινομηθούν σε τρεις οικογένειες (Πίνακας 1).

Η ενεργοποίηση κάθε παράγοντα που εμπλέκεται στον καταρράκτη πήξης υποδεικνύεται με την προσθήκη της κατάληξης «a» στον ρωμαϊκό αριθμό που αντιστοιχεί στη συγκεκριμένη πρωτεΐνη, υποδηλώνοντας την ενεργό μορφή της<sup>3</sup>. Η πλειοψηφία αυτών των παραγόντων πήξης παράγονται στο ήπαρ, με αξιοσημείωτες εξαιρέσεις όπως οι παράγοντες III, IV και VIII, οι οποίοι συντίθενται αλλού στο σώμα<sup>2</sup>. Οι πρωτεΐνες που συντίθενται στο ήπαρ υφίστανται κρίσιμες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που εξαρτώνται από τη βιταμίνη K, συμπεριλαμβανομένης της γ-καρβοξυλίωσης των υπολειμμάτων γλουταμινικού οξέος. Αυτή η τροποποίηση είναι απαραίτητη καθώς επιτρέπει στους παράγοντες πήξης να δεσμεύουν ιόντα ασβεστίου και άλλα δισθενή κατιόντα, τα οποία είναι απαραίτητα για την αποτελεσματική συμμετοχή τους στον καταρράκτη πήξης<sup>1</sup>. Χωρίς αυτές τις τροποποιήσεις, οι πρωτεΐνες θα παρέμεναν ανενεργές να εκπληρώσουν τους ρόλους τους στο σχηματισμό θρόμβων και την αιμόσταση. Συνεπώς, είναι προφανές ότι μια ανεπάρκεια βιταμίνης K ή η χορήγηση ανταγωνιστών βιταμίνης K, όπως η βαρφαρίνη, οδηγεί σε σημαντική αντιπηκτική δράση μέσα στο σώμα. Αναστέλλοντας τη διαδικασία γ-καρβοξυλίωσης, αυτές οι συνθήκες

**Πίνακας 1.** Ταξινόμηση των παραγόντων πήξης.

Οικογένεια ινωδογόνου	Βιταμίνη Κ (εξαρτώμενες πρωτεΐνες)	Παράγοντες επαφής
Ινωδογόνου	Παράγοντας ΙΙ	Παράγοντας ΧΙ
Παράγοντας V	Παράγοντας VII	Παράγοντας ΧΙΙ
Παράγοντας VIII	Παράγοντας ΙΧ	Κινοιογόνο υψηλού μοριακού βάρους
Παράγοντας ΧΙΙΙ	Παράγοντας Χ	Προκαλλικρέν

βλάπτουν τη λειτουργικότητα πολλών παραγόντων πήξης, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ικανότητα σχηματισμού θρόμβων<sup>3</sup>. Αυτό υπογραμμίζει τη σημασία της βιταμίνης Κ στη διατήρηση της ισορροπίας του συστήματος πήξης και υπογραμμίζει τη θεραπευτική της σημασία στη διαχείριση των διαταραχών πήξης.

### 1.2 Αντιπηκτική αγωγή

Τα αντιπηκτικά φάρμακα, αναστέλλουν την πήξη, ειδικά τη δευτερογενή αιμόσταση, κατά την οποία, σε ένα παθολογικό σενάριο, η πήξη οδηγεί στο σχηματισμό ανεπιθύμητων ενδοαγγειακών θρόμβων αίματος<sup>4</sup>.

Η χρήση φαρμάκων για την πρόληψη της πήξης του αίματος έχει καθιερωθεί στην κλινική πράξη για πάνω από έναν αιώνα και σήμερα, οι επαγγελματίες υγείας διαθέτουν μια μεγάλη ποικιλία αντιπηκτικών φαρμάκων για την αντιμετώπιση των ατομικών αναγκών κάθε ασθενή<sup>4</sup>. Ωστόσο, εξακολουθούν να υπάρχουν περιορισμοί όσον αφορά την εναλλαξιμότητα των κατηγοριών φαρμάκων και τον σχετικό αιμορραγικό κίνδυνο, ο οποίος παραμένει η κύρια ανεπιθύμητη ενέργεια κάθε κατηγορίας. Προτιμώνται τα αντιπηκτικά που στοχεύουν σε ένα συγκεκριμένο στάδιο ή ένζυμο στη διαδικασία πήξης, καθώς ελαχιστοποιούν τις ανεπιθύμητες παρενέργειες.

Τα πρώτα φάρμακα που χορηγήθηκαν με θεραπευτικό σκοπό την πρόληψη της πήξης ήταν η μη

κλασματοποιημένη ηπαρίνη και βαρφαρίνη, τα οποία ανακαλύφθηκαν τυχαία στις αρχές του 20ου αιώνα<sup>5</sup>. Τα φάρμακα αυτά παραμένουν πολύτιμα φάρμακα για την πρόληψη τόσο της πρωτογενούς όσο και της δευτερογενούς θρόμβωσης. Παρά την ευρεία χρήση τους, οι ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα που αναπόφευκτα οδήγησαν στη λιγότερο συχνή επιλογή τους. Αυτό έχει επίσης απαιτήσει τη συνεχή βελτιστοποίηση της αντιπηκτικής θεραπείας για να εξασφαλιστεί πιο αποτελεσματική και ασφαλής πρόληψη της θρομβοεμβολής.

Με την πάροδο των ετών, έχουν αναπτυχθεί νέες κατηγορίες από του στόματος αντιπηκτικών φαρμάκων, οι οποίες προκύπτουν συνεχώς από κλινικές δοκιμές Φάσης ΙΙΙ<sup>6</sup>. Τα αντιπηκτικά νέας γενιάς στοχεύουν στην άμεση αλληλεπίδραση και αναστολή ενός συγκεκριμένου παράγοντα πήξης. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με τους ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ, οι οποίοι δρουν έμμεσα παρεμβαίνοντας στη σύνθεση των παραγόντων πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ, μειώνοντας έτσι τις συγκεντρώσεις τους στο πλάσμα. Τα τελευταία χρόνια, συγκεκριμένα, έχει εισαχθεί μια νέα γενιά αντιπηκτικών φαρμάκων, σχεδιασμένα να στοχεύουν τον παράγοντα πήξης ΙΙα (θρομβίνη) και τον παράγοντα πήξης Χα, δύο ένζυμα που είναι κρίσιμα για τον καταρράκτη πήξης.

Ένα βασικό βήμα στην ανακάλυψη νέων αντιπηκτικών φαρμάκων είναι ο *in silico* σχεδιασμός πιθανών ενώσεων, οι οποίες μπορούν να μελετηθούν

περαιτέρω για την επίτευξη βέλτιστων φαρμακοδυναμικών και φαρμακοκινητικών προφίλ.

### 1.3 Κλασσικές και *in silico* κλινικές δοκιμές

Η συνεχής εμφάνιση νεότερων κατηγοριών αντιπηκτικών είναι ζωτικής σημασίας για την αντιμετώπιση των ποικίλων αναγκών των ασθενών παγκοσμίως. Αυτή η αναγκαιότητα έχει οδηγήσει σε αύξηση των συνεχιζόμενων κλινικών δοκιμών με στόχο τη βελτιστοποίηση των αντιπηκτικών θεραπειών. Ωστόσο, η παραδοσιακή προσέγγιση των κλινικών δοκιμών παρουσιάζει σημαντικές προκλήσεις. Αυτές περιλαμβάνουν τη χρονοβόρα διαδικασία σχεδιασμού μελετών μεγάλης κλίμακας, την πρόσληψη κατάλληλων συμμετεχόντων, τη διαχείριση επεμβατικών μεθόδων δειγματοληψίας που μπορούν να προκαλέσουν δυσφορία στους ασθενείς και την αντιμετώπιση της σημαντικής οικονομικής επιβάρυνσης που επιβάλλεται στα συστήματα υγειονομικής περίθαλψης παγκοσμίως<sup>7</sup>.

Για να ξεπεραστούν αυτοί οι περιορισμοί, η ανάπτυξη υπολογιστικών μεθόδων προσφέρει μια καινοτόμο και αποτελεσματική εναλλακτική λύση. Στην έρευνα, ο όρος *in silico* αναφέρεται σε πειράματα που διεξάγονται σε υπολογιστές χρησιμοποιώντας επικυρωμένα μαθηματικά μοντέλα φυσιολογικών ή φαρμακολογικών συστημάτων. Η προσέγγιση αυτή συνδυάζει στοιχεία παραδοσιακών μεθοδολογιών: όπως και οι *in vivo* μελέτες, τα πειράματα *in silico* στοχεύουν στην αναπαραγωγή της συμπεριφοράς ολόκληρων οργανισμών, ενώ παράλληλα μιμούνται το ελεγχόμενο περιβάλλον των *in vitro* μελετών χωρίς να απαιτείται πειραματισμός σε ζωντανούς οργανισμούς<sup>8</sup>. Οι ερευνητές μπορούν να ελέγξουν με ακρίβεια τις πειραματικές συνθήκες ορίζοντας τις μέσα στο υπολογιστικό μοντέλο, προσφέροντας απaráμιλλη ευελιξία και επαναληψιμότητα.

Η άνοδος των *in silico* κλινικών δοκιμών (In Silico Clinical Trials, ISCTs) υπήρξε καθοριστική, ιδίως σε τομείς όπως η έρευνα για τα αντιπηκτικά, όπου η πρόβλεψη των κλινικών αποτελεσμάτων και η κατανόηση των αλληλεπιδράσεων φαρμάκων είναι ζωτικής σημασίας<sup>9,10</sup>. Οι ISCTs επιτρέπουν στους ερευνητές να προσομοιώσουν πολύπλοκες

βιολογικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένου του καταρράκτη πήξης, και να αξιολογήσουν πώς τα αντιπηκτικά, όπως τα άμεσα από του στόματος αντιπηκτικά (Direct Oral Anticoagulants, DOACs) ή νέα πειραματικά φάρμακα, επηρεάζουν αυτές τις οδούς. Με τη μοντελοποίηση παραγόντων όπως η φυσιολογία του ασθενούς, οι συννοσηρότητες και οι γενετικές παραλλαγές, οι ISCTs επιτρέπουν λεπτομερείς προβλέψεις των αποτελεσμάτων των δοκιμών χωρίς να απαιτείται πραγματική πρόσληψη ασθενών ή επεμβατικές διαδικασίες.

Διάφορες μεθοδολογίες μοντελοποίησης και προσομοίωσης χρησιμοποιούνται στις ISCTs. Η μοντελοποίηση βάσει παραγόντων, τα φαρμακοκινητικά/φαρμακοδυναμικά μοντέλα και οι προσεγγίσεις της συστημικής βιολογίας είναι παραδείγματα εργαλείων που παρέχουν πληροφορίες σχετικά με την αποτελεσματικότητα των φαρμάκων, την ασφάλεια και τις πιθανές παρενέργειες. Αυτές οι μέθοδοι προσφέρουν μια ηθική και οικονομικά αποδοτική εναλλακτική λύση στις παραδοσιακές δοκιμές, μειώνοντας την ανάγκη για πειράματα σε ζώα και ανθρώπους, επιταχύνοντας παράλληλα τα χρονοδιαγράμματα ανάπτυξης φαρμάκων.

Επιπλέον, οι ISCTs επιτρέπουν τη διερεύνηση σπάνιων κλινικών σεναρίων ή υποπληθυσμών ασθενών, όπως εκείνοι με σπάνιες διαταραχές πήξης ή ειδικές αντιπηκτικές ευαισθησίες, οι οποίες θα ήταν δύσκολο να μελετηθούν χρησιμοποιώντας συμβατικές προσεγγίσεις. Η ικανότητα ελέγχου και χειρισμού όλων των παραγόντων εντός του μοντέλου εξασφαλίζει αξιοπιστία και επαναληψιμότητα, καθιστώντας τις ISCTs ένα ανεκτίμητο εργαλείο στην πρόοδο των αντιπηκτικών θεραπειών.

### 1.4 Σκοπός της εργασίας

Αυτή η εργασία διερευνά τη φυσιολογική πολυπλοκότητα της πήξης και τον κεντρικό ρόλο των παραγόντων πήξης στη διατήρηση της αιμόστασης, ενώ εξετάζει την κλινική και θεραπευτική σημασία των αντιπηκτικών. Παρέχει μια λεπτομερή επισκόπηση των παραδοσιακών αντιπηκτικών θεραπειών και των προκλήσεων που συνδέονται με τη χρήση τους, παράλληλα με την εξέλιξη των φαρμάκων νέας

γενιάς που στοχεύουν συγκεκριμένους παράγοντες πήξης. Επιπλέον, η μελέτη υπογραμμίζει τη σημασία των *in silico* κλινικών δοκιμών στη βελτιστοποίηση της έρευνας για τα αντιπηκτικά, υπογραμμίζοντας την ικανότητά τους να προσομοιώνουν πολύπλοκες βιολογικές διεργασίες, να προβλέπουν κλινικά αποτελέσματα και να μειώνουν την εξάρτηση από παραδοσιακές πειραματικές προσεγγίσεις.

## 2. Υλικά και Μέθοδοι

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης ακολουθήθηκε μία εκτεταμένη διερεύνηση της βιβλιογραφίας με σκοπό να συνοψιστούν και να αναλυθούν οι τρέχοντες έννοιες για τη διαδικασία/καταρράκτη πήξης, των αντιπηκτικών θεραπειών και του ρόλου των ISCTs στην προώθηση της αντιπηκτικής έρευνας. Η μεθοδολογία επιλογής και σύνθεσης των σχετικών μελετών από τη βιβλιογραφία περιγράφεται παρακάτω.

### 2.1 Στρατηγική αναζήτησης βιβλιογραφίας

Πραγματοποιήθηκε βιβλιογραφική αναζήτηση χρησιμοποιώντας διάφορες βάσεις δεδομένων, συμπεριλαμβανομένων των PubMed, Scopus, Google Scholar και Web of Science. Η αναζήτηση πραγματοποιήθηκε μεταξύ Οκτωβρίου και Δεκεμβρίου 2024. Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι όροι αναζήτησης: «coagulation factors», «anticoagulant therapies», «*in silico* clinical trials», «direct oral anticoagulants», «vitamin K antagonists», «hemostasis», και «coagulation cascade».

### 2.2 Κριτήρια ένταξης

Οι μελέτες που περιλαμβάνονται στην παρούσα ανασκόπηση έπρεπε να πληρούν τα ακόλουθα κριτήρια:

*Τύπος μελέτης:* Πρωτότυπα ερευνητικά άρθρα, κλινικές δοκιμές, συστηματικές ανασκοπήσεις, μετα-αναλύσεις και υπολογιστικές μελέτες που σχετίζονται με την πήξη, την αντιπηκτική αγωγή ή τις προσομοιώσεις *in silico*.

*Τομέας επικέντρωσης:* Έρευνα που επικεντρώ-

νεται στους φυσιολογικούς μηχανισμούς πήξης, τη χρήση αντιπηκτικών σε κλινικά περιβάλλοντα και την εφαρμογή δοκιμών *in silico* στην ανάπτυξη αντιπηκτικών.

*Γλώσσα:* Μελέτες δημοσιευμένες στα αγγλικά.

### 2.3 Κριτήρια αποκλεισμού

Οι μελέτες αποκλείστηκαν με βάση τα ακόλουθα κριτήρια:

- *Τύπος μελέτης:* Περιπτωσιολογικές αναφορές, άρθρα σύνταξης και έγγραφα γνώμης.
- *Τομέας επικέντρωσης:* Μελέτες που δεν σχετίζονται με την πήξη, τις αντιπηκτικές θεραπείες ή τη μοντελοποίηση *in silico* στο πλαίσιο της ανάπτυξης φαρμάκων.
- *Γλώσσα:* Μελέτες που δεν έχουν δημοσιευθεί στα αγγλικά.

### 2.4 Εξαγωγή δεδομένων

Αντλήθηκαν δεδομένα από επιλεγμένες μελέτες για τον προσδιορισμό βασικών ευρημάτων σχετικών με το πεδίο εφαρμογής της παρούσας ανασκόπησης, εστιάζοντας στις ακόλουθες πτυχές:

- Μηχανισμοί πήξης και ο ρόλος συγκεκριμένων παραγόντων πήξης.
- Κλινική χρήση και ανάπτυξη αντιπηκτικών, συμπεριλαμβανομένων τόσο παραδοσιακών όσο και νεότερων θεραπειών.
- Η εφαρμογή κλινικών δοκιμών *in silico* στην έρευνα αντιπηκτικών, συμπεριλαμβανομένων τεχνικών μοντελοποίησης, προβλέψεων αποτελεσματικότητας φαρμάκων και προσομοιώσεων ειδικά για τον ασθενή.

## 3. Αποτελέσματα

### 3.1 Βασικές κατηγορίες αντιπηκτικών

#### 3.1.1 Ανταγωνιστές βιταμίνης K

Η πρώτη κατηγορία αντιπηκτικών φαρμάκων, ανταγωνιστές βιταμίνης K (Vitamin K Antagonists, VKAs), εισήχθησαν με τη σύνθεση της βαρφαρίνης,

ενός φαρμάκου που αναπτύχθηκε αρχικά στα τέλη της δεκαετίας του 1940 ως τρωκτικοκτόνο. Ωστόσο, στη δεκαετία του 1950, αναγνωρίστηκαν οι αντιπηκτικές του ιδιότητες και σύντομα ενσωματώθηκε στην κλινική πρακτική ως θεραπεία για τη θρόμβωση και την εμβολή. Η βαρφαρίνη έγινε γρήγορα το κυρίαρχο από του στόματος αντιπηκτικό, με τη χρήση της να επεκτείνεται παγκοσμίως<sup>5</sup>. Οι VKAs ασκούν την αντιπηκτική τους δράση αναστέλλοντας το ένζυμο σύμπλεγμα εποξειδικής αναγωγής βιταμίνης K υπομονάδα-1 (VKORC1), το οποίο είναι υπεύθυνο για την ανακύκλωση της βιταμίνης K. Αυτή η αναστολή εμποδίζει την γ-καρβοξυλίωση των εξαρτώμενων από τη βιταμίνη K παραγόντων πήξης II, VII, IX και X, οι οποίοι είναι απαραίτητοι για την πήξη και συντίθενται στο ήπαρ<sup>11</sup>. Χωρίς σωστή γ-καρβοξυλίωση, αυτοί οι παράγοντες πήξης παραμένουν ανενεργοί, εμποδίζοντας τον καταρράκτη πήξης και μειώνοντας την ικανότητα σχηματισμού θρόμβων.

Παρά την ευρεία χρήση τους, οι VKAs παρουσιάζουν μια σειρά επιπλοκών που περιορίζουν την αποτελεσματικότητά τους και την ασφάλειά τους. Ένα από τα κύρια μειονεκτήματα είναι η σημαντική αλληλεπίδρασή τους με τα τρόφιμα, ιδιαίτερα εκείνα που είναι πλούσια σε βιταμίνη K, όπως τα φυλλώδη πράσινα λαχανικά. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις μπορούν να μεταβάλουν σημαντικά την αντιπηκτική δράση της βαρφαρίνης, καθιστώντας δύσκολη τη διατήρηση μιας συνεπούς θεραπευτικής ανταπόκρισης<sup>5</sup>. Επιπλέον, οι VKAs είναι γνωστοί για το στενό θεραπευτικό τους εύρος, πράγμα που σημαίνει ότι μικρές διακυμάνσεις στη δοσολογία μπορούν να οδηγήσουν είτε σε κίνδυνο αιμορραγίας είτε σε κίνδυνο θρόμβωσης<sup>12</sup>. Ως αποτέλεσμα, οι ασθενείς που λαμβάνουν VKAs απαιτούν τακτική εργαστηριακή παρακολούθηση της Διεθνούς Κανονικοποιημένης Αναλογίας τους (International Normalized Ratio, INR) για να διασφαλιστεί ότι τα επίπεδά τους παραμένουν εντός του θεραπευτικού εύρους, περιπλέκοντας περαιτέρω τη διαχείρισή τους.

Επιπλέον, οι VKAs παρουσιάζουν σημαντικό βαθμό διατομικής μεταβλητότητας στη σχέση δόσης-απόκρισης. Διάφοροι παράγοντες συμβάλλουν σε αυτή τη μεταβλητότητα, επηρεάζοντας τόσο τη

φαρμακοδυναμική (τις επιδράσεις του φαρμάκου στο σώμα) όσο και τη φαρμακοκινητική των VKAs.

Αυτοί οι παράγοντες περιλαμβάνουν:

**Διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης K:** Οι διακυμάνσεις στη διαιτητική πρόσληψη βιταμίνης K μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντικές αλλαγές στην αποτελεσματικότητα των VKAs, καθώς η βιταμίνη K επηρεάζει άμεσα την γ-καρβοξυλίωση των παραγόντων πήξης<sup>13</sup>.

**Κατανάλωση αλκοόλ:** Το αλκοόλ μπορεί να μεταβάλει το μεταβολισμό της βαρφαρίνης, είτε ενισχύοντας είτε αναστέλλοντας την αντιπηκτική της δράση, ανάλογα με την ποσότητα που καταναλώνεται<sup>14</sup>.

**Οξείες λοιμώξεις:** Οι λοιμώξεις μπορούν να επηρεάσουν το μεταβολισμό της βαρφαρίνης, οδηγώντας συχνά σε αυξημένο κίνδυνο αιμορραγίας<sup>4</sup>.

**Ηπατική νόσος ή ηπατική δυσλειτουργία:** Δεδομένου ότι οι VKAs μεταβολίζονται στο ήπαρ, οποιοσδήποτε βαθμός ηπατικής δυσλειτουργίας μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό της βαρφαρίνης, αυξάνοντας τον κίνδυνο είτε υπερβολικής είτε υπο-αντιπηκτικής αγωγής<sup>11</sup>.

Αυτές οι προκλήσεις έχουν οδηγήσει στην αναζήτηση νεότερων κατηγοριών αντιπηκτικών, οδηγώντας στην ανάπτυξη των μη ανταγωνιστικών της βιταμίνης K από του στόματος αντιπηκτικών (Non-Vitamin K Oral Anticoagulants, NOACs).

### **3.1.2 Μη ανταγωνιστικά της βιταμίνης K από του στόματος αντιπηκτικά**

Τα NOACs προσφέρουν ένα πιο προβλέψιμο φαρμακολογικό προφίλ σε σύγκριση με τα παραδοσιακά VKAs, με αρκετά διακριτά πλεονεκτήματα. Ένα από τα βασικά οφέλη των NOACs είναι η μειωμένη δυνατότητά τους για αλληλεπιδράσεις φαρμάκων-τροφίμων, οι οποίες αποτελούν εδώ και καιρό μια πρόκληση με τα VKA, ιδιαίτερα σε σχέση με την πρόσληψη τροφών πλούσιων σε βιταμίνη K. Αντίθετα, τα NOACs δεν απαιτούν τακτική παρακολούθηση των επιπέδων αντιπηκτικής αγωγής, γεγονός που μειώνει σημαντικά την ανάγκη για συχνές εξετάσεις αίματος και ενισχύει την ευκολία και τη συμμόρφωση των ασθενών<sup>15</sup>. Αυτοί οι παράγοντες έχουν συμβάλει στην αυξανόμενη δημοτικότητα

των NOACs στην κλινική πρακτική.

Οι κύριες κατηγορίες NOACs περιλαμβάνουν άμεσους αναστολείς θρομβίνης και άμεσους αναστολείς του παράγοντα Χα, οι οποίοι στοχεύουν ειδικά και αναστέλλουν έναν μόνο παράγοντα πήξης. Αυτός ο μηχανισμός δράσης έρχεται σε αντίθεση με τα VKA, τα οποία αναστέλλουν τη σύνθεση πολλαπλών παραγόντων πήξης που εξαρτώνται από τη βιταμίνη Κ. Ως αποτέλεσμα, τα NOACs προσφέρουν μια πιο εξορθολογισμένη και στοχευμένη προσέγγιση στην αντιπηκτική θεραπεία. Αυτά τα φάρμακα είναι ιδιαίτερα ελκυστικές εναλλακτικές λύσεις για τη βαρφαρίνη και άλλα VKAs λόγω της απλότητας χρήσης τους και των αποτελεσματικών αντιπηκτικών ιδιοτήτων τους, χωρίς τις πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις και την παρακολούθηση που απαιτούνται με τη θεραπεία με βαρφαρίνη<sup>16</sup>.

Οι άμεσοι αναστολείς θρομβίνης, όπως το dabigatran, αναστέλλουν τη θρομβίνη (παράγοντας IIa), το κεντρικό ένζυμο στον καταρράκτη πήξης που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή του ινωδογόνου σε ινώδες, ένα κρίσιμο βήμα στο σχηματισμό θρόμβων. Με άμεση δέσμευση στη θρομβίνη, το dabigatran και παρόμοιοι παράγοντες εμποδίζουν αποτελεσματικά το σχηματισμό θρόμβων ινώδους.

Από την άλλη, άμεσοι αναστολείς του παράγοντα Χα, όπως το rivaroxaban, το apixaban και η εδοξαμπάνη, ειδικά ο παράγοντας στόχος Χα, ένα άλλο βασικό ένζυμο στη διαδικασία πήξης. Αναστέλλοντας τον παράγοντα Χα, αυτά τα φάρμακα εμποδίζουν τη μετατροπή της προθρομβίνης σε θρομβίνη, μειώνοντας έτσι την παραγωγή θρομβίνης και τον επακόλουθο σχηματισμό θρόμβων. Και οι δύο κατηγορίες NOACs προσφέρουν διακριτά πλεονεκτήματα όσον αφορά την προβλέψιμη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική τους, καθώς και την ευκολία χρήσης τους σε σύγκριση με τη βαρφαρίνη, η οποία απαιτεί συνεχή παρακολούθηση και προσαρμογές της δόσης με βάση τα επίπεδα INR<sup>17</sup>.

Η αυξανόμενη προτίμηση για τα NOACs καθοδηγείται από την αποτελεσματικότητά τους, την ευκολία χορήγησης και το ευνοϊκό προφίλ ασφάλειας, καθιστώντας τα μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική λύση έναντι των VKAs στη διαχείριση θρομβοεμβολικών διαταραχών, όπως η κολπική μαρμαρυγή,

η εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση και η πνευμονική εμβολή<sup>17</sup>.

### Αναστολείς του παράγοντα πήξης Χα:

Το apixaban, το rivaroxaban και η εδοξαμπάνη είναι τρεις από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους άμεσους αναστολείς του παράγοντα Χα στην κατηγορία των από του στόματος αντιπηκτικών χωρίς βιταμίνη Κ (Εικόνα 1). Αυτά τα φάρμακα έχουν αναπτυχθεί για να παρέχουν μια πιο βολική, αποτελεσματική και ασφαλέστερη εναλλακτική λύση στη βαρφαρίνη για ασθενείς που χρειάζονται αντιπηκτική θεραπεία.

**To apixaban** είναι ένας εξαιρετικά εκλεκτικός και ισχυρός άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα. Χρησιμοποιείται κυρίως για την πρόληψη και θεραπεία θρομβοεμβολικών διαταραχών, όπως κολπική μαρμαρυγή, εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση (ΕΒΦΘ), και πνευμονική εμβολή (ΠΕ). Το φαρμακοκινητικό προφίλ του apixaban χαρακτηρίζεται από ταχεία απορρόφηση, σύντομο χρόνο ημίσειας ζωής και ελάχιστη νεφρική κάθαρση, γεγονός που επιτρέπει τη χρήση του σε ασθενείς με ήπια έως μέτρια νεφρική δυσλειτουργία. Το apixaban έχει χαμηλή συχνότητα αιμορραγικών επιπλοκών και δεν απαιτεί τακτική παρακολούθηση των επιπέδων των αντιπηκτικών, γεγονός που το καθιστά βολική επιλογή για μακροχρόνια χρήση<sup>18</sup>.

**To rivaroxaban** είναι ένας άλλος άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα που μοιράζεται πολλά από τα πλεονεκτήματα του apixaban, όπως η προβλέψιμη φαρμακοκινητική και η απουσία ανάγκης για παρακολούθηση ρουτίνας. Το rivaroxaban έχει εγκριθεί για διάφορες ενδείξεις, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης εγκεφαλικού επεισοδίου στην κολπική μαρμαρυγή, της θεραπείας της εν τω βάθει φλεβικής θρόμβωσης και της πνευμονικής εμβολής και της πρόληψης της υποτροπιάζουσας φλεβικής θρομβοεμβολής. Η απορρόφησή του μπορεί να ενισχυθεί όταν λαμβάνεται με τροφή και έχει μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής σε σύγκριση με το apixaban. Το rivaroxaban αποβάλλεται μερικώς από τους νεφρούς και ενδέχεται να απαιτούνται προσαρμογές της δόσης σε ασθενείς με νεφρική δυ-

σλειτουργία. Η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα του rivaroxaban έχουν αποδειχθεί σε πολλαπλές κλινικές δοκιμές μεγάλης κλίμακας<sup>19</sup>.

Το **edoxaban** είναι ο πιο πρόσφατα εγκεκριμένος άμεσος αναστολέας του παράγοντα Χα και μοιράζεται πολλά από τα οφέλη του arixaban και του rivaroxaban, συμπεριλαμβανομένης της έλλειψης απαιτήσεων παρακολούθησης ρουτίνας. Το edoxaban συνταγογραφείται συνήθως για την πρόληψη αγγειακού εγκεφαλικού επεισοδίου και συστηματικής εμβολής σε ασθενείς με κολπική μαρμαρυγή και για τη θεραπεία της ΕΒΦΘ και της ΠΕ. Όπως και το rivaroxaban, το edoxaban έχει σχετικά μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής, αλλά η φαρμακοκινητική του μπορεί να επηρεαστεί από τη νεφρική λειτουργία και απαιτούνται προσαρμογές της δόσης σε ασθενείς με μέτρια νεφρική δυσλειτουργία. Το edoxaban έχει καταδείξει μη κατώτερότητα έναντι της βαρφαρίνης σε κλινικές δοκιμές, με παρόμοιο ή καλύτερο προφίλ ασφάλειας, ιδιαίτερα όσον αφορά τους κινδύνους αιμορραγίας<sup>17</sup>.

Αυτά τα τρία φάρμακα θεωρούνται ευνοϊκές εναλλακτικές λύσεις για τη βαρφαρίνη, κυρίως λόγω των πιο προβλέψιμων φαρμακολογικών επιδράσεών τους, των λιγότερων αλληλεπιδράσεων φαρμάκων-τροφίμων και της ευκολίας χρήσης, καθώς δεν απαιτούν συχνή παρακολούθηση. Συνδέονται επίσης με χαμηλότερο κίνδυνο ορισμένων αιμορραγικών επιπλοκών σε σύγκριση με τη βαρφαρίνη, αν και όπως όλα τα αντιπηκτικά, ενέχουν κίνδυνο αιμορραγίας. Ως εκ τούτου, αυτά τα NOACs έχουν γίνει αναπόσπαστα συστατικά της σύγχρονης αντιπηκτικής θεραπείας.

### **Άμεσοι αναστολείς θρομβίνης (παράγοντας IIa):**

Το dabigatran etexilate είναι ένας άμεσος αναστολέας θρομβίνης που έχει αναδειχθεί ως ένας από τους πιο ευρέως χρησιμοποιούμενους NOACs<sup>20</sup>. Ήταν ο πρώτος από του στόματος άμεσος αναστολέας θρομβίνης που εγκρίθηκε για κλινική χρήση και προσφέρει έναν νέο μηχανισμό δράσης σε σύγκριση με τα παραδοσιακά αντιπηκτικά όπως η βαρφαρίνη και οι νεότεροι αναστολείς του παράγοντα Χα (Εικό-

να 2). Το dabigatran etexilate είναι ένα προφάρμακο που μετατρέπεται στο ήπαρ στην ενεργό μορφή του, το dabigatran, το οποίο αναστέλλει άμεσα τη θρομβίνη (παράγοντας IIa).

Μετά την εξήγηση των μηχανισμών δράσης των NOAC, είναι προφανές ότι η αποτελεσματικότητά τους καθορίζεται κυρίως από τη συγκέντρωση στο πλάσμα και όχι από την αναστολή της σύνθεσης μεμονωμένων παραγόντων πήξης. Αυτή είναι μια βασική διάκριση από τα παραδοσιακά αντιπηκτικά όπως η βαρφαρίνη, τα οποία ρυθμίζουν την παραγωγή παραγόντων πήξης στο ήπαρ. Επειδή τα NOACs αναστέλλουν άμεσα συγκεκριμένους παράγοντες πήξης, όπως η θρομβίνη (παράγοντας IIa) ή ο παράγοντας Χα, τα αποτελέσματά τους είναι πιο προβλέψιμα και άμεσα. Ως αποτέλεσμα, παρουσιάζουν ταχεία έναρξη δράσης κατά την απορρόφηση στην κυκλοφορία του αίματος. Μετά τη διακοπή του φαρμάκου, οι φυσιολογικές διαδικασίες πήξης γενικά αποκαθίστανται σχετικά γρήγορα<sup>21</sup>.

Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν τα NOACs ιδιαίτερα πλεονεκτικά στην κλινική πρακτική σε σύγκριση με τη βαρφαρίνη. Τα κύρια πλεονεκτήματα των NOACs περιλαμβάνουν:

**Σταθερή δοσολογία:** Σε αντίθεση με τη βαρφαρίνη, η οποία απαιτεί εξατομικευμένη δοσολογία με βάση τη συχνή παρακολούθηση του INR, τα NOACs χορηγούνται συνήθως σε σταθερή δόση. Αυτή η απλοποίηση της δοσολογίας μειώνει τον κίνδυνο σφαλμάτων δοσολογίας και ενισχύει τη συμμόρφωση των ασθενών στη θεραπεία<sup>15</sup>.

**Απουσία εργαστηριακής παρακολούθησης ρουτίνας:** Ένα από τα σημαντικότερα οφέλη των NOACs είναι ότι δεν απαιτούν εξετάσεις αίματος ρουτίνας για την παρακολούθηση της αντιπηκτικής τους δράσης. Η βαρφαρίνη, από την άλλη πλευρά, απαιτεί τακτικές δοκιμές INR, οι οποίες μπορεί να είναι ενοχλητικές για τους ασθενείς και απαιτούν στενή διαχείριση από τους παρόχους υγειονομικής περίθαλψης. Έτσι, τα NOACs προσφέρουν μια πιο βολική επιλογή για μακροχρόνια αντιπηκτική θεραπεία<sup>22</sup>.

**Λιγότερες κλινικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις φαρμάκων:** Τα NOACs τείνουν να έχουν λιγότερες αλληλεπιδράσεις με τρόφιμα και άλλα φάρμακα σε σύγκριση με τη βαρφαρίνη, η οποία μπορεί να αλ-





**Εικόνα 1.** Μηχανισμός δράσης των αναστολέων Xa.



**Εικόνα 2.** Μηχανισμός δράσης των αναστολέων IIa.

ληλεπιδράσει με ένα ευρύ φάσμα ουσιών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε βιταμίνη K, καθώς και πολλά φάρμακα. Τα προβλέψιμα φαρμακοκινητικά προφίλ των NOACs, μαζί με την περιορισμένη εξάρτησή τους από μεταβολικές οδούς που περιλαμβάνουν ένζυμα του κυτοχρώματος P450, μειώνουν την πιθανότητα κλινικά σημαντικών αλληλεπιδράσεων φαρμάκων<sup>23</sup>.

- **Σύντομος χρόνος ημίσειας ζωής:** Τα NOACs έχουν σχετικά σύντομο χρόνο ημίσειας ζωής, γεγονός που επιτρέπει την ταχεία αναστροφή της αντιπηκτικής τους δράσης εάν είναι απαραίτητο (π.χ. σε περίπτωση επείγουσας χειρουργικής επέμβασης ή αιμορραγίας). Αντίθετα, η βαρφαρίνη έχει πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημίσειας ζωής και τα αποτελέσματά της μπορεί να χρειαστούν αρκετές ημέρες για να αντιστραφούν πλήρως, καθιστώντας την λιγότερο ιδανική σε καταστάσεις που απαιτούν ταχεία αντιπηκτική αναστροφή<sup>16</sup>.

Μαζί, αυτά τα πλεονεκτήματα καθιστούν τα NOACs μια εξαιρετικά αποτελεσματική και φιλική προς τον ασθενή εναλλακτική λύση στη βαρφαρίνη,

ιδιαίτερα για ασθενείς που απαιτούν μακροχρόνια αντιπηκτική θεραπεία για καταστάσεις όπως η κοιλιακή μαρμαρυγή ή η φλεβική θρομβοεμβολή.

### 3.1.3 Παρεντερικοί αναστολείς του παράγοντα Xa

Έχοντας συζητήσει προηγουμένως τις παραδοσιακές κατηγορίες αντιπηκτικών, είναι επίσης σημαντικό να περιγράψουμε μια νεότερη κατηγορία αντιπηκτικών που έχει προκύψει τα τελευταία χρόνια: παρεντερικούς αναστολείς του παράγοντα Xa. Το κύριο φάρμακο αυτής της κατηγορίας είναι το fondaparinux, το οποίο διατίθεται σε ενέσιμη μορφή<sup>24</sup>. Το Fondaparinux είναι ένας συνθετικός πεντασακχαρίτης που αναστέλλει επιλεκτικά τον παράγοντα Xa, ένα βασικό ένζυμο στον καταρράκτη πήξης (Εικόνα 3).

Αναστέλλει έμμεσα τη δραστηριότητα του παράγοντα Xa δεσμεύοντας και ενεργοποιώντας την αντιθρομβίνη, έναν φυσικό αναστολέα διαφόρων παραγόντων πήξης. Η πεντασακχαριδική δομή του fondaparinux αποτελείται από πέντε μονάδες μονοσακχαριτών, οι οποίες είναι πανομοιότυπες με την

κρίσιμη και δραστική αλληλουχία που βρίσκεται στην ηπαρίνη, επιτρέποντάς της να δεσμεύεται αποτελεσματικά στην αντιθρομβίνη και να ενισχύει την ανασταλτική της δράση στον παράγοντα Χα<sup>24</sup>.

Ένα από τα διακριτικά χαρακτηριστικά του fondaparinux είναι η ιδιαιτερότητά του στην αναστολή του παράγοντα πήξης Χα, χωρίς να ασκεί άμεση επίδραση στη θρομβίνη. Αυτή η εστιασμένη δράση αποτελεί βασικό παράγοντα για τη μείωση των ανεπιθύμητων ενεργειών που συχνά σχετίζονται με τις ηπαρίνες, όπως ο αιμορραγικός κίνδυνος και η θρομβοπενία. Ο μειωμένος κίνδυνος αυτών των επιπλοκών καθιστά το fondaparinux ασφαλέστερη εναλλακτική λύση σε σύγκριση με άλλες ηπαρίνες, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει πιο σοβαρή αιμορραγία ή θρομβοπενία που προκαλείται από ηπαρίνη<sup>25</sup>. Επιπλέον, το fondaparinux έχει προβλέψιμη και αναπαραγωγίμη αντιπηκτική δράση, η οποία επιτρέπει τη χορήγησή του σε σταθερή δόση άπαξ ημερησίως χωρίς την ανάγκη τακτικής παρακολούθησης των επιπέδων φαρμάκων στο πλάσμα. Αυτό το καθιστά μια βολική και αποτελεσματική επιλογή για μακροχρόνια αντιπηκτική θεραπεία σε ποικίλα κλινικά περιβάλλοντα, συμπεριλαμβανομένης της πρόληψης και της θεραπείας της φλεβικής θρομβοεμβολής και του οξέος στεφανιαίου συνδρόμου<sup>26</sup>.

### 3.2 Εφαρμογή in silico κλινικών μελετών στην αντιπηκτική αγωγή

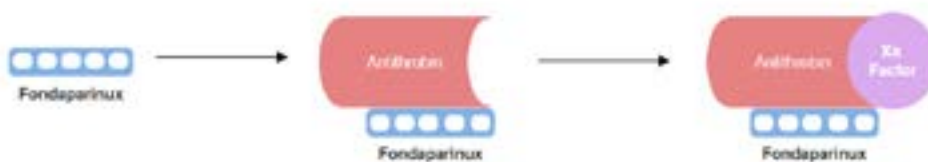
Οι κλινικές μελέτες που διεξάγονται με τη χρήση τεχνικών in silico εντός υπολογιστικών πλαισίων καθίστανται όλο και πιο πολύτιμες στο πλαίσιο της ανάπτυξης φαρμάκων, ιδίως όσον αφορά τη μείωση του αριθμού και της διάρκειας των παραδοσιακών κλινικών δοκιμών<sup>9,10</sup>. Χρησιμοποιώντας μοντέλα in silico, οι ερευνητές μπορούν να προσομοιώσουν την ανθρώπινη φυσιολογία και τις επιδράσεις των υποψηφίων φαρμάκων σε ένα εικονικό περιβάλλον, ελαχιστοποιώντας έτσι την ανάγκη για εκτεταμένες δοκιμές in vivo. Αυτό όχι μόνο επιταχύνει τη διαδικασία ανάπτυξης φαρμάκων, αλλά μειώνει επίσης τους σχετικούς κινδύνους, το κόστος και τις ηθικές ανησυχίες που είναι εγγενείς στις κλινικές δοκιμές που περιλαμβάνουν ανθρώπους. Η χρήση

υπολογιστικών μεθόδων επιτρέπει την πρόβλεψη της συμπεριφοράς, της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των φαρμάκων σε διάφορους πληθυσμούς ασθενών χωρίς την άμεση ανάγκη πρόσληψης ασθενών ή επεμβατικής δειγματοληψίας.

Ένα από τα βασικά πλεονεκτήματα των ISCTs είναι η ικανότητά τους να βελτιώνουν το σχεδιασμό κλινικών δοκιμών. Με την ακριβή μοντελοποίηση των πιθανών αποτελεσμάτων διαφορετικών παρεμβάσεων, οι ISCTs μπορούν να βοηθήσουν στη βελτιστοποίηση των παραμέτρων της δοκιμής (π.χ. δοσολογία, χρόνος και επιλογή ασθενών), οδηγώντας τελικά σε πιο αποδοτικές και αποτελεσματικές δοκιμές. Επιπλέον, οι ISCTs μπορούν να εντοπίσουν πιθανούς κινδύνους νωρίτερα στη διαδικασία, ελαχιστοποιώντας έτσι τις πιθανότητες ανεπιθύμητων αποτελεσμάτων σε κλινικές δοκιμές μεταγενέστερης φάσης. Με αυτές τις δυνατότητες, οι τεχνικές in silico αποσκοπούν όχι μόνο στη συμπλήρωση των παραδοσιακών δοκιμών αλλά και στη μερική αντικατάστασή τους, ιδίως στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης φαρμάκων<sup>9,10</sup>.

Η σύγκριση των βασικών χαρακτηριστικών μεταξύ κλινικών δοκιμών σε ανθρώπους και ISCTs μπορεί να συνοψιστεί στον Πίνακα 2 παρακάτω, ο οποίος υπογραμμίζει τα πλεονεκτήματα της χρήσης υπολογιστικών μεθόδων έναντι των παραδοσιακών δοκιμαστικών προσεγγίσεων:

Επίσης, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι το υπολογιστικό πλαίσιο των ISCTs παρέχει πολύτιμη βοήθεια σε κάθε φάση των κλινικών μελετών που διεξάγονται σε πραγματικές συνθήκες<sup>9</sup>. Με την προσομοίωση πολύπλοκων βιολογικών διεργασιών και απαντήσεων ασθενών, οι ISCTs μπορούν να υποστηρίξουν το σχεδιασμό, την εκτέλεση και την ερμηνεία κλινικών δοκιμών, μειώνοντας την ανάγκη για ανθρώπους ή ζώα και ενισχύοντας τη συνολική αποτελεσματικότητα της ανάπτυξης φαρμάκων. Συγκεκριμένα, τα ISCTs μπορούν να βοηθήσουν στη βελτιστοποίηση του σχεδιασμού κλινικών δοκιμών, στην πρόβλεψη των αποτελεσμάτων, στον εντοπισμό πιθανών κινδύνων και στην αξιολόγηση της φαρμακοδυναμικής και της φαρμακοκινητικής των φαρμάκων υπό διάφορες συνθήκες. Η ενσωμάτωση των ISCTs στις διαδικασίες κλινικών δοκιμών μπορεί να οδηγήσει σε πιο ακριβείς και απο-



**Εικόνα 3.** Μηχανισμός δράσης του fondaparinux.

**Πίνακας 2.** Σύγκριση πραγματικών και in silico κλινικών δοκιμών.

Πραγματικές κλινικές μελέτες	In Silico Κλινικές Μελέτες
<b>Παρουσία πραγματικού πλαισίου</b>	Έλλειψη πραγματικού πλαισίου, που διεξάγεται σε εικονικές και πλήρως ελεγχόμενες συνθήκες
<b>Περιορισμένα δείγματα</b>	Απεριόριστα δείγματα, που εισάγονται από ερευνητές κατά την κρίση τους
<b>Μεγάλη μεταβλητότητα</b>	Ελεγχόμενη μεταβλητότητα κατά την κρίση των ερευνητών
<b>Παρουσία αβεβαιότητας</b>	Μειωμένη αβεβαιότητα, με στατιστικές εκτιμήσεις
<b>Κίνδυνος για τους ασθενείς</b>	Κανένας κίνδυνος για τους ασθενείς, εφόσον χρησιμοποιούνται εικονικοί ασθενείς

**Πίνακας 3.** Εφαρμογή των ISCTs σε σχέση με τις φάσεις των παραδοσιακών κλινικών δοκιμών.

<b>Φάση 1</b>	Προσομοίωση της απαιτούμενης βιολογικής μεταβλητότητας και περιστάσεων (παθολογικές, φαινοτυπικές) Δυνατότητα συνεχούς προσαρμογής της δοσολογίας, βελτιστοποίηση του προφίλ ασφάλειας και των θεραπευτικών αποτελεσμάτων
<b>Φάση 2</b>	Αρχική διερεύνηση των πιθανών αποτελεσμάτων της μελέτης Προσδιορισμός πιθανών ζητημάτων πριν από την έναρξη μιας πλήρους κλίμακας, πραγματικής κλινικής δοκιμής φάσης III.
<b>Φάση 3</b>	Αξιόπιστη πρόβλεψη των αποτελεσμάτων της, παρέχοντας άμυνα στην επένδυση σε μια δοκιμή Φάσης III. Σημαντική μείωση του μεγέθους και της διάρκειας της φάσης III, εξοικονομώντας πόρους για τα συστήματα υγείας.

τελεσματικές δοκιμές, ελαχιστοποιώντας παράλληλα το κόστος.

Για την καλύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο οι ISCTs διασταυρώνονται με κάθε φάση των παραδοσιακών κλινικών δοκιμών, οι εφαρμογές των ISCTs σε σχέση με τις διάφορες φάσεις των κλινικών δοκιμών μπορούν να συνοψιστούν στον Πίνακα 3 πα-

ρακάτω.

Επιπλέον, οι ISCTs μπορούν να είναι ιδιαίτερα χρήσιμα όταν απευθύνονται σε ασθενείς από συγκεκριμένες πληθυσμιακές ομάδες, προσφέροντας βαθιά οφέλη στην εξατομικευμένη ιατρική. Για παράδειγμα, οι ηλικιωμένοι ασθενείς εμφανίζουν συχνά μειωμένη νεφρική λειτουργία, η οποία μεταβάλλει σημαντικά τη

φαρμακοκινητική συμπεριφορά πολλών φαρμάκων. Σε τέτοιες περιπτώσεις, η χρήση των ISCTs μπορεί να είναι ανεκτίμητη, επιτρέποντας στους ερευνητές να προσαρμόσουν τις φαρμακοκινητικές παραμέτρους με βάση τεκμηριωμένα μαθηματικά μοντέλα νεφρικής κάθαρσης, τα οποία είναι διαθέσιμα στη βιβλιογραφία<sup>9</sup>. Με τη δημιουργία εικονικών ασθενών με μειωμένη νεφρική κάθαρση - είτε λόγω γήρανσης είτε λόγω υποκείμενων ιατρικών καταστάσεων - οι ISCTs μπορούν να προβλέψουν πώς θα συμπεριφερθούν τα φάρμακα σε αυτούς τους πληθυσμούς. Αυτή η προγνωστική ικανότητα μπορεί να ενημερώσει τους κλινικούς ιατρούς σχετικά με τις πιθανές συγκεντρώσεις φαρμάκων στην κυκλοφορία του αίματος ηλικιωμένων ασθενών με μειωμένη νεφρική λειτουργία, καθοδηγώντας τελικά τις προσαρμογές στη δοσολογία του φαρμάκου και βελτιώνοντας τα αποτελέσματα των ασθενών.

Η προσέγγιση αυτή παρέχει τη δυνατότητα προσαρμογής των θεραπευτικών σχημάτων για άτομα των οποίων οι ανταποκρίσεις μπορεί να διαφέρουν σημαντικά από εκείνες του γενικού πληθυσμού<sup>27</sup>. Οι ISCTs διευκολύνουν αυτό το φαινόμενο χρησιμοποιώντας εικονικά μοντέλα ασθενών που προσομοιώνουν τις φυσιολογικές αλλαγές που προκαλούνται από τη γήρανση ή τις διαδικασίες ασθενειών, εξασφαλίζοντας ακριβέστερη δοσολογία χωρίς την ανάγκη επεμβατικών δοκιμών<sup>27</sup>. Ως αποτέλεσμα, οι ISCTs μπορούν να βοηθήσουν στη βελτιστοποίηση της φαρμακευτικής θεραπείας σε πληθυσμούς που συνήθως υπο-εκπροσωπούνται σε κλινικές δοκιμές, όπως οι ηλικιωμένοι ή τα άτομα με νεφρική δυσλειτουργία.

Επιπλέον, οι ISCTs προσφέρουν μια μοναδική λύση για τη θεραπεία σπάνιων ασθενειών, έναν τομέα όπου οι παραδοσιακές κλινικές δοκιμές συχνά δυσκολεύονται λόγω του περιορισμένου αριθμού επιλέξιμων ασθενών. Σε αυτές τις περιπτώσεις, μπορεί να είναι δύσκολο, αν όχι αδύνατο, να εξαχθούν έγκυρα συμπεράσματα από κλινικές δοκιμές λόγω του μικρού πληθυσμού ασθενών που είναι διαθέσιμος για εγγραφή. Ωστόσο, χρησιμοποιώντας τις ISCTs, οι ερευνητές μπορούν να προσομοιώσουν εικονικούς ασθενείς που αντιπροσωπεύουν σπάνιες ασθένειες, συμπληρώνοντας έτσι τα περιορισμένα δεδομένα του πραγματικού κόσμου με υπολογιστικά παραγόμενες πληροφορίες

εξ<sup>8</sup>. Ο συνδυασμός εικονικών δεδομένων ασθενών με πραγματικά δεδομένα ασθενών ανοίγει νέους δρόμους για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας των θεραπειών για αυτές τις παθήσεις, οι οποίες διαφορετικά θα παρέμεναν σε μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητες. Ως εκ τούτου, οι ISCTs παρέχουν ένα ουσιαστικό εργαλείο για τη διερεύνηση σπάνιων ασθενειών, μειώνοντας την εξάρτηση από την πρόσληψη ασθενών και προωθώντας την κλινική έρευνα σε τομείς που έχουν ιστορικά παραμεληθεί.

Δεδομένων των προκλήσεων που συνδέονται με τις σπάνιες νόσους και τους ηλικιωμένους πληθυσμούς, θα πρέπει να αφιερωθούν ειδικές ερευνητικές προσπάθειες στη βελτίωση της εφαρμογής των ISCTs στους τομείς αυτούς. Η στοχευμένη ανάπτυξη μοντέλων ειδικά για τον ασθενή μπορεί να καταστήσει δυνατή την ακριβέστερη πρόβλεψη της αποτελεσματικότητας των φαρμάκων, των παρενεργειών και των προσαρμογών της δοσολογίας, ανοίγοντας τον δρόμο για πιο αποτελεσματικές και εξατομικευμένες στρατηγικές θεραπείας σε μία σειρά από θεραπευτικές ανάγκες<sup>27-30</sup>.

#### 4. Συζήτηση

Συμπερασματικά, το τοπίο της αντιπηκτικής θεραπείας έχει εξελιχθεί σημαντικά, με την ανάπτυξη νεότερων κατηγοριών φαρμάκων που παρέχουν πιο αποτελεσματικές και ασφαλέστερες εναλλακτικές λύσεις έναντι των παραδοσιακών VKAs. Τα NOACs, όπως οι άμεσοι αναστολείς θρομβίνης και οι αναστολείς του παράγοντα Xa, ευνοούνται όλο και περισσότερο λόγω των προβλέψιμων φαρμακολογικών προφίλ τους, της σταθερής δοσολογίας και της ελάχιστης ανάγκης για παρακολούθηση ρουτίνας. Αυτά τα πλεονεκτήματα καθιστούν τα NOACs μια πολύτιμη επιλογή για τους ασθενείς, μειώνοντας τον κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών και βελτιώνοντας τη συμμόρφωση των ασθενών. Επιπλέον, η εμφάνιση παρενεργειών αναστολέων όπως το *fondaparinux*, το οποίο προσφέρει μια πιο συγκεκριμένη αναστολή του παράγοντα Xa, ενισχύει περαιτέρω τις θεραπευτικές επιλογές.

Παράλληλα με τις εξελίξεις στη φαρμακευτική θεραπεία, οι ISCTs αντιπροσωπεύουν μια πολλά

υποσχόμενη προσέγγιση για τη βελτιστοποίηση των αντιπηκτικών θεραπειών. Οι ISCTs επιτρέπουν στους ερευνητές να προσομοιώνουν κλινικά σενάρια, να προβλέπουν αποκρίσεις φαρμάκων και να μειώνουν την ανάγκη για εκτεταμένες δοκιμές σε ανθρώπους ή ζώα. Αυτό το υπολογιστικό πλαίσιο προσφέρει μια πιο δεοντολογική, οικονομικά αποδοτική και αποτελεσματική εναλλακτική λύση στις παραδοσιακές κλινικές δοκιμές, επιτρέποντας ακριβείς προσαρμογές για ειδικούς πληθυσμούς, όπως οι ηλικιωμένοι ή τα άτομα με σπάνιες ασθένειες. Χρησιμοποιώντας εικονικά μοντέλα ασθενών, οι ISCTs μπορούν να προβλέψουν πώς συμπεριφέρονται τα

αντιπηκτικά σε συγκεκριμένες ομάδες ασθενών, διευκολύνοντας τα εξατομικευμένα θεραπευτικά σχήματα.

Συνολικά, η ενσωμάτωση των ISCTs στην κλινική έρευνα παρέχει τη δυνατότητα να φέρει επανάσταση στον τρόπο με τον οποίο δοκιμάζονται και εφαρμόζονται στην πράξη τα αντιπηκτικά. Καθώς οι υπολογιστικές μέθοδοι συνεχίζουν να βελτιώνονται, το μέλλον της αντιπηκτικής θεραπείας πιθανότατα θα βασιστεί σε μεγάλο βαθμό σε αυτές τις προηγμένες προσομοιώσεις, προσφέροντας πιο προσαρμοσμένες, αποτελεσματικές και ασφαλείς θεραπευτικές επιλογές για διαφορετικούς πληθυσμούς ασθενών. □

## In Silico Clinical Trials for the Optimization of Anticoagulant Therapy

Michaela Papacharalambous, Vangelis D. Karalis\*

Laboratory of Biopharmaceutics-Pharmacokinetics, Department of Pharmacy, National and Kapodistrian University of Athens, 15784, Athens, Greece

### KEY WORDS:

**Anticoagulants; in silico clinical trials; Non-vitamin K oral anticoagulants (NOACs); Vitamin K antagonists (VKAs); Factor Xa inhibitors**

### ABSTRACT

Anticoagulant therapy plays a crucial role in preventing and managing thromboembolic disorders, with traditional medications like vitamin K antagonists (VKAs) being widely used for decades. However, VKAs present challenges such as a narrow therapeutic window, dietary and drug interactions, and the need for regular monitoring. In response, newer classes of anticoagulants, specifically non-vitamin K oral anticoagulants (NOACs) and parenteral inhibitors of factor Xa, have been developed. NOACs, including direct thrombin inhibitors and factor Xa inhibitors, offer more predictable pharmacological profiles, fixed dosing, and fewer interactions, providing significant advantages over VKAs. Additionally, the emergence of In Silico Clinical Trials (ISCTs) represents a transformative approach in drug development, enabling the simulation of clinical outcomes using computational models. ISCTs offer an efficient, ethical, and cost-effective alternative to traditional clinical trials by replicating biological systems and predicting drug interactions, safety, and efficacy in virtual patient populations. This is particularly beneficial in man-

**\* CORRESPONDING  
AUTHOR:**

Vangelis D. Karalis  
vkaralis@pharm.uoa.gr

aging complex patient groups, such as the elderly or those with rare diseases, where clinical trial recruitment is challenging. The integration of ISCTs with novel anticoagulants presents a promising future for personalized medicine, reducing the need for extensive human or animal trials while enhancing therapeutic strategies. This paper discusses the evolution of anticoagulant therapies, the role of ISCTs in optimizing treatment, and the potential for a more tailored, effective approach to managing coagulation disorders.

**Βιβλιογραφία**

1. Davie E.W., Ratnoff O.D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting. *Science*. 145, 1310–1312, 1964.
2. Green D. Coagulation cascade. *Hemodial. Int.* 10(Suppl 2), S2–S4, 2006.
3. Hoffman M., Monroe D.M. A cell-based model of hemostasis. *Thromb. Haemost.* 85, 958–965, 2001.
4. Ageno W., Gallus A.S., Wittkowsky A., Crowther M., Hylek E.M., Palareti G. Oral anticoagulant therapy: Antithrombotic Therapy and Prevention of Thrombosis, 9th ed: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. *Chest*. 141(Suppl 2), e44S–e88S, 2012.
5. Witt D.M., Clark N.P., Kaatz S., Schnurr T., Ansell J.E. Guidance for the practical management of warfarin therapy in the treatment of venous thromboembolism. *J. Thromb. Thrombolysis*. 41, 187–205, 2016.
6. Di Minno A., Frigerio B., Spadarella G., Ravani A., Sansaro D., Amato M., Kitzmiller J.P., Pepi M., Tremoli E., Baldassarre D. Old and new oral anticoagulants: Food, herbal medicines and drug interactions. *Blood Rev.* 31, 193–203, 2017.
7. Shaker B., Ahmad S., Lee J., Jung C., Na D. In silico methods and tools for drug discovery. *Comput. Biol. Med.* 137, 104851, 2021.
8. Gal J., Milano G., Ferrero J.M., Saâda-Bouزيد E., Viotti J., Chabaud S., Gougis P., Le Tourneau C., Schiappa R., Paquet A., Chamorey E. Optimizing drug development in oncology by clinical trial simulation: Why and how? *Brief Bioinform.* 19, 1203–1217, 2018.
9. Bruno A., Costantino G., Sartori L., Radi M. The In Silico Drug Discovery Toolbox: Applications in Lead Discovery and Optimization. *Curr. Med. Chem.* 26, 3838–3873, 2019.
10. Karalis V.D. The Integration of Artificial Intelligence into Clinical Practice. *Appl. Biosci.* 3, 14–44, 2024.
11. Holford N.H. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin: Understanding the dose-effect relationship. *Clin. Pharmacokinet.* 11, 483–504, 1986.
12. Reilly R.F., Jain N. Warfarin in nonvalvular atrial fibrillation: Time for a change? *Semin. Dial.* 32, 520–526, 2019.
13. Bhatia K., Ladd L.M., Carr K.H., Di Napoli M., Saver J.L., McCullough L.D., Hosseini Farahabadi M., Alsbrook D.L., Hinduja A., Ortiz Garcia J.G., Sabbagh S.Y., Jafarli A., Divani A.A. Contemporary Antiplatelet and Anticoagulant Therapies for Secondary Stroke Prevention: A Narrative Review of Current Literature and Guidelines. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 23, 235–262, 2023.
14. Sonuga B.O., Hellenberg D.A., Cupido C.S., Jaeger C. Profile and anticoagulation outcomes of patients on warfarin therapy in an urban hospital in Cape Town, South Africa. *Afr. J. Prim. Health Care Fam. Med.* 8, e1–e8, 2016.
15. Steffel J., Verhamme P., Potpara T.S., Albaladejo P., Antz M., Desteghe L., Haeusler K.G., Oldgren J., Reinecke H., Roldan-Schilling V., Rowell N., Sinnaeve P., Collins R., Camm A.J., Heidbüchel H; ESC Scientific Document Group. The 2018 European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of non-vitamin K antagonist oral anticoagulants in patients with atrial fibrillation.

- Eur. Heart J.* 39, 1330–1393, 2018.
16. Connolly S.J., Ezekowitz M.D., Yusuf S., Eikelboom J., Oldgren J., Parekh A., Pogue J., Reilly P.A., Themeles E., Varrone J., Wang S., Alings M., Xavier D., Zhu J., Diaz R., Lewis B.S., Darius H., Diener H.C., Joyner C.D., Wallentin L; RE-LY Steering Committee and Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 361, 1139–1151, 2009.
  17. Giugliano R.P., Ruff C.T., Braunwald E., Murphy S.A., Wiviott S.D., Halperin J.L., Waldo A.L., Ezekowitz M.D., Weitz J.I., Špinar J., Ruzyllo W., Ruda M., Koretsune Y., Betcher J., Shi M., Grip L.T., Patel S.P., Patel I., Hanyok J.J., Mercuri M., Antman E.M; ENGAGE AF-TIMI 48 Investigators. Edoxaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 369, 2093–2104, 2013.
  18. Deeks E.D. Apixaban: A review of its use in the prevention of venous thromboembolism after knee or hip replacement surgery. *Drugs.* 72, 1271–1291, 2012.
  19. Patel M.R., Mahaffey K.W., Garg J., Pan G., Singer D.E., Hacke W., Breithardt G., Halperin J.L., Hankey G.J., Piccini J.P., Becker R.C., Nessel C.C., Paolini J.F., Berkowitz S.D., Fox K.A., Califf R.M; ROCKET AF Investigators. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N. Engl. J. Med.* 365, 883–891, 2011.
  20. Paik J. Dabigatran Etxilate: A Review in Pediatric Venous Thromboembolism. *Paediatr. Drugs.* 24, 423–431, 2022.
  21. Altiok E., Marx N. Oral anticoagulation. *Dtsch Arztebl Int.* 115, 776–783, 2018.
  22. López-López J.A., Sterne J.A.C., Thom H.H.Z., Higgins J.P.T., Hingorani A.D., Okoli G.N., Davies P.A., Bodalia P.N., Bryden P.A., Welton N.J., Hollingworth W., Caldwell D.M., Savović J., Dias S., Salisbury C., Eaton D., Stephens-Boal A., Sofat R. Oral anticoagulants for prevention of stroke in atrial fibrillation: systematic review, network meta-analysis, and cost effectiveness analysis. *BMJ.* 359, j5058, 2017.
  23. Eikelboom J.W., Connolly S.J., Brueckmann M., Granger C.B., Kappetein A.P., Mack M.J., Blatchford J., Devenny K., Friedman J., Guiver K., Harper R., Khder Y., Lobbmeyer M.T., Maas H., Voigt J.U., Simoons M.L., Van de Werf F; RE-ALIGN Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with mechanical heart valves. *N. Engl. J. Med.* 369, 1206–1214, 2013.
  24. Jeske W.P., Walenga J.M., Samama M.M., Hoppensteadt D., Mayuga M., Fareed J. Functionality of fondaparinux (pentasaccharide) depends on clinical antithrombin levels. *Blood Coagul. Fibrinolysis.* 22, 206–210, 2011.
  25. Lee G.M., Arepally G.M. Heparin-induced thrombocytopenia. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2013, 668–674, 2013.
  26. Nicolaides A.N., Fareed J., Kakkar A.K., Comerota A.J., Goldhaber S.Z., Hull R., Myers K., Samama M., Fletcher J., Kalodiki E., Bergqvist D., Bonnar J., Caprini J.A., Carter C., Conard J., Eklof B., Elalamy I., Gerotziafas G., Geroulakos G., Giannoukas A., Greer I., Griffin M., Kakkos S., Lassen M.R., Lowe G.D., Markel A., Prandoni P., Raskob G., Spyropoulos A.C., Turpie A.G., Walenga J.M., Warwick D. Prevention and treatment of venous thromboembolism—International Consensus Statement. *Int. Angiol.* 32, 111–260, 2013.
  27. Pappalardo F., Russo G., Tshinanu F.M., Viceconti M. In silico clinical trials: concepts and early adoptions. *Brief Bioinform.* 20, 1699–1708, 2019.
  28. Karalis V., Macheras P. An insight into the properties of a two-stage design in bioequivalence studies. *Pharm. Res.* 30, 1824–1835, 2013.
  29. Dausani C., Karalis V., Malenović A., Dotsikas Y. Hematocrit effect on dried blood spots in adults: a computational study and theoretical considerations. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 79, 325–333, 2019.
  30. Ntanasias-Stathopoulos I., Karalis V., Gavriatopoulou M., Malandrakis P., Sklirou A.D., Eleutherakis-Papaiakovou E., Migkou M., Roussou M., Fotiou D., Alexopoulos H., Theodorakakou F., Kastritis E., Iconomidou V.A., Trougakos I.P., Dimopoulos M.A., Terpos E. Second booster BNT162b2 restores SARS-CoV-2 humoral response in patients with multiple myeloma, excluding those under anti-BCMA therapy. *Hemasphere.* 6, e764, 2022.