

Anticoagulantes orales directos: control del laboratorio y actualización de pruebas específicas

Direct oral anticoagulants: laboratory issues
and update of target-specific tests

Herrera ML

*Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento
de Bioquímica Clínica. Laboratorio de Hemostasia. INFIBIOC.*

lourdesherrerabo@hotmail.com



IV CURSO EDUCACIONAL
DE LA ISTH - BLOQUE 4
TEMAS DE INTERÉS
EN EL LABORATORIO

HEMATOLOGÍA
Volumen 22 • Número Extraordinario
XIII Congreso del Grupo CAHT: 292-298
Septiembre 2018

Palabras claves: DOAC,
tratamiento anticoagulante,
control de laboratorio.

Keywords: DOAC,
anticoagulant therapy,
laboratory testing.

Introducción

La búsqueda del anticoagulante ideal es un desafío constante para la industria farmacéutica. Esta búsqueda se ha centrado en mejorar los puntos débiles de los anticoagulantes orales tradicionales (ACO). En este sentido, la industria se ha dedicado a producir drogas más seguras, de administración oral, dosis fijas, con inicio de acción rápido, con efecto predecible y sin efectos secundarios importantes ni interacciones con otros medicamentos. Así surgen nuevos anticoagulantes orales directos (DOACs) que inhiben, ya sea a la trombina como el dabigatrán, o al FXa como el rivaroxabán, el apixabán y el edoxabán, entre otros xabanos, cuya eficacia y seguridad se ha comparado con los ACO tradicionales. En todos los casos demostraron ser tan efectivos como los ACO pero con menor incidencia de hemo-

rragia intracraneal, si bien el sangrado gastrointestinal se incrementó en algunos casos. Estas drogas salieron al mercado con la ventaja de no necesitar monitoreo de laboratorio debido a su farmacodinamia y farmacocinética predecibles. Sin embargo en varias circunstancias es necesario conocer la concentración de la droga en sangre. Debido a que las pruebas clásicas de hemostasia no son suficientemente sensibles para ser utilizadas en el control de estas drogas, el desafío actual del laboratorio es dar respuesta a esta problemática. Por este motivo, es necesario desarrollar y poner a punto nuevos ensayos que nos permitan evaluar a los DOACs. De esta manera, especialmente ante situaciones de urgencia, podremos brindar información de utilidad en el tratamiento del paciente.

El objetivo de esta presentación es realizar una re-

visión de las pruebas de rutina y ensayos específicos disponibles para el monitoreo y dosaje de los DOACs, como así también las consideraciones necesarias para una correcta interpretación de los resultados.

Los DOACs comenzaron a emplearse en el año 2008 en Europa, cuando fueron aprobados para su uso en prevención primaria de tromboembolismo venoso en cirugía de reemplazo total de cadera o de rodilla. Dos años después fueron aprobados en Estados Unidos para la prevención de accidente cerebrovascular en pacientes con fibrilación auricular no valvular y, últimamente, para prevención secundaria de enfermedad tromboembólica venosa. Actualmente están disponibles en nuestro medio el inhibidor directo de trombina, dabigatrán y los inhibidores directos del factor Xa (FXa), apixabán y rivaroxabán.

Etexilato de dabigatrán

El etexilato de dabigatrán es un profármaco que se absorbe por vía digestiva en medio ácido y, por acción de estererasas a nivel portal y en hígado, es hidrolizado transformándose en dabigatrán, su forma activa⁽¹⁾ Es sustrato del transportador glicoproteína P (P-gp) pero no es metabolizado por las isoenzimas del citocromo P450. Se une al sitio activo de la trombina inhibiéndola en forma competitiva e irreversible, tanto a la trombina libre como a la unida a fibrina. Posee una baja biodisponibilidad (3-7%) y un 35% de unión a proteínas, por lo cual se necesitan altas dosis para lograr concentraciones adecuadas en plasma. Su excreción es principalmente renal (80%) por lo que está contraindicado su uso en pa-

cientes con nefropatías. En individuos con función renal conservada la vida media es de 12 a 14 h y el pico de actividad se alcanza usualmente entre 1.25 y 3 h después de la ingesta de la droga (Tabla 1).

Rivaroxabán

El rivaroxabán es un inhibidor directo del FXa que inhibe competitivamente tanto al FXa libre como el unido al complejo protrombinasa. Se absorbe rápidamente, es sustrato de la P-gp y se metaboliza por las enzimas del CYP3A4 en el hígado, por lo que está contraindicado en afecciones hepáticas severas. Alcanza un pico de concentración plasmática a las 2 h y un máximo de inhibición de la actividad del FXa entre 1 y 4 h post dosis⁽²⁾. Se administra en una dosis diaria y posee una vida media de 5 a 13 h con una alta biodisponibilidad (80-100%) cuando se administra con alimentos, pero su absorción disminuye considerablemente en el ayuno. La unión a proteínas es aproximadamente del 92-95%, siendo la albúmina la principal proteína de unión (Tabla 1).

Apixabán

El apixabán es un inhibidor directo, reversible, del FXa con una alta afinidad tanto por el FXa libre como unido al complejo protrombinasa y a plaquetas⁽¹⁾. Se administra dos veces al día como droga activa. Es sustrato de la P-gp y es metabolizado por la isoenzima CYP3A4. Luego de su absorción el pico de concentración plasmática se alcanza entre 3 a 4 h post dosis exhibiendo una vida media de aproximadamente 12 h. Se une en un 87% a proteínas y su excreción es principalmente por vía fecal en un 56% y por vía renal en un 25% (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación entre distintos DOACs

	Dabigatrán	Rivaroxabán	Apixabán	Edoxabán
Mecanismo de acción	Inhibidor directo y reversible de la trombina libre y unida al coágulo	Inhibidor directo reversible del FXa libre y unido al complejo protrombinasa	Inhibidor directo reversible del FXa libre y unido al complejo protrombinasa	Inhibidor directo, reversible del FXa libre y unido al complejo protrombinasa
Biodisponibilidad	3-7%	80-100%	50%	62%
Unión a proteínas	35%	92-95%	87%	55%
Excreción	80% renal	67 % renal	56% fecal	50% renal
Tiempo a la cc máxima	1.5-3 h	2-3 h	3-4 h	1-2 h
Vida media	12-14 h	5-13h	12 h	10-14h

Edoxabán

El edoxabán es un inhibidor altamente selectivo, directo y reversible del FXa. Inhibe tanto el FXa libre como el unido al complejo protrombinasa⁽³⁾. Aún no está disponible en Argentina pero ya está aprobado para su uso en Estados Unidos, Europa y Japón. Se absorbe rápidamente con un pico de concentración plasmática entre 1 y 2 h post dosis y exhibe una vida media de 10 a 14 h. Posee tres metabolitos activos formados por hidrólisis mediada por la carboxiesterasa-1, conjugación y oxidación por la CYP3A4/5. Su biodisponibilidad es de aproximadamente un 62% y se excreta por riñón en un 50% (**Tabla 1**).

Consideraciones para la medición de los DOACs

Podemos enumerar algunas situaciones donde sería conveniente conocer la concentración de droga:

- Antes de iniciar el tratamiento: nos permitiría excluir posibles síndromes hemorrágicos subclínicos y además asegurarnos de que la prueba de laboratorio que vamos a utilizar para el monitoreo tenga valores basales normales.
- Ante una cirugía de urgencia o procedimiento invasivo es útil conocer el estado anticoagulante del paciente, especialmente en aquellos pacientes que no tienen una depuración adecuada de la droga, ya sea por disfunción renal o hepática.
- Frente a eventos adversos que se pudieran presentar durante el tratamiento, como hemorragia o trombosis: deben dosarse los niveles de droga para evaluar concentraciones sub o supratrapéuticas que pudieran estar causando el efecto adverso como, por ejemplo, una intoxicación en caso de hemorragia.
- Para ajuste de dosis en aquellos pacientes con un BMI extremo o que posean una metabolización de la droga alterada.

- Evaluación de la adherencia al tratamiento, teniendo la salvedad de que la vida media corta que presentan los DOACs no permite detectar si hubo omisiones de más de una dosis.
- Evaluación de interacciones medicamentosas, cuando una nueva droga se suma al tratamiento.

Recomendaciones para la toma de muestra en la medición de los DOACs

Se puede utilizar plasma citratado (3,2%) tanto para los ensayos cualitativos como cuantitativos. Para los ensayos de espectrometría de masa se puede usar suero o plasma, utilizando heparina de litio o EDTA como anticoagulantes⁽⁴⁾. La estabilidad del dabigatrán en plasma es de 24 h a temperatura ambiente, pero si se va a realizar un ensayo coagulométrico no debe superar las 4 h. A -20°C es estable por 14 meses. Para el rivaroxabán y apixabán la estabilidad en plasma es de 8 h a temperatura ambiente y 30 días a -20°C. A diferencia de los ACO que mantienen un estado de anticoagulación constante durante el día, la distinta farmacocinética de los DOACs hace que las concentraciones varíen a partir de la toma del fármaco, alcanzando un pico máximo entre las 2 y 4 h posteriores a la toma y una caída rápida de actividad, ya que la vida media varía entre las 5 y 17 horas. Para una correcta interpretación de los resultados de laboratorio es mandatorio conocer el tiempo transcurrido entre la última dosis y la extracción de sangre. Llamamos “pico” de actividad a las 2 h después de la toma del DOAC y “valle” a la concentración alcanzada a las 12 h para las drogas administradas dos veces al día o 24 h para el caso de una dosis diaria. Aun no se han establecido “rangos terapéuticos” de los DOACs por lo cual algunos autores recomiendan evaluar los niveles en el valle e informar junto con el resultado los valores esperados citados en distintas publicaciones (**Tabla 2**).

Tabla 2. Concentración esperada de droga en valle y pico.

Dosis	Dabigatrán		Rivaroxabán		Apixabán	
	110 mg	150 mg	15 mg	20 mg	2.5 mg	5 mg
Pico ng/ml	190 (31-651)	210 (43-538)	208 (77-393)	235 (61-449)	192 (55-300)	200 (102-416)
Valle ng/ml	93 (14-386)	91 (16-494)	27 (0-88)	41 (5-119)	79 (26-248)	113 (42-283)

El laboratorio de hemostasia en la medición de los DOACs

La prueba óptima para evaluar estos DOACs dependerá si será utilizada como un método cualitativo (presencia o ausencia) o cuantitativo (ng/ml) y del tiempo requerido para la entrega de resultados. Idealmente sería aquella que muestre adecuada linealidad, reproducibilidad y sensibilidad para detectar niveles clínicamente relevantes, que nos permita cuantificar la droga en un amplio rango de concentraciones, ser simple de realizar y estar disponible las 24 h. Actualmente son limitados los ensayos que pueden cumplir con estas condiciones, sumado al elevado costo, ya que requieren calibradores y controles específicos para cada DOACs, hace que el control de estas drogas no se encuentre disponible en la mayoría de los laboratorios. Algunos laboratorios comerciales ofrecen kits validados en instrumentos automatizados y existen aprobados métodos al pie de la cama (*point of care*) para determinar la concentración de estos anticoagulantes en sangre y orina.

Ensayos cualitativos para evaluar a los pacientes tratados con dabigatrán

- **Tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT):** se prolonga en forma no lineal con el incremento de la concentración de droga, es lineal a bajas concentraciones, pero pierde sensibilidad y no permite la cuantificación cuando los niveles superan los 200-300 ng/mL⁽⁵⁾. Los reactivos comerciales difieren ampliamente en la sensibilidad al dabigatrán, los menos sensibles requieren una concentración plasmática de 400 ng/ml para prolongar el APTT al doble, mientras que los más sensibles, requieren 200 ng/ml para llegar a esa prolongación del APTT. Un APTT 2,5 veces el normal en el valle (> 80 segundos) podría indicar un exceso de anticoagulación. El consejo es que cada laboratorio determine la sensibilidad de los reactivos y la metodología propia, mediante gráficos dosis-respuesta, confeccionados con calibradores específicos de distintas concentraciones de dabigatrán o con plasmas de pacientes en tratamiento, cuyos niveles de dabigatrán se determinaron previamente con una técnica cuantitativa específica.
- **Tiempo de protrombina (TP):** es prácticamente insensible a la presencia de dabigatrán, ya que puede dar un resultado normal, aún por encima del rango que se alcanza terapéuticamente.
- **Tiempo de trombina (TT):** es una prueba altamente sensible a la presencia de dabigatrán, pero su respuesta es excesiva, de manera que el grado de prolongación no refleja la concentración del fármaco. Los pacientes que reciben 150 mg de dabigatrán dos veces por día alcanzan una concentración aproximada en plasma de 175 ng/ml, esto sería suficiente para que el TT se prolongue 10 veces el valor basal. Por otro lado niveles bajos de 30 ng/ml producen una prolongación significativa del TT y valores superiores a 50 ng/ml producen una prolongación superior al límite de detección. Puede permanecer prolongado hasta varios días después de suspendida la droga, por lo cual no es útil para monitorizar la dosis; sin embargo se puede afirmar que un TT normal descarta la presencia de niveles de dabigatrán clínicamente relevantes.

Pruebas cuantitativas específicas:

- **Inhibición del tiempo de trombina diluido (TTI).** Se basa en medir el tiempo de coagulación de una mezcla del plasma del paciente con un *pool* de plasma normal (1:8) a la que se agrega trombina humana (0,75 NIH U/ml cc final)⁽⁵⁾. El dabigatrán inhibe la actividad de trombina, la prolongación del tiempo que tarda en coagular es proporcional a la actividad inhibitoria de la droga. El kit comercial (Hemosil DTI®, Hemoclot®) trae los calibradores de dabigatrán, en caso de no tener acceso a los calibradores se pueden informar los resultados en cocientes paciente/normal, pero debe considerarse que la distinta sensibilidad entre diferentes combinaciones instrumento/reactivo afecta los resultados obtenidos en diferentes laboratorios. La prueba se prolonga en forma lineal con la concentración de dabigatrán. Los kits comerciales reportan un límite de cuantificación (LLOQ) entre 20-30 ng/ml. El TTI puede implementarse en cualquier coagulómetro y es muy útil en la urgencia. El límite de cuantificación puede ser mejorado modificando la dilución con el *pool* normal (1:2).
- **Métodos basados en ecarin:** el ecarín es una metaloproteasa que convierte la protrombina a meizotrombina, la cual es inhibida por el dabiga-

trán. Se puede medir por ensayo coagulométrico, tiempo de coagulación con ecarin (TCE) o con sustratos cromogénicos (ECA). La prolongación del TCE es lineal y dependiente de la concentración de dabigatrán, se prolonga tres veces el valor basal cuando el nivel plasmático es de 175-200 ng/ml. El ensayo coagulométrico tiene como desventaja que las deficiencias de fibrinógeno pueden interferir en la medición.

Para el ECA los ensayos comerciales reportan un límite de detección ente 14 y 46 ng/ml y buena correlación con el método de espectrometría de masa.

Ensayos cualitativos para evaluar pacientes tratados con rivaroxabán o apixabán:

- **TP:** se prolonga en presencia de niveles terapéuticos de rivaroxabán que se alcanzan en el pico, pero generalmente es normal en el valle. El apixabán, en cambio, no afecta o puede provocar una mínima prolongación del TP cuando se alcanzan altas concentraciones de la droga. Por lo tanto ambos xabanes afectan de manera diferente al TP y la sensibilidad de la prueba varía con el tipo de tromboplastina empleada; Triniclot y Neoplastin presentan el mejor desempeño, mientras que el Innovin no tanto. La cc de rivaroxabán necesaria para duplicar el TP varía de 66 ng/ml a 750 ng/ml. El radio de TP correspondiente a 120 ng/ml de rivaroxabán es de 1.15 a 1.56. Para el apixabán la concentración requerida para duplicar el TP varía de 400 a 1000 ng/ml y un TP normal se puede obtener con concentraciones superiores a 200 ng/ml.

Por lo expresado podemos decir que un TP normal no descarta la presencia de rivaroxabán ni de apixabán en el rango de concentraciones alcanzadas terapéuticamente. El TP no debería ser informado en términos de RIN en pacientes tratados con DOACs si bien existen esfuerzos para estandarizar los TP creando un ISI para rivaroxabán análogo al ISI para los anticoagulantes anti vitamina K, esta práctica aun no está ampliamente difundida⁽⁶⁾.

- **APTT:** es poco sensible a los xabanes y depende de la dupla reactivo/coagulómetro, se prolonga poco con rivaroxabán y es insensible a concentraciones menores a 50 ng/ml. La presencia de apixabán prácticamente no prolonga el APTT.

Pruebas cuantitativas específicas:

- **Actividad anti-FXa:** la concentración plasmática de rivaroxabán o apixabán se puede medir con equipos comerciales basados en el método cromogénico empleando calibradores y controles específicos para cada uno de ellos. La prueba se basa en la capacidad de los xabanes de inhibir la actividad del FXa agregado en exceso al plasma del paciente; la actividad del FXa residual, que es inversamente proporcional a la actividad del fármaco presente en la muestra, se mide sobre un sustrato sintético específico. Los resultados se obtienen en densidad óptica y se transforman en concentración de droga, interpolando en una curva de calibración preparada con plasmas que tienen concentraciones crecientes de rivaroxabán o apixabán o con los calibradores específicos que permiten medir el nivel plasmático de la droga en un amplio rango de concentraciones. El LLOQ para el rivaroxabán es de 25-30 ng/ml, mientras que para el apixabán es de 10-15 ng/ml. No se recomienda el uso de kits suplementados con antitrombina, ya que sobrestiman la concentración de droga. Dado que los calibradores de rivaroxabán y apixabán son caros y de difícil acceso comparados con los de HBPM, nos planteamos la posibilidad de usarlos en lugar de los calibradores específicos. Para ello correlacionamos la actividad aFXa expresada en ng/ml de rivaroxabán (aXa-R) o apixabán (aXa-A) y las unidades anti FXa/mL de HBPM. Hallamos una buena correlación entre ambos métodos (R^2 0.96 para rivaroxabán y 0.99 para apixabán). Para los xabanes si el nivel de aFXa-HBPM (IU/ml) es cero permite descartar la presencia de droga. Este método tiene limitaciones en cuanto al rango de linealidad y al LLOQ, por lo cual sus resultados deben ser utilizados con precaución.

Cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masa (HPLC-MS/MS)

La cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masa (HPLC-MS/MS) es considerada la prueba patrón de oro debido a su alta especificidad, sensibilidad, selectividad y reproducibilidad para medir los niveles de todos los DOACs⁽⁷⁾. El rango reportable de cuantificación es de 5 a 500 ng/ml, siendo adecuado para medir

las concentraciones en pico y valle de la mayoría de los pacientes. Presenta una precisión intra e inter ensayo de alrededor del 6 y 10% respectivamente. La principal desventaja de este método es que no se encuentra disponible en la mayoría de los laboratorios debido a su complejidad y necesidad de equipo especializado. Las concentraciones de los DOACs halladas por este método se emplean para el diseño de controles y calibradores específicos como así también para validar nuevos métodos de detección de DOACs.

Ensayos al pie de la cama

ROTEM y TEG: se observó correlación entre los parámetros R y CFT y la concentración de dabigatán y rivaroxabán. Sin embargo, hasta el momento no hay suficientes datos que soporten el uso de estos métodos para la detección de los DOACs.

Los métodos al pie de la cama para la determinación de TP, APTT y ACT demostraron tener pobre correlación, baja sensibilidad y solapamiento entre rango normal y niveles terapéuticos de los DOACs, por lo cual no están recomendados⁽⁴⁾. Tiras reactivas para orina: actualmente sólo disponible en Alemania (DOASENSE) es un método rápido y confiable para

determinar la presencia o ausencia de los DOACs.

Ensayo de generación de trombina

La prueba de generación de trombina (GT) evalúa la capacidad total de un plasma de producir trombina en respuesta a un determinado estímulo. Actualmente existe la posibilidad de estudiar la prueba de GT en forma automatizada y con la ayuda de un programa informático se obtiene la curva de GT denominada trombograma. Si tenemos en cuenta el mecanismo complejo que interviene en la formación de la trombina, podemos entender por qué la GT ofrece mejor estimación del riesgo de trombosis o de hemorragia, comparada con las pruebas tradicionales de coagulación. El ensayo de GT podría ser una herramienta útil en el laboratorio, tanto para medir la actividad anticoagulante de los DOACs como para estudiar sus mecanismos de acción. Los DOACs modifican los parámetros de generación, disminuyendo tanto el potencial endógeno de trombina (ETP) como la cantidad máxima de trombina generada (PICO) y prolongando el tiempo de latencia. En nuestra experiencia utilizamos este método en conjunto con el dosaje de la droga para la evaluación de pacientes en tratamiento con 5 y 2.5 mg apixabán (**Tablas 3 y 4**).

Tabla 3. Parámetros de GT en valle y pico en pacientes en tratamiento con 5 mg de Apixabán

Apixabán 5 mg BID	Valle (V)	Pico (P)	Control (C)
aFXa ng/mL	98 ± 65	338 ± 163	-----
LT m	4,2 ± 1,1	7,0 ± 4,1	3,1 ± 1,3
ETP nM/m	1109 ± 211	846 ± 215	1365 ± 125
Peak nM	145 ± 80	84 ± 32	232 ± 101
ttP m	8,3 ± 2	9 ± 2,1	6,2 ± 2,1

Tabla 4. Parámetros de GT en valle y pico en pacientes en tratamiento con 2.5 mg de Apixaban

Apixabán 2.5 mg BID	Valle (V)	Pico (P)	Control (C)
aFXa ng/mL	102 ± 74	182 ± 117	-----
LT m	6,1 ± 1,9	5,9 ± 1,3	3,1 ± 1,3
ETP nM/m	1025 ± 228	984 ± 324	1365 ± 125
Peak nM	127 ± 40	94 ± 51	232 ± 101
ttP m	8,9 ± 2	9,1 ± 2	6,2 ± 2,1

Conclusiones

Estos nuevos agentes son un desafío para bioquímicos y médicos. Aún no se ha establecido un ensayo de control universal, y día a día nos enfrentamos con

la necesidad de contar con metodología rápida y accesible en todos los laboratorios clínicos. La experiencia clínica de la vida real muestra que no todos

los pacientes responden de la misma manera a estos anticoagulantes, observándose una elevada variabilidad interindividual, ya sea por insuficiencia renal o hepática, interferencias con fármacos, olvido de la toma de alguna dosis o duplicación involuntaria de la misma, entre otras causas que pueden poner en riesgo al paciente. Permanece el debate sobre si debemos monitorear o no estas drogas, pero no debemos confundir el concepto de “medir” los DOACs con el de “monitorear”, éste último implica ajuste de dosis y actualmente hay poca evidencia que avale esta práctica en base a los ensayos de laboratorio. Se necesitan más estudios que permitan establecer el rango terapéutico de estos DOACs con ensayos debidamente validados que permitan predecir el riesgo de trombosis o de sangrado.

Declaración de conflictos de interés:

La autora declara que no posee conflictos de interés.

Bibliografía

1. Dale BJ, Chan NC, Eikelboom JW. Laboratory measurement of the direct oral anticoagulants. *Br J Haematol.* 2016;172(03):315-336.
2. Mueck W, Stampfuss J, Kubitzka D, Becka M. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rivaroxaban. *Clin Pharmacokinet.* 2014 Jan;53(1):1-16.
3. Ogata K, Mendell J, Tachibana M et al. Clinical safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of the novel factor Xa inhibitor edoxaban in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2010;50(07):743-753.
4. Gosselin R, Adcock D, Bates S, Douxfils J, Favaloro EJ et al. International Council for standardization in Haematology (ICSH) Recommendations for Laboratory Measurement of Direct Oral Anticoagulants. *Thromb Haemost.* 2018 Mar;118 (3):437-450.
5. Douxfils J, Mullier F, Robert S, Chatelain C, Chatelain B, Dogné JM. Impact of dabigatran on a large panel of routine or specific coagulation assays. Laboratory recommendations for monitoring of dabigatran etexilate. *Thromb Haemost.* 2012;107:985-97.
6. Tripodi A. Results expression for tests used to measure the anti-coagulant effect of new oral anticoagulants *Thromb J.* 2013 Jun 28;11(1):9.
7. Schellings MW, Boonen K, Schmitz EM, Jonkers F, van den Heuvel DJ, Besselaar A et al. Determination of dabigatran and rivaroxaban by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and coagulation assays after major orthopaedic surgery. *Thromb Res.* 2016;139:128-34.
8. Dias JD, Norem K, Doorneweerd DD, Thurer RL et al. Use of thromboelastography (TEG) for detection of new oral anticoagulants. *Arch Pathol Lab Med.* 2015;139(05):665-673.
9. Harenberg J, Du S, Wehling M et al. Measurement of dabigatran, rivaroxaban and apixaban in samples of plasma, serum and urine, under real life condition. An international study. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54(02):275-283.
10. Herrera MDL, Pons S, Grinspon A, Aguirre S, Monserrat V, Brodsky A, Scazzioia AS. Thrombin Generation in Real-world Patients Treated with Two Different Doses of Apixaban. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis.* 2018.(2), Issue S1.