

Antitrombotična zdravila pri starostnikih

Antithrombotic drugs in the elderly

Danijel Kikelj

POVZETEK: V članku so predstavljene antitrombotične učinkovine – antikoagulant, antiagregatorne učinkovine in fibrinolitiki s poudarkom na njihovi uporabi za preprečevanje in zdravljenje tromboemboličnih zapletov pri starostnikih.

Ključne besede: antitrombotiki, antikoagulant, antiagregatorne učinkovine, fibrinolitiki, inhibitorji trombina, starostniki

ABSTRACT: An overview of antithrombotic drugs comprising anticoagulants, antiplatelet agents and fibrinolytic drugs is presented with emphasis on their application for prevention and treatment of thromboembolic diseases in the elderly.

Keywords: antithrombotics, anticoagulants, antiplatelet agents, fibrinolytic drugs, thrombin inhibitors, elderly patients

1 Uvod

Hemostaza je kompleksen za življenje neobhodno potreben proces, ki vodi do zaustavitve krvavitve pri poškodbi žilne stene. Hemostaza vključuje adhezijo in aktivacijo krvnih ploščic ter koagulacijo krvi. Tromboza je v nasprotju s hemostazo patološki proces, pri katerem pride do aktivacije hemostaznih mehanizmov v odsotnosti krvavitve. Venska tromboza je pogosto povezana z zastajanjem krvi v venah. Trombusi, ki nastanejo v venah, imajo veliko vsebnost fibrina in majhno vsebnost krvnih ploščic. Vzrok arterijske tromboze je pogosto ateroskleroza in arterijski trombusi imajo veliko vsebnost krvnih ploščic. Trombus, ki se odtrga od žilne stene, potuje s krvjo kot embolus in lahko na svoji poti zamaši tanjše žile v srcu in možganih ter tako povzroči srčni infarkt in možgansko kap. Medtem ko je v proces hemostaze potrebno le redko posegati, sta preprečevanje in zdravljenje tromboze ter njenih posledic kot so npr. možganska kap, infarkt miokarda in pljučni embolizem terapevtsko zelo pomembna [1].

S staranjem dramatično poraste pojavnost trombotičnih zapletov zaradi povečanja koncentracije fibrinogena, faktorjev VIII in IX ter drugih koagulacijskih proteinov v primerjavi z antikoagulacijskimi faktorji v krvi. K povečani pojavnosti trombotičnih obolenj v starosti prispevajo tudi povečana aktivnost trombocitov, povečanje koncentracije interleukina-6 in C-reaktivnega proteina ter spremembe v steni žil. Tudi debelost je v starosti pogost protrombotični dejavnik, ker je adipozno tkivo pomemben izvor inflamatornih citokinov in inhibitorja aktivatorja plazminogena [2].

Možganska kap in infarkt miokarda sta pogost vzrok smrti pri starostnikih. Možganska kap je po pogostosti tretji vzrok smrti v razvitih državah. Pojavnost možganske kapi raste eksponentno s starostjo in doleti pri starosti nad 85 let 300 izmed 100.000 oseb na leto. Čeprav tretjino možganskih kapi doživijo osebe mlajše od 65 let, je pri osebah nad 65 let starosti skoraj 90% smrti zaradi možganske kapi [3]. Tudi pojavnost venske tromboembolije je najpogostejša pri osebah stare-

jših od 65 let. Preprečevanje in zdravljenje venske tromboze [4] in možganske kapi [5-7] je zaradi pogostosti pri starostnikih še posebej aktualno, uporaba antitrombotičnih zdravil pri starostnikih pa je razdelana v številnih smernicah [8-10].

V tem prispevku bom podal pregled obstoječih antitrombotičnih učinkovin in nekaterih antitrombotičnih učinkovin v razvoju s posebnim poudarkom na njihovi uporabi pri starostnikih.

2 Antitrombotične učinkovine

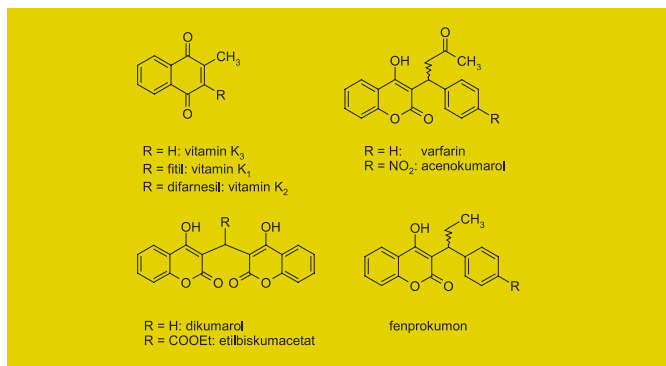
Antitrombotične učinkovine, ki jih uporabljamo za preprečevanje in zdravljenje tromboemboličnih zapletov obsegajo (i) antikoagulate, ki preprečujejo pretvorbo fibrinogena v fibrin, (ii) antiagregatorne učinkovine, ki preprečujejo aktivacijo in agregacijo trombocitov in (iii) fibrinolitike, ki razgrajujejo fibrinske strdke.

2.1 Antikoagulant

Antikoagulant so učinkovine, ki preprečujejo pretvorbo topnega fibrinogena v netopni fibrin in tako preprečujejo strjevanje krvi. Ločimo (i) indirektno antikoagulate, ki zavirajo biosintezo koagulacijskih faktorjev in (ii) direktne antikoagulate, ki zavirajo encimsko delovanje koagulacijskih faktorjev.

2.1.1 Antagonisti vitamina K

Indirektno antikoagulate predstavljajo kumarini z glavnimi predstavniki varfarinom, acenokumarolom, fenprokumonom in etilbiskumacetatom. Kumarini so antagonisti vitamina K, ki zaradi strukturne podobnosti z njim preprečujejo posttranslacijsko γ -karboksilacijo glutaminske kisline koagulacijskih faktorjev II, VII, IX in X z zaviranjem encima vitamin K-epoksid-reduktaze, ki vrši redukcijo vitamina K do ustreznega hidrokinona, kateri je potreben kot kofaktor pri γ -karboksilaciji glutaminske kisline [11]. Delovanje kumarinov nastopi šele po nekaj dnevih, ko pade koncentracija v krvi že prisotnih koagulacijskih



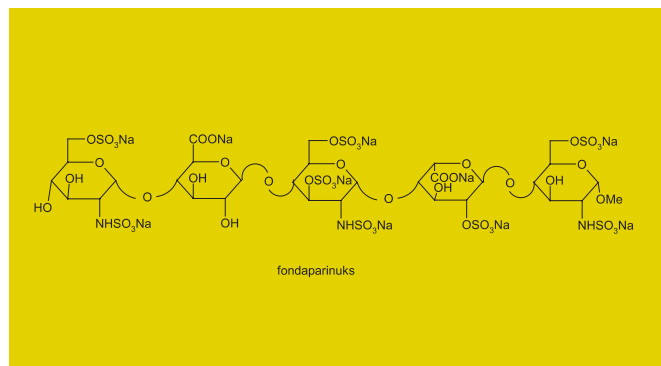
faktorjev pod kritično mejo. Kljub prednosti, ki jo predstavlja možnost peroralne aplikacije, je terapija z antagonistom vitamina K zahtevna, saj je potrebno skrbno nadzorovanje protrombinskega časa, da ne pride do krvavitev. Interakcije antagonistov vitamina K s številnimi učinkovinami, ki se npr. vežejo na plazemske beljakovine ali inducirajo jetrne encime, predstavljajo nadaljnje probleme pri njihovi terapevtski uporabi. Pri starejših pacientih je učinek antagonistov vitamina K močnejši tako v zgodnji indukcijski fazi kot tekom dolgotrajnega zdravljenja, pri njih pa so pogost neželeni učinek tudi krvavitve, zato zahteva uporaba peroralnih antikoagulantov pri starostnikih posebno pozornost [12-14].

2.1.2 Heparini

Med telesu lastne direktne antikoagulate prištevamo heparin [1]. Nefrakcioniran heparin predstavlja skupino sulfatiranih mukopolisaharidov z molekularno maso 6000 do 30000, ki so prisotni v mastocitih skupaj s histaminom. Zaradi številnih karboksilnih in sulfatnih skupin v molekuli je heparin ena najmočnejših kislin v človeškem organizmu. Pridobivajo ga z ekstrakcijo iz govejih pljuč ali mukoze svinjskega črevesa. Nizkomolekularni heparini z molekularno maso 4000 do 6000, ki jih dobijo s hidrolizo tako dobljenega nefrakcioniranega heparina, postopoma izpodrivajo naravni heparin.

Heparin zavira koagulacijo tako *in vivo* kot tudi *in vitro* z aktivacijo antitrombina III, ki z vezavo v aktivno mesto trombina in drugih serinskih proteinaz inhibira njihovo encimsko aktivnost. Heparin se veže na antitrombin III s svojim značilnim pentasaharidnim fragmentom, kar povzroči spremembo konformacije antitrombina in posledično povečanje njegove afinitete do aktivnega mesta trombina. Za inhibicijo trombina z antitrombinom III je potrebna tvorba kompleksa heparina z antitrombinom in trombinom, medtem ko je za inhibicijo faktorja Xa zadostna samo tvorba kompleksa heparina z antitrombinom III. Nizkomolekularni heparini povečajo inhibitorno delovanje antitrombina III samo na faktor Xa, ne pa tudi na trombin, ker so njihove molekule premajhne, da bi se lahko istočasno vezale na antitrombin III in trombin [15-17].

Ker vsebuje heparin številne ionizirane skupine, se ne absorbira iz prebavil, zato ga je potrebno aplicirati intravensko ali subkutano. Po intravenski aplikaciji delovanje nastopi takoj, po subkutani aplikaciji učinek nastopi po eni uri. Razpolovni čas intravensko apliciranega heparina je od 40 do 90 minut. Nizkomolekularne heparine apliciramo subkutano in imajo dajši razpolovni čas ter bolj predvidljivo farmakokinetiko, zato zadošča aplikacija enkrat do dvakrat dnevno, pacienti pa si nizkomolekularne heparine lahko aplicirajo sami [1, 16]. Zdravljenje s heparinom je zaradi nevarnosti povzročanja krvavitev



treba spremljati s koagulacijskimi preiskavami, npr. merjenjem aktiviranega parcialnega tromboplastinskega časa. Inaktivacijo heparina povzroči njegov antagonist *protamin* – močno bazičen protein, ki s heparinom tvori neaktiven kompleks. Protaminijev sulfat v nekaterih primerih uporabljajo za preprečevanje s heparinom povzročenih krvavitev. Drugi resni neželeni učinek heparinov je trombocitopenija, ki lahko preko poškodbe žilne stene, ki jo povzročajo protitelesa proti kompleksu heparina s trombocitnim faktorjem 4, vodi do tromboze. S heparinom povzročena trombocitopenija in tromboza sta lahko smrtno nevarni komplikaciji pri zdravljenju s heparini. Pojavljata se lahko pri bolnikih vseh starosti, vendar sta najbolj pogosti pri starostnikih, ker je pri njih uporaba heparina pogostejša kot pri ostali populaciji [18]. V letu 2002 je bil v terapijo uveden nov sintezni direkti antikoagulant fondaparinux - pentasaharid, ki z vezavo na antitrombin III povzroči selektivno inhibicijo faktorja Xa. Uporablja se za profilakso in zdravljenje globoke venske tromboze in tromboemboličnih dogodkov ter za preprečevanje tromboze pri operaciji kolka in kolena [19].

2.1.3 Inhibitorji trombina

Trombin je osrednji encim koagulacijske kaskade, ki nastane iz protrombina pod vplivom serinske proteinaze faktorja Xa. Trombin katalizira pretvorbo vodotopnega fibrinogena v netopni fibrin s cepitvijo peptidne vezi med argininom in glicinom v aminokislinskem zaporedju Gly-Val-Arg-Gly-Pro-Arg. Nastali fibrin tvori mehansko ogrodje krvnega strdka. Trombin cepi tudi koagulacijske faktorje V, VIII in XIII ter aktivira trombocitni trombinski receptor, zaradi česar je močan stimulant agregacije trombocitov [20].

Pred petnajstimi leti objavljena kristalna struktura humanega trombina [21, 22] je omogočila strukturno podprto načrtovanje inhibitorjev trombina, rezultat katerega je več sto selektivnih inhibitorjev trombina, ki so večinoma peptidomimetične spojine, ki oponašajo aminokislinsko zaporedje fibrinogena, ki se umešča v aktivno mesto trombina.

Hirudin je polipeptid iz 65 aminokislin, izoliran iz pijavke *Hirudo medicinalis* z antikoagulantnim delovanjem, ki izredno močno inhibira trombin (K_i = 20 fM) s tvorbo nekovalentnega kompleksa. C-terminalni del hirudina se veže na vezavno mesto za fibrinogen, N-terminalni del hirudina pa prekrije aktivno mesto trombina [23, 24]. V naravnem hirudinu je aminokislina tirozin v C-terminalnem delu sulfatirana, kar pa ni slučaj v rekombinantnih hirudinih *lepirudinu* [25] in *desirudinu* [26], ki so zato nekoliko slabši inhibitorji trombina.

Hirulogi so bivalentni peptidni inhibitorji trombina, ki so bili načrtovani kot kombinirani inhibitorji, ki se vežejo v aktivno mesto in v vezavno

mesto za fibrinogen. *Bivalirudin* je prvi hirulog, ki je bil uveden v terapijo decembra 2002 kot antikoagulant pri transluminalni koronarni angioplastiki [28]. *Bivalirudin* je polipeptid sestavljen iz 20 aminokislin, ki predstavljajo inhibitor aktivnega mesta trombina D-Phe-Pro-Arg povezan preko verige Pro-(Gly)₄ z dodekapeptidnim analogom C-terminalnega dela hirudina. V *bivalirudinu* je cepljiva vez Arg-Gly zamenjana z vezjo Arg-Pro, ki jo trombin cepi bistveno počasneje. Zaradi njegove peptidne narave je treba *bivalirudin* aplicirati parenteralno [29].

Argatroban je močan inhibitor trombina s 40 nM konstanto inhibicije, ki je bil načrtovan in razvit pred objavo kristalne strukture trombina s postopno modifikacijo spojine vodnice N α -tozil-L-arginina [30]. Rentgenska struktura kompleksa *argatrobana* s humanim trombinom [22] je pokazala, da se piperidinski obroč *argatrobana* veže v S2 žep in je skoraj paralelen arilsulfonamidni skupini v distalnem žepu aktivnega mesta, medtem ko se gvanidinska skupina veže v S1 žep, kjer tvori vodikovo vez z Asp189. *Argatroban* je bil leta 1990 registriran na Japonskem za zdravljenje perifernih tromboz, junija 2000 pa ga je FDA registrirala kot antikoagulant za zdravljenje tromboze pri pacientih s trombocitopenijo povzročeno s heparinom. Aprila 2002 je bil registriran za uporabo pri perkutani koronarni intervenciji pri pacientih s tveganjem za trombocitopenijo povzročeno s heparinom. Zaradi prisotnosti močno bazične gvanidinske skupine (pKa = 13), ki preprečuje absorpcijo iz gastrointestinalnega trakta, je treba *argatroban* aplicirati parenteralno [31].

Ksimelagatran je bil registriran decembra 2003 v Franciji kot prvi peroralni inhibitor trombina z antikoagulantnim delovanjem in predstavlja 50 let po uvedbi varfarina prvi peroralni antikoagulant z novim mehanizmom delovanja. Maja 2004 je *ksimelagatran* uspešno zaključil registracijski postopek medsebojnega priznavanja v Evropi za preprečevanje tromboemboličnih dogodkov pri ortopedskih operacijah kolka in kolena, v ZDA pa FDA registracijo *ksimelagatrana* kot peroralnega antikoagulanta zaenkrat še ni odobrila. *Ksimelagatran* je dvojno predzdravilo nizkomolekularnega nekovalentnega inhibitorja trombina *melagatrana*, ki izkazuje slabo biološko uporabnost po peroralni aplikaciji [32, 33]. *Melagatran* je tripeptidomimetični inhibitor trombina, ki oponaša aminokislinsko zaporedje D-Phe-Pro-Arg, ki je služilo kot spojina vodnica za številne peptidomimetične inhibitorje trombina [34]. *Melagatran* vsebuje benzamidinski mimetik stranske

verige arginina in azetidin-2-karboksilno kislino kot mimetik prolina. Nenaravna aminokislina D-cikloheksilglicin oponaša D-fenilalanin, ki se veže v S₃ žep encima. Način vezave *melagatrana* v aktivno mesto trombina so študirali z rentgensko kristalografijo [35]. Nedavna raziskava je pokazala, da ni bilo starostnih razlik v absorpciji in biotransformaciji *ksimelagatrana*. Hitrejše renalno izločanje *ksimelagatrana* pri mlajših je posledica razlike v delovanju ledvic pri mlajši populaciji in starostnikih [36]. Direktni inhibitorji trombina se uporabljajo tudi za zdravljenje s heparinom povzročene trombocitopenije pri starostnikih [18].

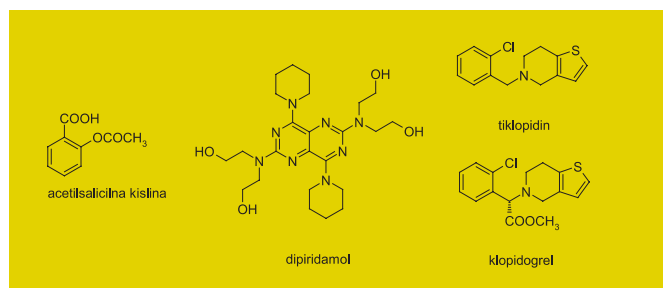
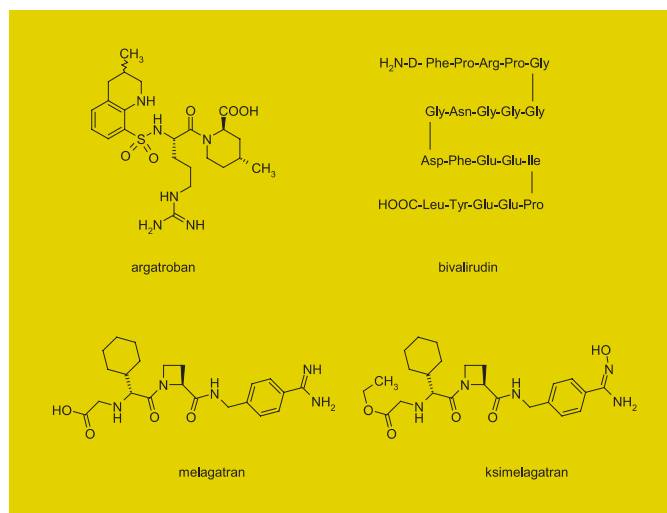
2.2 Zaviralci agregacije trombocitov

Trombociti igrajo pomembno vlogo v procesu hemostaze. Njihova aktivacija sproži zaporedje reakcij, ki imajo za posledico (i) spremembo oblike trombocitov, (ii) izločanje adenosin difosfata (ADP), serotonina in rastnih faktorjev, (iii) biosintezo mediatorjev, (iv) izpostavitve fosfolipidov na površini, ki povzroči tvorbo trombina in nadaljnjo aktivacijo trombocitov in (v) agregacijo trombocitov. Agregacijo trombocitov stimulirajo številni agonisti kot kolagen, trombin, ADP in tromboksan A₂, ki sprožijo ekspresijo glikoproteinskih IIb/IIIa (GP IIb/IIIa) receptorjev na površini trombocitov. Integrinski GP IIb/IIIa receptorji vežejo fibrinogen preko ionske interakcije z RGD aminokislinskimi zaporedjem fibrinogena. Našteti biokemijski mehanizmi so tarče učinkovin, ki zavirajo agregacijo trombocitov [1].

2.2.1 Acetilsalicilna kislina, dipiridamol, tiklopidin in klopidogrel

Acetilsalicilna kislina kot inhibitor ciklooksigenaze učinkovito zavre biosintezo tromboksana A₂ (TXA₂) v trombocitih. Trombociti ne morejo sintetizirati nove ciklooksigenaze, zato traja zaviralni učinek acetilsalicilne kisline na aktivacijo trombocitov s TXA₂ toliko časa, dokler se v krvi ne pojavijo novi trombociti (7-10 dni). Dnevna doza 160 mg acetilsalicilne kisline lahko popolnoma zavre trombocitno ciklooksigenazo [1]. Nobenih dokazov ni, ki bi govorili o različnem delovanju acetilsalicilne kisline na agregacijo trombocitov pri starostnikih, zato je koristnost uporabe acetilsalicilne kisline za preprečevanje ishemičnih žilnih zapletov pri starostnikih v sekundarni prevenciji enaka ali večja od koristi pri mlajši populaciji. V primarni prevenciji je pri uporabi acetilsalicilne kisline treba upoštevati razmerje med koristnostjo in tveganjem krvavitve, ki je pri starostnikih večje kot pri mlajši populaciji [37].

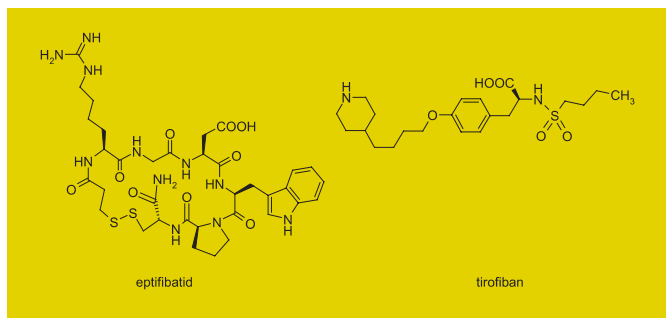
Dipiridamol spreminja normalno funkcijo trombocitov preko zviševanja koncentracije cikličnega adenosinmonofosfata z inhibicijo fosfodiesteraze. Za preprečevanje tromboze se uporablja običajno v kombinaciji z acetilsalicilno kislino [1]. *Tiklopidin* in *klopidogrel* sta tienopiridina, ki po metabolični aktivaciji delujeta kot antagonist



P2Y₁₂ podtipa receptorja za ADP in tako preprečujeta aktivacijo trombocitov [38]. Uporabljata se za prepečevanje tromboze pri cerebrovaskularni in koronarni arterijski bolezni pri bolnikih, ki ne prenašajo acetilsalicilne kisline. Preprečevanje trombotičnih zapletov z acetilsalicilno kislino, tiklopidinom in klopidogrelom pri starostnikih je predmet nedavno objavljenega preglednega članka [39].

2.2.2 Antagonisti fibrinogeneskega receptorja

Antagonisti glikoproteinskega IIb/IIIa receptorja, ki se nahaja na trombocitih in z ionsko interakcijo veže RGD aminokislinsko zaporedje fibrinogena, zavirajo agregacijo trombocitov neodvisno od načina aktivacije. V zadnjih desetih letih so bili sintetizirani številni mimetiki zaporedja Arg-Gly-Asp (RGD) kot potencialni antagonisti fibrinogeneskega receptorja, od katerih sta bila v terapijo uvedena *tirofiban* in ciklični heksapaptid *eptifibatid* kot intravensko uporabna zaviralca agregacije [40]. Peroralnih antagonistov fibrinogeneskega receptorja ni na trgu, ker klinična testiranja niso opravičila njihove terapevtske uporabnosti [41]. *Abciximab* je hibridno mišje/človeško monoklono protitelo proti GPIIb/IIIa receptorju, ki se poleg heparina in acetilsalicilne kisline uporablja pri rizičnih pacientih med koronarno angioplastiko. Tudi izkušnje z uporabo antagonistov fibrinogeneskega receptorja pri starostnikih so dobro dokumentirane [39, 42].



2.3 Fibrinolitiki

Doslej omenjeni antikoagulantni in zaviralci agregacije trombocitov preprečujejo nastajanje trombusov. Če pa je do nastanka krvnega strka v obtočilih že prišlo, uporabljamo za njegovo razgradnjo trombolitične učinkovine. Ob aktivaciji koagulacijske kaskade se aktivira tudi fibrinolitični sistem preko delovanja endogenih aktivatorjev plazminogena kot so tkivni aktivator plazminogena (tPA), urokinazni aktivator plazminogena (uPA) ter kalikrein in elastaza. Aktivatorji plazminogena so serinske proteinaze, ki plazminogen vezan na fibrinskih nitih v trombusu pretvorijo v plazmin. Plazmin cepi peptidne vezi med aminokislinama arginin in lizin in tako razgrajuje ne samo fibrin in fibrinogen ampak tudi koagulacijske faktorje II (trombin), VII in VIII ter tako povzroči razgradnjo krvnega strdka. Plazmin je aktiven samo v krvnem strdku, v cirkulaciji ga hitro razgradijo inhibitorji plazmina [1].

Streptokinaza je protein izoliran iz kultur beta hemolitičnega streptokoka C, ki v kompleksu z proaktivatorjem plazminogena pretvarja plazminogen v plazmin. Uporabnost streptokinaze za razgradnjo strdkov pri arterijski in venski trombozi, pljučnem embolizmu in miokardnem infarktu omejujeta zelo kratek razpolovni čas (manj od 30 minut) in

preobčutljivostne reakcije, ki so posledica predhodnih streptokoknih infekcij. *Anistreplaza* je predzdravilo kompleksa streptokinaze in plazminogena, ki nima fibrinolitične aktivnosti zato ker je lizin v aktivnem mestu plazminogena aciliran. Šele po vezavi kompleksa na fibrinogen se odcepi na lizin vezana anizolna skupina s hidrolizo in tako se plazminogen reaktivira. S tem pristopom je dosežena selektivnost delovanja anistreplaze v krvnem strdku. *Alteplaza*, *duteplaza* in *reteplaza* so rekombinantni tkivni aktivatorji plazminogena z visoko afiniteto za plazminogen vezan na fibrin v krvnem strdku, ki se uporabljajo pri bolnikih s protitelesi na streptokinazo. V visokih dozah je njihova selektivnost manjša, zato lahko pride do aktivacije prostega plazminogena in posledično do krvavitev. *Urokinaza* je trombolitična proteinska učinkovina z zelo kratkim razpolovnim časom (manj kot 15 minut), ki pretvarja plazminogen v plazmin. Dobljena je iz humanih neonatalnih ledvičnih celic gojenih v tkivni kulturi. Zaradi izvora človeški organizem ne zazna urokinaze kot tuj protein, zato urokinaza nima antigenskih lastnosti [1,5]. Uporaba trombolitičnih učinkovin je pomembna sestavina reperfuzijske terapije po akutnem infarktu miokarda pri starostnikih [43].

3 Sklep

Poleg predstavljenih antitrombotičnih učinkovin, ki se danes uporabljajo v terapiji, in predstavljajo pomembno skupino zdravil za zdravljenje starostnikov, lahko v prihodnosti pričakujemo uvedbo novih antitrombotičnih učinkovin kot rezultat intenzivnih raziskav novih inhibitorjev trombina [44], faktorja Xa [45], faktorja VIIa [46] in drugih koagulacijskih faktorjev [47, 48], antiagregatornih učinkovin [49] dualnih inhibitorjev koagulacijskih encimov [50] in antitrombotičnih učinkovin z dvojnimi mehanizmi delovanja [51] ter raziskav novih tarč za antitrombotične učinkovine [52].

4 Literatura

- (a) Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology - Fifth Edition. Churchill Livingstone, 2003: 314-329. (b) Palmer RB. Antithrombotics, thrombolytics, coagulants and plasma extenders. In: Williams DA, Lemke TL. Foye's Principles of Medicinal Chemistry -Fifth Edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2002: 604-628.
- Wilkerson WR, Sane DC. Aging and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2002; 28: 555-567.
- Bonita R. Epidemiology of stroke. *Lancet* 1992; 339: 342-344.
- DiMinno G, Tufano A. Challenges in the prevention of venous thromboembolism in the elderly. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1292-1298.
- Barnett, H J M. Stroke prevention in the elderly. *Clin Exper Hypert* 2002; 24: 563-571.
- Muir KW, Roberts M. Thrombolytic therapy for stroke - A review with particular reference to elderly patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 41-54.
- Fagan SC. Stroke prevention in the elderly. *The Consultant Pharmacist* 2003; 18: Suppl. A, 10-13.
- Di Minno G, Tufano A, Cerbone AM. Antithrombotic drugs for older subjects - Guidelines formulated jointly by the Italian Societies of Haemostasis and Thrombosis (SISSET) and of Gerontology and Geriatrics (SIGG). *Nutr Metabol Cardiovasc Dis* 2001; 11: 41-62.
- Haemostasis and thrombosis task force for the British committee for standards in haematology. Guidelines on oral anticoagulation: third edition. *Br J Haematol* 1998; 101: 374-87.

10. Dalen JE, Hirsh J. Fifth ACCP consensus conference on antithrombotic therapy. *Chest* 1998; 114 (5 Suppl.): 439s-769s.
11. Whitton DS, Sadowski JA, Suttie JW. Mechanisms of coumarin action: significance of vitamin K epoxide inhibition. *Biochemistry* 1978; 17:1371-1377.
12. Ansell J, Hirsh J, Poller, L, Bussey H, Jacobson A, Hylek E. The Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. *Chest* 2004; 126: 204S-233S.
13. Sebastian JL, Tresch DD. Use of oral anticoagulants in older patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 409-435.
14. Debray M, Pautas E, Couturier P, Franco A, Siguret V. Oral anticoagulants in the elderly. *Rev Méd Interne* 2003; 24: 107-117
15. Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001; 119 (Suppl. 1), S64-S94 (2001).
16. Pineo GF, Hull RD. Low-molecular-weight heparin for the treatment of venous thromboembolism in the elderly. *Clin Appl Thromb Hemost* 2005; 11: 15-23.
17. Desai UR. New antithrombin based anticoagulants. *Med Res Rev* 2004; 24: 151-181.
18. Tardy-Poncet B, Tardy B. Heparin-induced thrombocytopenia - Minimising the risks in the elderly patient. *Drugs & Aging* 2000; 16: 351-364.
19. Petitou M, van Boeckel CAA. A synthetic antithrombin III binding pentasaccharide is now a drug! What comes next? *Angew Chem Int Ed* 2004; 43: 3118-3133.
20. Kimball SD. Thrombin active site inhibitors. *Curr Pharm Design* 1995; 1: 441-468.
21. Bode W, Mayr I, Baumann U, Huber R, Stone SR, Hofsteenge J. The refined 1.9 Å crystal structure of human alpha-thrombin: interaction with D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone and significance of the Tyr-Pro-Trp insertion segment. *EMBO J* 1989; 8: 3467-3475.
22. Banner DW, Hadvary P: Crystallographic analysis at 3.0 Å resolution of the binding to human thrombin of four active site-directed inhibitors. *J Biol Chem* 1991; 266: 20085-20093.
23. Salzet M. Leech thrombin inhibitors. *Curr Pharm Design* 2002; 8: 493-503.
24. Rydel TJ, Tulinsky A, Bode W, Huber R. Refined structure of the hirudin - thrombin complex. *J Mol Biol* 1991; 221: 583-601.
25. Greinacher A, Lubenow N. Recombinant hirudin in clinical practice: focus on lepirudin. *Circulation* 2001; 10: 1479-1484.
26. Matheson AJ, Goa KL. Desirudin - a review of its use in the management of thrombotic disorders. *Drugs* 2000; 60: 679-700.
27. Böhm HJ, Klebe G, Kubinyi H. Wirkstoffdesign. Spektrum, 1996: 560-565.
28. <http://www.fda.gov/cder/foi/label/2000/208731bl.pdf>
29. Gladwell TD. Bivalirudin: A direct thrombin inhibitor. *Clin Therapeutics* 2002; 24: 38-58.
30. Hijikata Okunomiya A, Okamoto S. A strategy for a rational approach to designing synthetic selective inhibitors. *Semin Thromb Hemost* 1992; 18: 135-149.
31. Walenga JM. An overview of the direct thrombin inhibitor argatroban. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002; 32 (Suppl 3): 9-14.
32. Crowther MA, Weitz JI. Ximelagatran: the first oral direct thrombin inhibitor. *Expert Opin Inv Drugs* 2004; 13: 403-413.
33. Bergsrud EA, Gandhi PJ: A review of the clinical uses of ximelagatran in thrombosis syndromes. *J Thromb Thrombolys* 2004; 16: 175-188.
34. Rewinkel JBM, Adang AEP. Strategies and progress towards the ideal orally active thrombin inhibitor. *Curr Pharm Design* 1999; 5: 1043-1075.
35. Dullweber F, Stubbs MT, Musil D, Stürzebecher J, Klebe G. Factorising ligand and affinity: A combined thermodynamic and crystallographic study of trypsin and thrombin inhibition. *J Mol Biol* 2001; 313: 593- 614.
36. Johansson LC, Frison L, Logren U, Fager G, Gustafsson D, Eriksson UG. Influence of age on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of ximelagatran, an oral direct thrombin inhibitor. *Clin Pharmacokinet* 2003; 42: 381-392.
37. Mah' e I, Leizorovicz A, Caulin C, Bergmann J-F. Aspirin for the prevention of cardiovascular events in the elderly. *Drugs & Aging* 2003; 20: 999-1010.
38. Kunapuli SP, Ding Z, Dorsam RT, Kim S, Murugappan S, Quinton TM. ADP receptors - targets for developing antithrombotic agents. *Curr Pharm Design* 2003; 9: 2303-2316.
39. Calverley DC. Antiplatelet therapy in the elderly - Aspirin, ticlopidine-clopidogrel, and GPIIb/GPIIIa antagonists. *Clinics in Geriatric Medicine* 2001;17: 31-45.
40. Andronati SA, Karaseva TL, Krysko AA. Peptidomimetics -Antagonists of the fibrinogen receptor: Molecular design, structures, properties and therapeutic applications. *Curr Med Chem* 2004; 11: 1183-1211.
41. Cox D. Oral GPIIb/IIIa antagonists: What went wrong? *Curr Pharm Design* 2004; 10: 1587-1596.
42. Mak K-H, Efron MB, Moliterno DJ. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists and their use in elderly patients. *Drugs & Aging* 2000; 16: 179-187.
43. Angeja BG, Gibson CM, Chin R, Canto JG, Barron HV. Use of reperfusion therapies in elderly patients with acute myocardial infarction. *Drugs & Aging* 2001; 18: 587-596.
44. Steinmetzer T, Sturzebecher T. Progress in the development of synthetic thrombin inhibitors as new orally active anticoagulants. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2297-2321.
45. Gould WR, Leadley RJ. Recent advances in the discovery and development of direct coagulation Factor Xa inhibitors. *Curr Pharm. Design* 2003; 9: 2337-2347.
46. Lazarus RA, Olivero AG, Eigenbrot C, Kirchofer D. Inhibitors of tissue factor-Factor VIIa for anticoagulant therapy. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2275-2290.
47. Sherin AM, Babine RE, Deng H, Jin L, Lin J, Magee S, Meyers HV, Pandey P, Rynkiewicz MJ, Weaver DT. Compounds and methods for treatment of thrombosis. WO20004089297 (2004).
48. Tam TF, Karimian K, Leung-Toung RCSI, Zhao Y, Wodzinska JM, Li W, Lowrie JN: Sulfonamide derivatives of 3-substituted imidazo[1,2-D]-1,2,4-thiadiazoles and 3-substituted-[1,2,4]thiadiazolo[4,5-A]benzimidazole as inhibitors of fibrin cross-linking and transglutaminases. EP1348710 (2003).
49. Ulrichs H, Vanhoorelbeke K, Van de Walle G et al. New approaches for antithrombotic antiplatelet therapies. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2261-2273.
50. Kranjc A, Kikelj D. Dual inhibitors of the blood coagulation cascade. *Curr Med Chem* 2004; 11: 2535-2547.
51. Štefanič Anderluh P, Anderluh M, Ilaš J, Mravljak J, Sollner Dolenc M, Stegnar M, Kikelj D. Toward a novel class of antithrombotic compounds with dual function. Discovery of 1,4-benzoxazin-3(4H)-one derivatives possessing thrombin inhibitory and fibrinogen receptor antagonistic activities. *J Med Chem* 2005; 48: 3110-3113.
52. Gruber A, Hanson SR. Potential new targets for antithrombotic therapy. *Curr Pharm Design* 2003; 9: 2367-2374.