

*Medicinska edukacija/*  
*Medical education*

ANTIKOAGULANTNA TERAPIJA  
KUMARINIMA I LABORATORIJSKA  
KONTROLA

**Correspondence to:**

Mr. ph spec. Bioh.  
**Vesna Vuković-Dejanović,**  
Institut za rehabilitaciju  
Beograd, Sokobanjska 17  
00 381 (0)64/2137616,

E-mail: vdvesna@gmail.com

COUMARIN ANTICOAGULANT THERAPY  
AND LABORATORY CONTROL

Vesna D. Vuković-Dejanović<sup>1</sup>, Bratislav B. Dejanović<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut za rehabilitaciju, Beograd, Srbija <sup>2</sup>Vojno-medicinski centar  
"Karaburma", Beograd, Srbija

*Abstract*

*Key words*

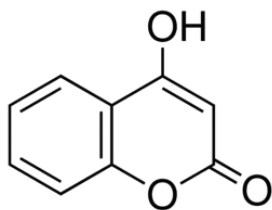
oral anticoagulants, warfarin, pro-  
thrombin time

*Ključne reči*

oralni antikoagulansi, varfarin, pro-  
trombinsko vreme

Oralni antikoagulansi su najšire korišćeni lekovi u terapiji pacijenata sa različitim kardiovaskularnim poremećajima, posebno kada su praćeni tromboembolijom. U kliničkoj upotrebi su derivati 4-hidroksikumarina. Kumarini svoj antikoagulantni efekat ostvaruju inhibicijom hepatične posttranslacione modifikacije četiri vitamin K-zavisna faktora koagulacije: protrombina i faktora VII, IX i X. Prisustvo funkcionalno neaktivnih faktora koagulacije u plazmi usporava koagulaciju i izaziva hipokoagulabilnost krvi. Pored toga, kumarini inhibiraju i posttranslacionu modifikaciju prirodnih inhibitora koagulacije: proteina C i proteina S. Test koji se rutinski upotrebljava za kontrolu oralne antikoagulantne terapije je protrombinsko vreme.

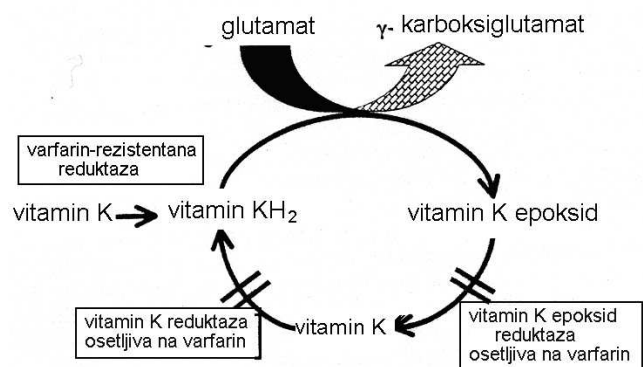
Oralni antikoagulansi su najšire korišćeni lekovi u terapiji pacijenata sa različitim kardiovaskularnim poremećajima, posebno kada su praćeni tromboembolijom. Preparati koji su u kliničkoj upotrebi su derivati 4-hidroksikumarina.



Slika 1. 4-hidroksikumarin

Kumarini ispoljavaju svoj antikoagulantni efekat tako što interferiraju sa cikličnom interkonverzijom vitamina K i njegovog epoksida (Slika 2). Vitamin K je kofaktor posttranslacione karboksilacije ostataka glutamata do  $\gamma$ -karboksilglutamata na amino-terminalnim krajevima vitamin K-zavisnih proteina: faktora II (protrombina), VII, IX i X, proteina C i proteina S. Karboksilacijom ovih faktora povećava se njihov afinitet za jon kalcijuma koji omogućava vezivanje za fosfolipide membrane, i na taj način nastaje kompleks koji značajno povećava enzimsku aktivnost vitamin K-zavisnih faktora koagulacije. Nekarboksilirani faktori

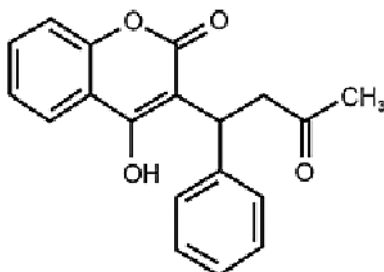
koagulacije koji se sintetišu u odsustvu vitamina K ili za vreme oralne antikoagulantne terapije, ne mogu da vežu kalcijum i ne stvaraju kompleks sa fosfolipidima membrane, i tako gube koagulantnu aktivnost<sup>(1)</sup>.



Slika 2. Ciklična interkonverzija vitamina K.

Varfarin je racemska smeša dva optički aktivna izomera, R- i S-, u približno jednakom odnosu, ali je S-izomer je oko 5 puta potentniji nego R- (Slika 3). Brzo se apsorbuje iz gastrointestinalnog trakta, ima veliku biološku iskoristljivost, i dostiže maksimalnu koncentraciju u krvi zdravih dobrovoljaca 90 minuta nakon oralne primene. Poluživot varfarina je 36-42

sata. Vezuje se za proteine plazme (pretežno albumin) i akumulira u jetri, gde se dva izomera metabolišu različitim putevima <sup>(1)</sup>. Mutacija na genu koji kodira sintezu citohroma P450, enzima jetre odgovornog za oksidativni metabolizam S-izomera varfarina, može izazvati različite odgovore organizma na primenjenu dozu leka. Postoji i nasledna rezistencija na varfarin, gde je pacijentima potrebna 5-20 puta veća doza od uobičajene za postizanje antikoagulantnog efekta <sup>(2)</sup>.



Slika 3. Varfarin

Nakon primene varfarina, ispoljavanje antikoagulantnog efekta očekuje se u roku od 2-7 dana, zavisno od primenjene doze. Kada je potrebno postići brzo efekat, zajedno sa varfarinom se daje heparin najmanje 4 dana. Doza od 5 mg varfarina obično rezultuje INR (internacionalni normalizovani odnos) oko 2,0 za 4-5 dana kod većine pacijenata. Heparin se prekida kada je INR u terapijskom opsegu najmanje 2 puta u razmaku od 24h. Ako tretman nije urgentan (npr hronična stabilna atrijska fibrilacija), doza održavanje je obično 4-5 mg. Početna doza manja od 5 mg može biti podesna za starije pacijente sa poremećajima ishrane ili bolestima jetre, i kod pacijenata sa velikom opasnošću od krvarenja <sup>(3)</sup>.

Poželjan terapijski nivo INR kreće se u opsegu od 2 – 4, što zavisi od indikacija (Tabela 1), učestalosti, lokalizacije i tipa tromboze, kao i od težine trombofilije.

Tabela 1. Indikacije za oralnu antikoagulantnu terapiju kumarinima i preporučeni INR

Indikacije	Preporučeni INR
Plućna embolija ili proksimalna venska tromboza	2 – 3
Postoperativna venska tromboza potkolenice	2 – 3
Venska tromboza u naslednoj trombofiliji	2 – 3
Venska tromboza u antifosfolipidnom sindromu	3 – 4
Atrijska fibrilacija	2 – 3
Prevenција insulata, rekurentnog infarkta i venskih tromboembolija posle akutnog infarkta miokarda	2 – 3
Mehanička srčana valvula	3 – 4
Sistemska lupus eritematodes	2,5-3,5

Prema protokolu, uvođenje antikoagulantne terapije započinje se u bolničkim uslovima, gde se protrombinsko vreme u prvoj nedelji meri svakodnevno da bi se tačno procenila optimalna doza oralnog antikoagu-

lansa. Kada se INR stabilizuje na željenom terapijskom nivou kontrolu protrombinskog vremena treba raditi jednom nedeljno, a zatim svake 2 – 4 ili 6 nedelja <sup>(4)</sup>.

Na antikoagulantni efekat varfarina utiču kako farmakokinetički faktori, kao što su interakcije sa drugim lekovima koje utiču na apsorpciju ili klirens varfarina, tako i farmakodinamski faktori, koji utiču na hemostazu a time i na odgovor na datu koncentraciju leka <sup>(5)</sup>.

Tabela 2. Agensi koji utiču na dejstvo varfarina (4,6)

Agensi koji povećavaju dejstvo varfarina	Agensi koji smanjuju efekat varfarina
amjodaron	holestiramin
omeprazol i cimetidin	barbiturati
fenilbutazon, metronidazol ili sulfametoksazol-trimetoprim	rifampicin
antitrombocitni lekovi (klopidogrel, tiklopidin, dipiridamol)	karbamazepin
nesteroidni antiinflamatorni lekovi (acetilsalicilna kiselina, ibuprofen, diklofenak)	alkohol
hinolonski antibiotici (ciprofloxacin, norfloksacin, ofloksacin)	fenitoin
makrolidni antibiotici (eritromicin, azitromicin, klaritromicin)	
antimikotici (flukonazol, ketokonazol, itrakonazol)	
aitostatici	

Unos vitamina K hranom kao što je zeleno, lisnato povrće (spanać, kelj, prokelj, zelena salata), soja, zeleni čaj, kantarion, ženšen ili kroz suplemente može da poništi efekat kumarina. U namirnice koje mogu potencirati efekat kumarina spada mango, grejpfrut, brusnica, kamilica, beli luk, đumbir, ginko biloba, glukozamin, vitamin E, multivitaminski preparati.

Tabela 3. Neželjeni efekti kumarinske terapije

Reakcije preosetljivosti	Alopecija (često se javlja, dozno je zavisna)
Krvarenja (u 1-5% pacijenata)	Osteoporoza i frakture
Nekroza kože (u 0,1% pacijenata)	Mučnina, povraćanje, dijareja

Kumarini su efikasni u prevenciji i lečenju venskih i arterijskih tromboza, ali mogu dovesti do krvarenja (posebno kada se predoziraju), ili do tromboze (kada se subdoziraju). Da bi se smanjio rizik od ovih komplikacija, prati se dužina protrombinskog vremena, izraženog kao INR – čime je omogućena komparabilnost između različitih laboratorija. Kod većine pacijenata kod kojih postoji rizik od nastanka tromboze, INR između 2,0 i 3,0 minimalizuje rizik od nastanka krvarenja uz adekvatan antitrombozni efekat. Uprkos čestom praćenju i pažljivom podešavanju doze, vreme

koje pacijenti provode unutar granica terapijskih vrednosti varira od 47% do maksimalnih 81% (7).

Ako se javi veliki skok vrednosti INR sa ili bez krvarenja, postoji više pristupa: obustava davanja varfarina; davanje vitamina K; infuzija sveže smrznute plazme ili koncentrata protrombina. Većina lekara obustavi varfarin kada je INR 4-10, i češće prati INR, osim kod pacijenata kod kojih postoji povećan rizik od krvarenja. Visoke doze vitamina K mogu smanjiti INR više nego što je potrebno i dovesti do rezistencije na varfarin čak i do 1 nedelje. Davanje 1-2,5 mg vitamina K oralno je efikasnije od obustave varfarina na 24h, kada je INR < 9,0. Za INR > 9,0 potrebno je 5 mg vitamina K (8).

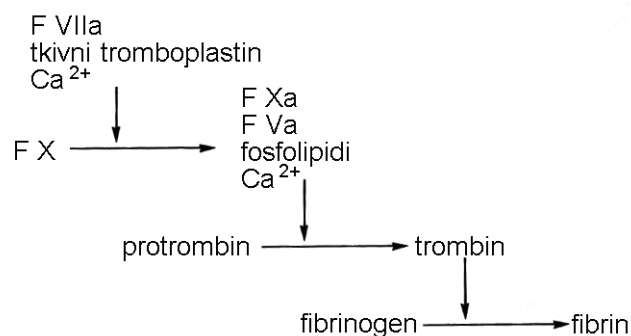
Osim hemoragije, najvažniji neželjeni efekat varfarina je nekroza kože, koja se obično javlja 3-8 dana od započinjanja terapije, a izazvana je trombozama vena i kapilara u potkožnom masnom tkivu, što može biti udruženo sa deficitom proteina C, ređe proteina S. Primena heparina u dužem periodu nije komforna i može biti udružena sa osteoporozom. U ovom slučaju se može ponovo započeti terapija varfarinom ali u manjoj dozi (npr 2 mg), uz pokrivanje heparinom i postepeno povećanje doze varfarina u narednim nedeljama. Na ovaj način se izbegava nagli pad proteina C pre smanjenja nivoa faktora II, IX i X.

Oralni antikoagulanti prolaze placentu, pa mogu izazvati fetalne abnormalnosti, fetalno krvarenje i povećan rizik od smrti fetusa posebno od 6-12 nedelje gestacije. Jedina indikacija za varfarin u trudnoći su mehaničke valvule. U svim ostalim stanjima se daju niskomolekulski heparini.

Lupus antikoagulansi su povezani sa povećanim rizikom od tromboze, pa se pacijentima koji imaju sistemski lupus često uvodi antikoagulantna terapija, uz održavanje INR od 2,5-3,5. Lupus antikoagulansi dovode do produžetka aPTT i PT; kod ovih pacijenata bolje je pratiti aktivnost protrombina nego PT (3).

Cilj laboratorijske kontrole oralne antikoagulantne terapije je održavanje stabilno snižene aktivnosti II, VII, IX i X faktora koagulacije na onom nivou koji osigurava hipokoagulabilnost a mogućnost krvarenja i rekurentne tromboze svodi na najmanju moguću meru. Doziranje je individualno zbog velikog variranja u brzini apsorpcije, iskorištavanja i degradacije varfarina, pri čemu ista doza varfarina dovodi do neujednačenih efekata kod različitih pacijenata.

Test koji se rutinski upotrebljava za kontrolu oralne antikoagulantne terapije je protrombinsko vreme. Citratna plazma meša se sa reagensom koji se sastoji od tromboplastina i kalcijuma. Tromboplastin pokreće spoljašnji put koagulacije, koji uljučuje faktor VII, faktor X, faktor V, protrombin i fibrinogen, pa protrombinsko vreme predstavlja vreme potrebno za stvaranje fibrinskog ugruška *in vitro* (Slika 4).



Slika 4. Aktivacija spoljašnjeg puta koagulacije

Tromboplastin (ili Faktor III) je lipoprotein prisutan u tkivima, trombocitima, leukocitima. Neophodan je za proces koagulacije, kao i za konverziju protrombina u trombin u prisustvu jona kalcijuma. Ranije se dobijao iz mozga i drugih organa, i pokazuje tkivnu specifičnost. Najčešće se koristi zečiji tromboplastin iz mozga. Danas se sve više koristi i rekombinantni humani tromboplastin, koji ima ISI blizu 1.

Faktori koagulacije su nestabilni i podležu inaktivaciji, i zbog toga je bitno pridržavati se standardnih postupaka uzimanja krvi, transporta i čuvanja biološkog materijala. Krv se uzima u plastične vakuum-eprove sa natrijum-citratom kao antikoagulansom (odnos krvi i citrata mora biti 9:1) i odmah blago pomeša (ne sme se mućkati jer može doći do stvaranja pene). Ostali antikoagulansi su nepodesni jer su u njima neki faktori koagulacije nestabilni. Uzorak se centrifugira 15 minuta na 1500 obrtaja i određivanja bi trebalo izvršiti u roku od 3h.

Vreme potrebno za formiranje fibrinskog ugruška meri se fotooptičkim ili elektromehaničkim koagulometrima. Hemoliza, lipemija, hiperbilirubinemija i hiperproteinemija dovode do greške kod fotooptičkih instrumenata, dok kod elektromehaničkih to nije slučaj.

Dužina protrombinskog vremena pre svega zavisi od sniženja aktivnosti faktora koagulacije, kao i od osetljivosti tromboplastina koji se koristi u metodi. Da bi se došlo do preciznog pokazatelja na osnovu koga bi se dozirala oralna antikoagulantna terapija, koji ne zavisi od aktivnosti tromboplastina, prema preporuci Svetske zdravstvene organizacije 1983. godine je uveden INR (International Normalised Ratio). INR predstavlja količnik protrombinskog vremena pacijenta i kontrole, koji je stepenovan internacionalnim indeksom osetljivosti tromboplastina (ISI – International Sensitivity Index) (9,10).

$$\text{INR} = (\text{PV}_p / \text{PV}_k)^{\text{ISI}}$$

gde je:  $\text{PV}_p$  – protrombinsko vreme pacijenta (u sekundama)

$\text{PV}_k$  – aritmetička sredina protrombinskih vremena 20 zdravih odraslih osoba, ili protrombinsko vreme komercijalne kontrolne plazme (u sekundama)

Svetska zdravstvena organizacija je, zajedno sa Međunarodnim udruženjem za trombozu i hemostazu 1983. godine uvela kao referentan IRP 67/40 (humani tromboplastin iz mozga) koji ima ISI 1,0. Svi ostali komercijalno dostupni tromboplastini kalibrišu se prema ovom referentnom, tako da ISI, koji proizvođač mora navesti, odražava njihovu osetljivost. Preporuka je da se za doziranje oralne antikoagulantne terapije koristi tromboplastin sa niskim ISI (manjim od 1,5). Umesto aritmetičke sredine protrombinskih vremena 20 zdravih odraslih osoba može se koristiti protrombinsko vreme proverene liofilizovane kontrolne plazme.

Najčešći uzroci za dobijanje lažno produženih vrednosti PV su: preduga kompresija pri venepunkciji; previše jak mlaz krvi koji napravi penu; uzimanje krvi iz centralnog venskog katetera ili braunile kroz koju se daje hipertoni rastvor (ako pacijent prima infuziju, uzorkovanje je obavezno iz druge ruke).

## ZAKLJUČAK

Određivanje dužine protrombinskog vremena i dalje je zlatni standard za praćenje pacijenata na oralnoj antikoagulantnoj terapiji, pri čemu Quick-ov test primenjen na elektromehaničkim koagulometrima podleže manjem uticaju interferencija nego rad na fotooptičkim instrumenatima.

## Abstract

Oral anticoagulants are widely used drugs in the treatment of patients with various cardiovascular disorders, especially when accompanied with thromboembolia. In clinical use are derivatives of 4-hydroxycoumarin. Anticoagulant effect of coumarins is achieved with inhibition of hepatic post-translational modification of four vitamin K-dependent coagulation factor: prothrombin, and factor VII, IX and X. Functionally inactive coagulation factors present in plasma inhibit coagulation process and cause hypocoagulability of blood. Coumariins also inhibit posttranslational modification of natural coagulation inhibitors: protein C and protein S. The test that is routinely used to control oral anticoagulant therapy is protrombin time.

## LITERATURA

- Hirsh J, Fuster V, Ansell J, Halperin J. *AHA/ACC Guide to Warfarin Therapy*. *Circulation*, 2003;107:1692-1711.
- Thacker SM, Grice GR, Milligan PE, Gage BF. Dosing anticoagulant therapy with coumarin drugs: is genotyping clinically useful? *Yes*. *J Thromb Haemost* 2008; 6:1445-1449.
- Ansell J, Hirsh J, Dalen JE., et al. *Managing Oral Anticoagulant Therapy*. *Chest* 2001;119:22S-38S.
- Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR. *Oral Anticoagulants: Mechanism of Action, Clinical Effectiveness, and Optimal Therapeutic Range*. *Chest* 2001;119: 8S-21S.
- Kamali F, Pirmohamed M. The future prospects of pharmacogenetics in oral anticoagulation therapy. *Br J Clin Pharmacol* 2006;61:746-751.
- Penning-van Beest FJA, Koerselman J, Herings RMC. Risk of major bleeding during concomitant use of antibiotic drugs and coumarin anticoagulants. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 284-290.
- Garcia D, Ageno W, Bussey H, et al. Prevention and treatment of bleeding complications in patients receiving vitamin K antagonists, Part 1: Prevention. *Am J Haematol* 2009; 84: 579-583.
- Dentali F, Ageno W, Crowther M. Treatment of coumarin-associated coagulopathy: a systematic review and proposed treatment algorithms. *J Thromb Haemost* 2006;4:1853-1863.
- van der Besselaar AMHP, Tripodi A. An International Normalized Ratio (INR) calibration model that is too simple leads to bias and overestimated accuracy of INR values: reply to a rebuttal. *J Thromb Haemost* 2007; 5:2161.
- Baglin TP, Keeling DM, Watson HG. *Guidelines on oral anticoagulation (warfarin): third edition-2005 update*. *Brit Soc Haematol* 2005;132:277-285.