

Monitorowanie leczenia nowymi doustnymi antykoagulantami — kiedy, dlaczego i jakimi metodami?

Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the new oral anticoagulants — when, why and with which assays?

Krystyna Zawilska

Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
 Centrum Diagnostyczno-Lecznicze INTERLAB w Poznaniu

W przeciwieństwie do leków z grupy antagonistów witaminy K (VKA, *vitamin K antagonists*), obniżających aktywność czynników krzepnięcia „rodziny protrombiny” poprzez wpływ na metabolizm witaminy K, leki z grupy nowych doustnych antykoagulantów (NOAC, *new oral anticoagulants*) cechują się właściwością bezpośredniego hamowania czynnika Xa (rywaroksaban, apiksaban, edoksaban) lub trombiny (dabigatran), zmniejszając w ten sposób tworzenie się fibryny. Leki te, w odróżnieniu od VKA, charakteryzują się przewidywalnymi cechami farmakokinetycznymi i farmakodynamicznymi. Inhibitory czynnika Xa hamują bez pośrednictwa antytrombiny czynnik Xa wolny i związany na powierzchni płytek krwi w kompleksie protrombinazy, łącząc się z jego aktywnym centrum. Ich zaletą ma być właściwość hamowania tworzenia zakrzepu z pozostawieniem możliwości powstawania pewnych ilości trombiny, niezbędnej dla aktywacji płytek i tworzenia czopu hemostatycznego.

Bezpośredni inhibitor trombiny — eteksylan dabigatranu przekształca się po wchłonięciu z przewodu pokarmowego w aktywny metabolit — dabigatran. Jest on związkiem o małej cząsteczce, która blokuje centrum aktywne trombiny i w ten sposób ją inaktywuje, powodując zmniejszenie tworzenia fibryny z fibrynogenu. Mały rozmiar cząsteczki pozwala na hamowanie nie tylko trombiny w osoczu, ale także trombiny związanej z zakrzepem. Właściwości NOAC zestawiono w tabeli 1 [1].

Dlaczego oznaczanie rutynowo wykonywanych testów: INR, APTT, czasu trombinowego podczas stosowania NOAC nie ma znaczenia klinicznego?

Stosowanie NOAC nie wymaga indywidualnego dostosowywania dawki ani rutynowego monitorowania parametrów krzepnięcia krwi, takich jak INR (*international normalized ratio*), APTT (*activated partial thromboplastin time*), czas trombinowy, gdyż leki działają w sposób zbliżony u wszystkich pacjentów, wykazując różnice zależne głównie od stopnia wydolności nerek, a interakcje lekowe są nieliczne. Ze względu na inny niż VKA lub heparyn mechanizm działania NOAC, wyniki rutynowo wykonywanych oznaczeń INR lub APTT nie wykazują równoległości ze stężeniem terapeutycznym leku i zależą od wielu czynników, między innymi od czasu pobrania krwi do badania, rodzaju stosowanych odczynników, używanej aparatury itp. [2].

O obecności inhibitorów czynnika Xa (rywaroksaban, apiksaban) we krwi pacjenta świadczy przedłużenie czasu protrombinowego (PT, *prothrombin time*), ale test ten nie nadaje się do szczegółowego monitorowania aktywności przeciwkrzepliwej. Źródło błędów w oznaczaniu INR podczas leczenia inhibitorami czynnika Xa ma wiele przyczyn: począwszy od metody opracowanej i zwalidowanej dla VKA, poprzez wiele różnych odczynników tromboplastyny tkankowej, różniących

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Krystyna Zawilska, Centrum Diagnostyczno-Lecznicze INTERLAB, ul. 28 Czerwca 1956 r. nr 161, 61–505 Poznań, tel.: 61 833 39 49, faks: 61 833 17 85 i 61 852 76 11, e-mail: k.zawilska@interia.pl

Tabela 1. Właściwości nowych doustnych antykoagulantów**Table 1.** Properties of new oral anticoagulants

Cecha	Rywaroksaban	Apiksaban	Dabigatran
Punkt uchwytu	Czynnik Xa	Czynnik Xa	Trombina
Prolek	Nie	Nie	Tak
Biodostępność	80%	~66%	6,5%
T _{maks.}	2,5–4 godz.	3 godz.	2 godz.
Sposób podawania	1 × dz.	2 × dz.	2 × dz.
Czas półtrwania	7–13 godz.	8–13 godz.	12–14 godz.
Wydalenie	67% nerkowe, 33% z kałem	25% nerkowe, 75% z kałem	80% nerkowe
Konieczność monitorowania	Nie	Nie	Nie
Interakcje	Cyt. P450, P-gp	Cyt. P450, P-gp	P-gp

Cyt. P450 — izoenzymy cytochromu P450; P-gp — transporter błonowy P-glikoproteiny

się swoją czułością, do rozrzutu wartości stężeń u różnych pacjentów, po zastosowaniu tej samej dawki leku. Dodatkowo efekt błędu pogłębia się wraz ze wzrostem stężenia leku w osoczu. Poza tym należy pamiętać, że INR ocenia zewnątrzpochodny układ krzepnięcia, który zależy nie tylko od czynnika X i II, ale także od czynników: I, V i VII, a więc zmiana aktywności tych czynników będzie wywierała wpływ na PT oraz INR. Czas częściowej tromboplastyny po aktywacji (APTT) nie jest wystarczająco czuły dla oceny obecności inhibitorów anty-Xa. Po 2–4 godzinach od podania rywaroksabanu (słabszy efekt po podaniu apiksabanu) u większości chorych stwierdza się przedłużenie PT, co przy automatycznym wyliczaniu INR może dać wartości powyżej 2 oraz przedłużenie APTT, zwykle do ~50 sekund. W odróżnieniu od dabigatranu, czas trombinowy podczas leczenia rywaroksabanem jest prawidłowy [3].

Bezpośrednie inhibitory trombiny powodują przedłużenie APTT i czasu trombinowego, a w mniejszym stopniu PT. Po 2–4 godz. od podania dabigatranu u większości chorych stwierdza się przedłużenie APTT (do ~50–65 sekund) oraz PT (co przy automatycznym wyliczaniu INR daje wartości ~1,5); czas trombinowy jest bardzo wydłużony, często do wartości nieoznaczalnych. APTT jest jednak testem nienadającym się do monitorowania stężenia dabigatranu, ze względu na małą czułość, zależną od rodzaju użytego aktywatora i typu koagulometru. Przy przewlekłym stosowaniu dabigatranu w dawce 150 mg co 12 godz., APTT istotnie (1,5-3-krotnie) wydłuża się, ale stopień tego wydłużenia nie koreluje ściśle ze stężeniem dabigatranu w osoczu. Wydłużenie APTT powyżej 65–80 sekund bezpośrednio

przed kolejną dawką leku może wskazywać na nadmierną antykoagulację. APTT mieszczący się w granicach normy wskazuje na brak antykoagulacyjnego efektu dabigatranu. Prawidłowy czas trombinowy świadczy o bardzo małym albo niewykrywalnym stężeniu dabigatranu w osoczu.

Kiedy i w jaki sposób można ocenić stopień nasilenia przeciwkrzepliwego działania NOAC?

Stosowanie NOAC nie wymaga rutynowego monitorowania parametrów krzepnięcia krwi. Opracowanie prostych metod oceny działania antykoagulacyjnego NOAC może jednak zwiększyć bezpieczeństwo leczenia. Pomimo krótkiego czasu działania NOAC, problem ten może mieć praktyczne znaczenie w następujących sytuacjach klinicznych:

1. wystąpienie powikłań krwotocznych;
2. przed zabiegiem operacyjnym lub inwazyjną procedurą diagnostyczną, o ile pacjent zażył lek w ciągu poprzedzających 24 godz. (lub wcześniej, jeśli CrCl < 50 ml/min);
3. wykrywanie subterapeutycznego stężenia lub przekroczenia stężenia terapeutycznego NOAC u pacjentów:
 - równocześnie zażywających leki wpływające na metabolizm NOAC,
 - ze skrajnie dużą lub małą masą ciała,
 - z pogarszającą się czynnością nerek;
4. monitorowanie efektu przeciwkrzepliwego NOAC w okresie okołoperacyjnym;
5. podczas odwracania efektu przeciwkrzepliwego NOAC;

6. przy podejrzeniu przedawkowania NOAC;
7. ocena współpracy ze strony pacjenta — dla sprawdzenia, czy zażywa lek, zwłaszcza w przypadku wystąpienia powikłań zakrzepowych.

Monitorowanie działania rywaroksabanu i apiksabanu

Pomiar aktywności anty-Xa metodą chromogenną (bez egzogennej antytrombiny) z zastosowaniem odpowiedniej krzywej wzorcowej będzie prawdopodobnie najlepszym sposobem precyzyjnego monitorowania działania rywaroksabanu i apiksabanu, jednak test ten wymaga jeszcze standaryzacji i walidacji [4, 5]. Są już dostępne komercyjne zestawy do pomiaru aktywności przeciwkrzepliwej rywaroksabanu, na przykład STA-Liquid anti-Xa (Diagnostica Stago), TechnoChrom (Technoclone) [6, 7]. Zmodyfikowany czas protrombinowy rozcieńczonego osocza wykazuje korelację ze stężeniem rywaroksabanu i apiksabanu, wymaga jednak standaryzacji [8], przy czym czułość trombolastyn używanych do pomiaru PT w stosunku do apiksabanu jest mniejsza niż w przypadku rywaroksabanu [9]. Każde laboratorium powinno określić czułość używanej trombolastyny w stosunku do rywaroksabanu, korzystając z dostępnych już wzorcowych stężeń tego leku do wyznaczenia krzywej PT [10]. Z niedawno opublikowanego raportu wynika, że zmodyfikowany PT, pomiar aktywności anty-Xa oraz czas krzepnięcia osocza po dodaniu protrombiny (PiCT — Pentapharm, Bazylea, Szwajcaria) wykrywają apiksaban dodawany do osocza w stężeniach terapeutycznych — od 30 do 330 ng/ml [11]. Konieczne jest jednak zweryfikowanie przydatności tych testów w ocenie aktywności przeciwkrzepliwej w osoczu pacjentów leczonych apiksabanem.

Monitorowanie działania dabigatranu

Swoiste metody laboratoryjnego monitorowania działania dabigatranu to zmodyfikowany czas trombinowy i czas ekarynowy. Czas trombinowy osocza rozcieńczonego w stosunku 1:16 osoczem kontrolnym wykazuje liniową zależność od stężenia dabigatranu w zakresie 50–2000 ng/ml [12]. Można go oznaczać za pomocą zestawu Hemoclot, dopuszczonego do użytku klinicznego w Unii Europejskiej. Czas krzepnięcia ekarynowy ulega 2–4-krotnemu przedłużeniu u pacjentów stosujących przewlekle dabigatran w dawce 150 mg

co 12 godzin. Test ten może być potencjalnie zalecany do monitorowania dabigatranu, ale po uprzedniej walidacji. Oznaczanie aktywności anty-IIA metodą chromogenną też stwarza taką nadzieję [3]. Hawes i wsp. stwierdzili, że w osoczu 35 pacjentów pobierających dabigatran w dawce 2×150 mg terapeutyczne stężenie leku oznaczone metodą spektrometrii masowej (pomiędzy 25. i 75. percentylem wszystkich oznaczeń) wynosiło 27–411 ng/ml. APTT i PT były prawidłowe w odpowiednio 18% i 40% próbek. Czas trombinowy w połowie próbek był nieoznaczalny. Czas trombinowy rozcieńczonego osocza i czas ekarynowy wykazywały natomiast liniową zależność od stężenia dabigatranu i umożliwiały identyfikację pacjentów z prawidłowym albo nadmiernym stężeniem leku we krwi [13].

Czy laboratoryjne monitorowanie leczenia NOAC mogłoby poprawić skuteczność i bezpieczeństwo leczenia przeciwkrzepliwego?

Niedawno opublikowano wyniki badania, w którym oceniono zależność pomiędzy stężeniem dabigatranu we krwi, oznaczanym metodą tandemowej spektrometrii masowej, z wynikami stosowania dabigatranu w zapobieganiu powikłaniom zakrzepowo-zatorowym u 9183 pacjentów z utrwalonym niezastawkowym migotaniem przedsionków, włączonych do badania *Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy (RE-LY)*. Stężenie dabigatranu oznaczano na szczycie działania (1–3 godz. po zażyciu leku) oraz w momencie minimalnego działania (10–16 godz. po zażyciu leku). Autorzy wykazali zależność stężenia dabigatranu od czynności nerek, masy ciała, wieku i płci, a także wysoce znamiennej korelację pomiędzy minimalnym stężeniem dabigatranu we krwi a częstością powikłań zakrzepowo-zatorowych oraz występowaniem powikłań krwotocznych. Zdaniem autorów tego doniesienia utrzymanie minimalnego stężenia dabigatranu ~100 ng/ml mogłoby umożliwić ograniczenie ryzyka krwawień, bez utraty skuteczności przeciwzakrzepowej leku [14]. Konieczne są w tym celu dalsze randomizowane badania kliniczne oraz ustalenie sposobu i częstości monitorowania leku (stężenie we krwi czy czynnościowe testy koagulologiczne?). Podobne problemy do rozwiązania mogą dotyczyć także inhibitorów czynnika Xa — rywaroksabanu, apiksabanu i edoksabanu.

Piśmiennictwo

1. Bauer K.A. Pros and cons of new anticoagulants. *Hematology Am. Soc. Hematol. Edu. Program* 2013; 2013: 464–470.
2. Samama M.M., Amiral J., Guinet C. i wsp. Monitoring plasma levels of factor Xa inhibitors: how, why, and when? *Expert. Rev. Hematol.* 2013; 6: 155–164.
3. Garcia D., Barrett Y.C., Ramacciotti E., Weitz J.I. Laboratory assessment of the anticoagulant effects of the next generation of oral anticoagulants. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11: 245–52.
4. Baglin T., Hillarp A., Tripodi A. i wsp. Measuring oral direct inhibitors of thrombin and factor Xa: a recommendation from the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11: 756–760.
5. Harenberg J., Marx S., Weiss C. i wsp. on behalf of the working party: methods to determine rivaroxaban of the Subcommittee on Control of Anticoagulation of the ISTH. Report of the Subcommittee of Control of Anticoagulation on the determination of the anticoagulant effects of rivaroxaban. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10: 1433–1436.
6. Samama M.M., Contant G., Spiro T.E. i wsp. Laboratory assessment of rivaroxaban: a review. *Thromb. J.* 2013; 11: 11–17.
7. Samama M.M., Contant G., Spiro T.E. i wsp. Evaluation of the anti-Factor Xa chromogenic assay for the measurement of rivaroxaban plasma concentrations using calibrators and controls. *Thromb. Haemost.* 2012; 107: 379–387.
8. Tripodi A., Chantarangkul V., Guinet C., Samama M.M. The International Normalized Ratio calibrated for rivaroxaban has the potential to normalize prothrombin time results for rivaroxaban-treated patients. Results of an in vitro study. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9: 226–228.
9. Gouin-Thibault I., Flaujac C., Delavenne X. i wsp. Assessment of apixaban plasma levels by laboratory tests: suitability of three anti-Xa assays. A multicenter French GEHT study. *Thromb. Haemost.* 2014; 111: 240–248.
10. Lindhoff-Last E., Samama M.M., Ortel T.L. i wsp. Assays for measuring rivaroxaban: their suitability and limitations. *Ther. Drug. Monit.* 2010; 32: 673–679.
11. Harenberg J., Du S., Weiss R. i wsp. Report of the Subcommittee on Control of Anticoagulation on the determination of the anticoagulant effects of apixaban: communication from SSC of ISTH. *J. Thromb. Haemost.* 2014; 12: 801–804.
12. Avecilla S.T., Ferrell C., Chandler W.L. i wsp. Plasma-diluted thrombin time to measure dabigatran concentration during dabigatran etexilate therapy. *Am. J. Clin. Path.* 2012; 137: 572–574.
13. Hawes E.M., Deal A.M., Funk-Adcock D. Performance of coagulation tests in patients on therapeutic doses of dabigatran: a cross-sectional pharmacodynamic study. *J. Thromb. Haemost.* 2013; 11: 1493–1502.
14. Reilly P.A., Lehr T., Haertter S. i wsp. The effect of dabigatran plasma concentration and patient characteristics on the frequency of ischemic stroke and major bleeding in atrial fibrillation patients: the RE-LY trial (Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014; 63: 321–328.