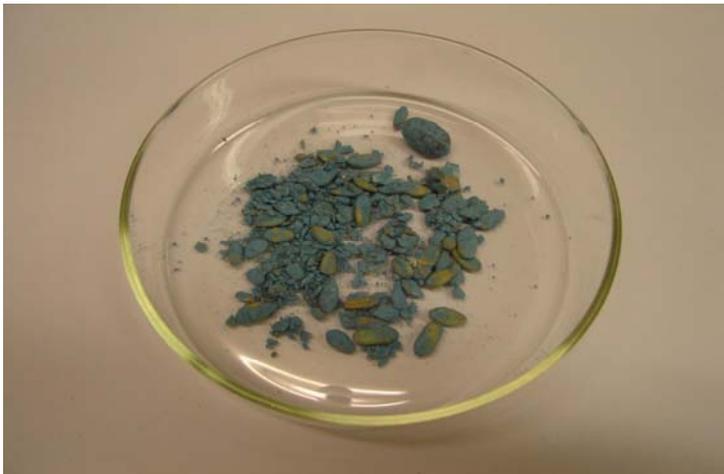


Gerinnungsstörung: Vitamin K-Antagonisten

Vorgeschichte:

Fall 1:

Ein 62-jähriger männlicher Patient erschien mit Symptomen wie Übelkeit und Erbrechen in einer Rettungsstelle. Nach eigenen Angaben hatte der Patient in suizidaler Absicht einen Rattengiftköder eingenommen. Die Anamnese ergab einen früheren Selbstmordversuch im Jahr 2003 ohne psychiatrische Weiterbehandlung. Eine Plasmaprobe des Patienten wurde zusammen mit einem blauen Köderpräparat (s. Abb.) zur Analyse in unser Labor geschickt.



*Blaues Köderpräparat (Asservat) zu
Fall 1*

Fall 2:

Ein 55-Jahre alter Mann kam in die Rettungsstelle eines Berliner Krankenhauses mit einer Blutung der Zunge.

Da das Ausmaß und die Dauer der Blutung sich nicht durch eine Verletzung erklären ließen, wurde der Gerinnungsstatus des Patienten erhoben.

INR-Wert des Patienten: 10, (INR-Normbereich: 0,9 – 1,15,)

INR bei Patienten mit Phenprocoumontherapie: 2,0 – 4,5.

Es besteht der Verdacht auf Intoxikation mit einem Vitamin K – Antagonisten.

Fall 3:

Ein 69-jähriger männlicher Patient mit Autoimmun-Enzephalitis im sehr schlechten Allgemeinzustand wurde in die Klinik eingeliefert. Es ergab sich kein Hinweis auf eine Lebersynthesestörung, da die Antithrombinaktivität normal ist. Klinisch besteht keine Blutungsneigung.

Es fällt die überproportional niedrige Aktivität der Vitamin K abhängigen Gerinnungsfaktoren auf. Der Quick-Test ergab einen Wert von 21% (Norm: 70-120) bzw. der INR lag bei 3,3.

Im Vorbefund konnte eine Intoxikation mit Phenprocoumon (Macumar[®]) ausgeschlossen werden. Eine Plasmaprobe des Patienten wurde zur Analyse in unser Labor geschickt.

Fragestellung und Aufgaben

- Welche Anwendungsgebiete haben Vitamin – K – Antagonisten?
- Welche Intoxikationsszenarien sind denkbar?
- Welche toxikologischen bzw. toxikokinetischen Eigenschaften der potentiell in Frage kommenden Substanzen sollten Sie möglichst kennen, bevor Sie durch eine chemische Analyse den Versuch unternehmen, diese zu identifizieren und möglichst zu quantifizieren?

Analytik

Führen Sie ein Screening auf Vitamin K – Antagonisten im Plasma mittels LC-MS/MS-Technik durch.

1. Sie erhalten 3 Plasmaproben (0,5 ml in verschiedenfarbigen 1,5 ml Eppendorf-Gefäßen).
2. Sie erhalten ein Aufarbeitungs-Kit zur Extraktion der potentiell vorhandenen Vitamin-K-Antagonisten aus Plasma.

Probenaufbereitung

- Plasma versetzen mit 100 µl Puffer pH 4,2 + 400 µl Extraktionsmittel (dotiert mit internem Standard)
- Probe 5 min schütteln, 5 min Zentrifugieren
- 200 µl des Überstandes in ein neues, beschriftetes Eppendorf-Gefäß überführen

- Überstand bei 30°C im Stickstoff-Strom eindampfen
- Trockenen Rückstand in 120 µl Rekonstitutionslösung aufnehmen, 5 s am Vortex benetzen und in ein beschriftetes Braunglas-Vial mit Inlay überführen. Fertig zur Messung am Gerät.

Die Messung wird unter technischer Assistenz am LC/MS-Gerät durchgeführt. Nach Abschluss des chromatographischen Laufs wird automatisch ein Bericht generiert und ausgedruckt.

Auswertung und Interpretation

1. Identifizieren und ggf. bestimmen Sie die Konzentration der Analyte in der Probe gemäß Arbeitsanleitung!
2. Passt das Analysenergebnis zur geschilderten Situation?
3. Welche Empfehlungen zum therapeutischen Management würden Sie geben?
4. Welchen zeitlichen Verlauf der Detoxikation erwarten Sie jeweils?
- 5.

	Substanz	Konzentration (ng/mL)	Verlauf (Dauer)
Fall 1			
Fall 2			
Fall 3			

Hintergrundinformationen

Vitamin K ist ein fettlösliches Vitamin, das eine kritische Rolle in der Blutgerinnung spielt. Vitamin K-Mangel kann bei Erkrankungen durch mangelhafte Aufnahme, durch mangelhafte Speicherung bei Erkrankungen der Leber und durch Störungen des „Vitamin-K-Kreislaufs“ in der Leber z.B. durch Vitamin-K-Antagonisten entstehen.

Vitamin K gibt es in zwei in der Natur vorkommenden Varianten: Phylloquinone=Vitamin K₁, das in Pflanzen vorkommt und auch als Arzneimittel genutzt wird, und Menaquinon=Vitamin K₂, das von Darmbakterien gebildet wird.

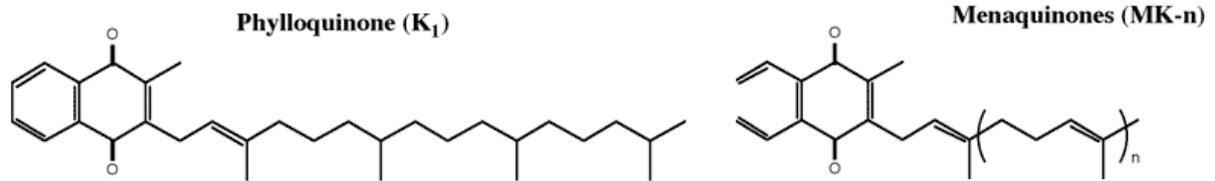


Abb. 1: Strukturen von Vitamin K₁ (Phylloquinone, Arznei) links und Vitamin K₂ (Darmbakterien) rechts

Die aktive Form von Vitamin K ist das reduzierte Vitamin K-Hydrochinon. Es wird in Gegenwart von Sauerstoff, Kohlendioxid und mikrosomalen Enzymen in der Leber in sein 2,3-Epoxid umgewandelt. Das Vitamin K-Hydrochinon muss durch eine (Coumarin sensitive) Epoxidreduktase aus dem Epoxid regeneriert werden, um die Synthese biologisch kompetenter Proteine des Prothrombinkomplexes zu ermöglichen. Dies betrifft die Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X, Protein C und S. Bei Fehlen dieser Gerinnungsfaktoren ist das Gerinnungssystem nachhaltig gestört, es kommt zu schweren Blutungen.

Die Hemmung dieser Epoxidreduktase ist der Angriffspunkt der Vitamin K-Antagonisten.

Vitamin K, aber nicht Vitamin K-Epoxid kann auch durch eine zweite Reduktase (DT-Diaphorase) in das Vitamin-K-Hydrochinon umgewandelt werden. Dieses Enzym ist weniger sensitiv gegenüber Vitamin K-Antagonisten und benötigt sehr hohe Konzentrationen von Vitamin K zur Bildung relevanter Mengen von Vitamin K-Hydrochinon. Über diesen Mechanismus kann mit sehr hohen Dosen an Vitamin K die Wirkung von Vitamin K-Antagonisten aufgehoben werden.

Ein labordiagnostischer Indikator für den Mangel an Gerinnungsfaktoren des Prothrombinkomplexes ist die Prothrombinzeit (Thromboplastinzeit, „Quickwert“ bzw. INR).

- am gebräuchlichsten „Quickwert“, Angabe in % der Norm (Normalbereich: 70-120%)
- moderner, weil durch Normierung auf die zur Messung jeweils eingesetzte Reagenziencharge eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den Ergebnissen verschiedener Laboratorien besteht, INR (nach WHO: International Normalized Ratio), Normalbereich 0,9-1,15

Behandlung von Vitamin K-Mangel-Erkrankungen:

- in lebensbedrohlichen Fällen: Ersatz der fehlenden Gerinnungsfaktoren z.B. Frischplasma
- Hohe Dosen von Vitamin K₁

Verwendung/Einsatzgebiete:

Vitamin K-Antagonisten werden

- Als gerinnungshemmende Arzneimittel (z.B. Phenprocoumon) zur Behandlung von Erkrankungen mit erhöhter Gefahr von Thrombosen oder Embolien (Erkrankungen, die durch Bildung von Blutgerinnseln zum Verschluss von Blutgefäßen führen können) und
- Als Rodentizide zur Bekämpfung von Nagern

eingesetzt.

Pharmakologisch-chemische Kenndaten:

Tab. 1: Pharmakologisch-chemische Kenndaten der Analyten nach [1,2,3]

Name	Therapeutischer Bereich (µg/l)	Eliminations-Halbwertszeit	LD ₅₀ Ratte oral (mg/kg KG)
Acenocoumarol	30 - 90	10 h	-
Cumachlor	-	-	-
Coumatetralyl	-	-	ca. 30 (m)
Phenprocoumon	1000 - 3000	120 -150 h	-
Warfarin	300 - 3000	37 - 50 h	ca. 60-320 (m)
Brodifacoum	-	-	0,4 - 0,75 (m)
Bromadiolon	-	26 - 58 h	ca. 1 (?)
Difenacoum	-	28 Tage	ca. 2 (?)
Difethialon	-	2 - 3 Tage	0,6 (?)
Flocoumafen	-	158 - 261 Tage	ca. 0,25 (?)

m = männlich

Literatur:

- [1] *Wirkstoffe in Pflanzenschutz und Schädlingsbekämpfungsmitteln*: physikalisch-chemische und toxikologische Daten, 3. Aufl., Industrieverband Agrar e.V., BLV, München, 2000.
- [2] Datenbank Marabu - Pegasos - Version Giftberater: Institut für Toxikologie, Klinische Toxikologie und Giftnotruf Berlin, Giftnotruf, 2004.
- [3] Toxikologische Datenbank, Institut für klinische Toxikologie, Berliner Betriebe für Zentrale Gesundheitliche Aufgaben (BBGes), 2003