

Prevalence polymorfismů CYP2C9 a VKORC1 v České republice a zamyšlení nad výhledy antikoagulační léčby warfarinem

Jan Kvasnička¹, Jaroslava Hájková¹, Petra Bobčíková¹, Tomáš Kvasnička¹, Daniela Dušková², Šárka Poletínová², Veronika Kieferová², Ladislav Pecen³

¹ Trombotické centrum a Centrální hematologické laboratoře, Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

² Fakultní transfúzní oddělení, Všeobecná fakultní nemocnice a 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha

³ Ústav informatiky Akademie věd ČR, Praha, Česká republika

Kvasnička J, Hájková J, Bobčíková P, et al. **Prevalence polymorfismů CYP2C9 a VKORC1 v České republice a zamyšlení nad výhledy antikoagulační léčby warfarinem.** *Cor Vasa* 2011;53:522–526.

Úvod: Je známo, že polymorfismy v genech cytochromu P 450 2C9 a reduktázy epoxidu vitaminu K, podjednotky 1 (VKORC1) ovlivňují senzitivitu na warfarin.

Cíl studie: Chtěli jsme zjistit prevalenci polymorfismů CYP2C9 (alel *1, *2 a *3) a VKORC1 (alel G a A v pozici -1639) a jejich kombinací v naší populaci, abychom získali představu, kolika procent jedinců se zvýšená senzitivita na warfarin teoreticky může týkat.

Metody: Genotypizace byla provedena u 1 300 zdravých osob (774 mužů a 526 žen) pomocí robotické izolace DNA a následnou amplifikací PCR s analýzou křivky tání (Light Cycler 480 System, Roche).

Výsledky: Kombinace genotypů VKORC1 -1639 A/A spolu s CYP2C9 *1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3 a vzácná kombinace VKORC1 -1639 G/A s CYP2C9 *3/*3, které podmiňují velmi vysokou senzitivitu na warfarin, byly určeny u 1,6 % osob. Kombinace VKORC1 -1639 A/A spolu s CYP2C9 *1/*2, VKORC1 -1639 G/A spolu s CYP2C9 *2/*3 a VKORC1 -1639 G/G spolu s CYP2C9 *3/*3, které podmiňují vysokou senzitivitu na warfarin, byly určeny u 3,3 % osob a kombinace VKORC1 -1639 A/A spolu s CYP2C9 *1/*1, VKORC1 -1639 G/A spolu s CYP2C9 *1/*2, *1/*3, *2/*2 a VKORC1 -1639 G/G spolu s CYP2C9 *2/*3, které podmiňují středně vysokou senzitivitu na warfarin, byly určeny u 26,2 % osob.

Závěr: Asi 30 % zdravých osob v české populaci má geneticky podmíněnou vyšší senzitivitu na warfarin. Jako alternativa warfarinu jsou diskutována nová antitrombotika.

Klíčová slova: Warfarin – Prevalence mutací CYP2C9 – Prevalence mutace VKORC1 – Česká republika – Nová antitrombotika

Kvasnička J, Hájková J, Bobčíková P, et al. **Prevalence of polymorphisms of CYP2C9 and VKORC1 in the Czech Republic and reflection on the views of anticoagulation therapy with warfarin.** *Cor Vasa* 2011;53:522–526.

Introduction: Polymorphisms in the genes encoding the cytochrome P 450 2C9 enzyme and the vitamin K epoxide reductase, subunit 1 (VKORC1) are known to contribute to the sensitivity to warfarin.

Aim of the study: We wanted to determine the prevalence of CYP2C9 (allele *1, *2 and *3) and VKORC1 (-1639 G and A alleles), and their combinations in Czech population to get an idea of how many percent of individuals can theoretically involve increased sensitivity to warfarin.

Methods: Genotyping was performed in 1300 healthy subjects (774 men and 526 women) using a robotic DNA isolation and subsequent PCR amplification according to the manufacturer's instructions with melting curve analysis (Light Cycler 480 System, Roche).

Results: The combinations of VKORC1 -1639 A/A genotypes with CYP2C9 *1/*3, *2/*2, *2/*3 or *3/*3, and a rare combination of VKORC1 -1639 G/A with CYP2C9 *3/*3, which underlie very high sensitivity to warfarin, were determined in 1.6% of people. The combinations of VKORC1 -1639 A/A with CYP2C9 *1/*2, VKORC1 -1639 G/A with CYP2C9 *2/*3, and VKORC1 -1639 G/G with CYP2C9 *3/*3, which underlie high sensitivity to warfarin, were determined in 3.3% of people. The combinations of VKORC1 -1639 A/A with CYP2C9 *1/*1, and VKORC1 -1639 G/A with the CYP2C9 *1/*2, *1/*3, *2/*2 or VKORC1 -1639 G/G with CYP2C9 *2/*3, which underlie medium-high sensitivity to warfarin, were determined in 26.2% of people.

Conclusion: About 30% of the Czech healthy subjects have genetically determined higher sensitivity to warfarin. New antithrombotics use is discussed as an alternative to warfarin.

Key words: Warfarin – Prevalence of CYP2C9 mutations – Prevalence of VKORC1 mutation – Czech Republic – New antithrombotics

Adresa: Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc., Ústav klinické biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2, e-mail: kvasnicka.jan@vfn.cz

Studie byla finančně podpořena VZ MZ ČR VFN 2005 (64165): Diagnostika a léčba geneticky podmíněných poruch II. Ve zkrácené formě byly její výsledky prezentovány dne 2. 5. 2011 na XIX. výročním sjezdu ČKS v Brně.

I když se to na první pohled nezdá, antikoagulancia patří k nejdéle a patrně i k nejčastěji používaným léčivům v kardiologii. V praxi je z nich stále nejrozšířenější warfarin. Dnes se ale u léčiv mimo žádaného účinku zaměřujeme stále více i na jejich bezpečnost z hlediska možného iatrogenního poškození nebo na jejich interakci s dalšími látkami. Z tohoto hlediska to pak již pro warfarin příliš příznivě nevyznívá.¹

Podle WHO patří warfarin, spolu s dalším antikoagulantem heparinem, mezi látky, u nichž bylo hlášeno nejvíce nežádoucích účinků – zejména krvácení.²

Co je příčinou tohoto jevu? Máme sice k dispozici metodu laboratorní kontroly jeho účinku pomocí protrombinového času, přesto u pacientů dlouhodobě léčených warfarinem je jen u 33–64 %^{3–5} dosahováno uspokojivých hodnot INR v terapeutickém rozmezí 2,0–3,0. Většina z nich je tímto přípravkem poddávkována (až v 39–75 % INR < 2,0),⁶ což samozřejmě snižuje žádaný účinek léčby. Méně pacientů je naopak předávkováno, což zase vede ke krvácení,⁷ i když toto riziko v posledním desetiletí spolu s růstem preskripce warfarinu při nevalvulární fibrilaci síní narůstá.⁸ U osob léčených warfarinem se udává až 5,4% výskyt krvácivých příhod,⁹ v některých studiích dokonce až 10–16%.¹⁰ To jsou sice čísla z praxe, ale neméně problémy s dodržáním účinku warfarinu v terapeutickém rozmezí jsou pozorovány i u pacientů zařazených do klinických studií, kde je vyžadována zvlášť pečlivá kontrola léčby warfarinem. V nedávné studii RE-LY porovnávající účinek warfarinu s novým antitrombotikem dabigatran etexilatem bylo dosahováno u pacientů léčených warfarinem terapeutického rozmezí INR v průměru jen po dvě třetiny sledované doby. Dosažený průměr doby v terapeutickém rozmezí (TTR, time in the therapeutic range) byl jen 64 %. Toto průměrné TTR platilo i pro zařazené pacienty z ČR. Horší kontrola účinku warfarinu se i zde promítla do vyššího počtu buď trombotických komplikací, nebo závažných krvácení či úmrtí takto léčených osob.¹¹ Kromě problémů spjatých s možností laboratorní kontroly, nedostatečné spolupráce pacientů a dalších rizik, zvyšujících tendenci ke krvácení při léčbě warfarinem,¹² je farmakokinetický i farmakodynamický účinek warfarinu u léčené osoby podmíněn i geneticky.

Warfarin je velmi účinným antagonistou vitamínu K₁, který je nezbytný pro syntézu funkčních koagulačních faktorů II, VII, IX a X v játrech. Vitamin K₁ je zde nutný pro aktivaci enzymu γ -karboxylázy v jaterní buňce, která je potřebná pro tzv. γ -karboxylaci uvedených koagulačních faktorů. Teprve potom jsou koagulačně účinné, tj. mohou se vázat pomocí můstků Ca²⁺ s fosfolipidy membrány destiček či s tkáňovým faktorem a mezi sebou. Vitamin K₁ se však v lidském organismu nesyntetizuje, získává se z potravy. Lidský organismus si proto aktivní, redukovanou formu vitamínu K (vitamin K hydrochinonon, KH₂) stále obnovuje z jeho oxidované formy (vitamin K 2,3-epoxid, KO) pomocí enzymu vitamin K epoxid reduktázy, respektive komplexu izoform tohoto enzymu, který se nazývá komplex reduktázy vitamínu K, podjednotka 1 (zkratka VKORC1). Nachází se v endoplazmatickém retikulu jaterní buňky. Tento VKORC1 je ale warfarinem inhibován a recyklace redukované formy

vitamínu K₁ a následná γ -karboxylace koagulačních faktorů je snížena. V krvi se poté nacházejí jejich neúčinné formy označované jako PIVKA (Protein Induced by Vitamin K Absency). Účinek warfarinu tedy závisí na tom, v jaké míře inhibuje VKORC1.¹³ V genu VKORC1, lokalizovaném na 16. chromosomu v pásmu p11.2 však dochází poměrně často k mutaci v jeho promotorové oblasti spojené s konverzí guaninu za adenin v pozici -1639 (-1639 G>A, rs9923231), která vede ke snížené translaci mRNA a nižší tvorbě enzymu VKORC1. Výskyt této mutace pak u svého nositele zvyšuje senzitivitu na léčbu warfarinem, protože obnova účinné redukované formy vitamínu K je u něj snížena.^{14–15}

Další geneticky podmíněný problém při léčbě warfarinem spočívá v tom, že vyráběné preparáty warfarinu jsou směsí dvou S a R enantiomerů warfarinu, přičemž S forma warfarinu je asi 4–5krát antikoagulačně účinnější než R forma. Biotransformace S a R forem warfarinu, jejich aktivita a doba, po kterou tyto formy warfarinu působí v organismu, pak závisí na aktivitě různých forem cytochromů systému P450 v jaterních buňkách, především cytochromu P450 2C9 (lokalizován na 10. chromosomu v pásmu q 23.33). Ten je odpovědný za konverzi farmakologicky účinnějšího S enantiomeru warfarinu na jeho neaktivní metabolity 6-hydroxy-S-warfarin a 7-hydroxy-S-warfarin. Je však již známo, že asi u 20–30 % osob bělošského původu se vyskytují méně účinné mutace tohoto enzymu, které opět odpovídají za zvýšenou senzitivitu na léčbu warfarinem. Pacientům s alelami CYP2C9*2 (mutace genu CYP2C9 se záměnou cytosinu C v pozici 430 za thymidin T, 430 C>T, rs1799853; s produkcí proteinu s cysteinem místo argininu v pořadí 144) a CYP2C9*3 (mutace genu CYP2C9 se záměnou adeninu A za cytosin C v pozici 1075, 1075 A>C, rs1057910; s produkcí proteinu s leucinem místo isoleucinu v pořadí 359) stačí totiž k udržování optima INR menší dávky warfarinu než pacientům s nemutovanou alelou CYP2C9*1. Je to o 17 %, respektive o 37 % méně. Při obvyklých dávkách 5 mg warfarinu jim pak hrozí zvýšené riziko krvácení, zejména po zahájení léčby.^{16–17} Nelze však vyloučit ani kombinovaný výskyt uvedených mutací v obou genech u jedné osoby, který dále zvyšuje jejich senzitivitu na warfarin a silně ovlivňuje účinnost dávky.¹⁸ Odhaduje se tedy, že asi 30–40 % osob v bělošské populaci má takto geneticky podmíněnou zvýšenou reaktivitu na léčbu warfarinem.¹⁹ V USA na to již FDA (U.S. Food and Drug Administration) zareagoval doporučením, aby výrobci uváděli, že dávkování warfarinu lze upravit podle určených genotypů CYP2C9 a VKORC1.²⁰

Cílem naší studie bylo zjistit prevalenci genotypů CYP2C9 s alelami *1, *2 a *3 a VKORC1 -1639 G>A v české populaci. Z té by pak již bylo možné vycházet při hledání optimální strategie zaměřené na snížení rizikovitosti léčby warfarinem.

Soubor nemocných a metodika

Do studie bylo náhodným výběrem zařazeno celkem 1 300 zdravých osob ve věku 18–60 let (774 mužů a 526 žen), většinou anonymních dárců krve z fakultního transfúzního

oddělení Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Vyšetření bylo provedeno v rámci studie Diagnostika a léčba geneticky podmíněných poruch II, schválené etickou komisí 1. lékařské fakulty UK a Všeobecné fakultní nemocnice v Praze. Všichni byli evropského původu a pocházeli z oblasti hl. města Prahy nebo Středočeského kraje České republiky.

Genetické testy

Genomová DNA (deoxyribonukleová kyselina) byla extrahována z leukocytů periferní krve a izolována pomocí systému MagNA Pure LC Nucleic Acid Extraction se soupravou MagNA Pure DNA Isolation Kit I (Roche Diagnostics, Mannheim, Německo) podle návodu výrobce. Vstupní a výstupní objemy vzorku byly nastaveny na 100 µl. Příslušný alikvot řádně promíchaného vzorku krve byl napipetován do odpovídajících pozic vzorkovacího stojánu a DNA byla izolována pomocí protokolu MagNA Pure High-Performance DNA Extraction. Takto získaná DNA byla stanovena pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) následované analýzou křivky tání se specifickými fluorescenčně značenými hybridizačními sondami v procesu FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer). Toto vyšetření bylo provedeno na přístroji LightCycler 480 System s použitím kitů LC FastStart DNA Master HybProbe (vše Roche Diagnostics, Mannheim, Německo) podle instrukcí výrobce.

Sekvenčně specifické primery a fluorescenčně značené sondy byly získány ve formě kitů (LightMix Kit human CYP2C9*2 a CYP2C9*3, resp. LightMix pro detekci lidské VKORC1 C1173T a VKORC1 G-1639A) od výrobce (firmy TIB MOLBIOL, Berlín, Německo). Směs do reakce byla připravena dle instrukcí výrobce kitů.

Všechna tato vyšetření byla provedena v molekulárně genetické laboratoři Trombotického centra VFN v Praze. Náklady byly hrazeny z VZ MZ ČR VFN 2005.

Ke zjištění prevalence osob s vyšším rizikem zvýšené senzitivity na léčbu warfarinem podle kombinace výskytu alel CYP2C9 a VKORC1 bylo dále použito rozdělení podle studie Mayo kliniky, které lépe vysvětluje klinický účinek vzhledem k nalezeným genotypům.²¹

Statistické testy

Ke stanovení odchylky od Hardyho-Weinbergova zákona ($p > 0,05$) byl použit χ^2 test. Metodou dle Walda byl kalkulován 95% interval spolehlivosti. Rozdíly mezi zastoupením genotypů a frekvencí alel mezi muži a ženami byly vy-

hodnoceny opět χ^2 testem. Jako statisticky významné byly hodnoceny rozdíly s $p < 0,05$.

K výpočtu byl použit statistický program SAS, verze 9.2 (SAS Institute, NC, USA) s genetickým souborem.

Výsledky

Výsledky frekvence alel a genotypů CYP2C9 a VKORC1 jsou uvedeny v *tabulkách 1 a 2*, včetně uvedení frekvencí zvláště u mužů a žen. Všechny nálezy splňovaly kritéria Hardyho-Weinbergovy rovnováhy (všechna $p > 0,05$). Statisticky významné rozdíly ve frekvenci genotypů CYP2C9 ($p = 0,608$), tak i VKORC1 ($p = 0,577$) mezi ženami a muži shledány nebyly. V *tabulce 3* je pak v procentech uveden výskyt kombinací sledovaných genotypů ve vztahu k nutnosti častějšího monitorování INR a úpravy dávky warfarinu podle metodiky Mayo kliniky, včetně údajů o jejich prevalenci v USA podle studie Medco-Mayo, zaměřené na efektivitu genotypizace pro účely racionálního dávkování warfarinu.²²

Diskuse

Největší nebezpečí předávkování při léčbě warfarinem u geneticky vnímavějších jedinců hrozí zejména v prvním měsíci zahájení léčby, kdy může dojít ke krvácení. Ute Schwartz a spol.²³ uvádějí, že důležité je zejména nosičství VKORC1 haplotypu A (v naší studii tomu odpovídá genotyp -1639A), které ovlivňuje farmakodynamiku warfarinu. Zjistili, že po zahájení léčby vede jednak k dřívějšímu dosažení INR 2,0, ale také rychleji k převýšení INR $> 4,0$. U starších nemocných s tímto haplotypem VKORC1 pozorovali i zvýšený počet krvácení v průběhu prvních 28 dnů. Pokud bylo třeba udržet rozmezí INR 2,0–3,0, stačilo u nosičů VKORC1 haplotypu A, zejména v kombinaci s alelami CYP2C9 *2 a *3 (ovlivňují zase farmakokinetiku warfarinu), podávat mnohem nižší dávky warfarinu. Geneticky je ale ovlivněna i výše udržovací dávky warfarinu, pokud má být dodrženo potřebné terapeutické rozmezí INR. Podle Riedera a spol.²⁴ byla průměrná denní udržovací dávka warfarinu pro homozygoty VKORC1 A/A $2,7 \pm 0,2$ mg, ale pro osoby s haplotypem B/B již $6,2 \pm 0,3$ mg. Zastoupení mutací sledovaných CYP2C9 a VKORC1 tedy vysvětluje až 30–40% rozdíly v účinku stejné dávky warfarinu u různých osob.²⁵

Naše studie byla zaměřena na zjištění prevalence výskytu obou polymorfismů v České republice, kde je převaha bělochů

Tabulka 1 Frekvence CYP2C9 (*1/*2/*3) v české populaci

CYP2C9 (*1/*2/*3)	Genotyp – frekvence (%)						Frekvence alel (95% interval spolehlivosti)			HWE χ^2 test
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3	*1	*2	*3	
Celkem (n = 1 300)	66,69	18,77	11,38	1,54	1,23	0,38	0,818 (0,803–0,831)	0,116 (0,102–0,128)	0,067 (0,058–0,076)	$p = 0,6572$
Muži (n = 774)	67,83	18,48	10,59	1,55	1,03	0,52	0,824 (0,803–0,844)	0,113 (0,096–0,129)	0,063 (0,052–0,076)	$p = 0,6607$
Ženy (n = 526)	65,02	19,20	12,55	1,52	1,52	0,19	0,809 (0,786–0,831)	0,119 (0,100–0,141)	0,078 (0,058–0,087)	$p = 0,6529$

HWE – Hardyho-Weinbergova rovnováha

Tabulka 2 Frekvence VKORC1 G -1639A v české populaci

VKORC1 G-1639A	Genotyp – frekvence (%)			Frekvence alel (95% interval spolehlivosti)		HWE χ^2 test
	GG	GA	AA	p	q	
Celkem (n = 1 300)	41,46	44,46	14,08	G = 0,637 (0,618–0,655)	A = 0,363 (0,345–0,382)	p = 0,1631
Muži (n = 774)	41,47	43,67	14,86	G = 0,633 (0,609–0,658)	A = 0,367 (0,342–0,391)	p = 0,0949
Ženy (n = 526)	41,44	45,63	12,93	G = 0,643 (0,612–0,671)	A = 0,357 (0,329–0,388)	p = 0,8784
HWE – Hardyho-Weinbergova rovnováha						

evropského původu. Pro osoby tohoto původu je udávána četnost mutovaných alel v rozmezí 8–19,1 % pro CYP2C9 *2; 6–10 % pro CYP2C9 *3; 57–70 % pro alely VKORC1 -1639 G a 30–43 % pro alely VKORC1 -1639 A.^{13,18,26,27} V prevalenci polymorfismů VKORC1 a CYP2C9 však existují etnicky podmíněné rozdíly. Například u amerických černochů je nalézána poměrně nízká prevalence VKORC1 haplotypu A (frekvence alely -1639 G je jen 10 %) a mutovaných alel CYP2C9 *2 (1–3,6 %) a CYP2C9 *3 (0,5–1 %). U Asiatů je naopak velmi vysoká prevalence VKORC1 haplotypu A (frekvence alely -1639 G je až 91 %), za to je u nich opět velmi nízká prevalence mutace CYP2C9 *2 (0 %) a CYP2C9 *3 (1,7–5 %).^{13,28,29}

Námi zjištěná prevalence alel i genotypů CYP2C9 i VKORC1 v české populaci je přibližně stejná, respektive v rozmezí prevalence, které je uváděno pro evropskou populaci ve výše uvedených studiích. Pokud ji budeme porovnávat s výskytem v blízkém okolí, jsou k dispozici data o výskytu u osob léčených antagonisty vitamínu K v jižním Německu s frekvencí alely CYP2C9 *2 12,5 % a alely CYP2C9 *3 8,3 %.³⁰ Zjištěná frekvence alely VKORC1 -1639A byla 41,4 %, zde však byla zahrnuta i vyšetření z Rakouska.³¹

Pro výši dávek warfarinu a nutnost častější monitorace k udržení terapeutického rozmezí INR byla Mayo klinikou navržena klasifikace na základě kombinací výskytu obou sledovaných genetických vlivů – mutací CYP2C9 a VKORC1, respektive genotypů *1/*1, *1/*2 a *1/*3, *2/*2, *3/*3 a *2/*3 a VKORC1 G/G, G/A a A/A,²¹ která je

z klinického hlediska sledování variability léčby warfarinem vhodnější než porovnávání výskytu mutovaných alel. Ani zde nebyl nalezen velký rozdíl mezi výsledky naší studie a údaji publikovanými ve studii Medco a Mayo kliniky u pacientů léčených warfarinem.²² Snad jen, že v české populaci bylo nalezeno více osob, které by měly být léčeny vyšší dávkou warfarinu pro nosičství nemutovaných genotypů, jak CYP2C9 *1/*1, tak i VKORC1 G/G (25,4 % oproti našim 28,3 %). Ve skupině s vyšší senzitivitou na léčbu warfarinem podle provedené genotypizace se však v obou souborech vyskytuje shodně asi 30 % sledovaných osob.

Již dnes lze při určení dávky warfarinu podle genotypizace CYP2C9 a VKORC1 postupovat poměrně snadno, na internetu je k dispozici volně nabízený program.³² Samotné genetické vyšetření je však zatím dosti nákladné, což je asi hlavní důvod, proč se v praxi většinou neužívá.³³ Není ale vyloučeno, že se podíl vyšší nákladovosti za toto vyšetření bude jevit v jiném světle, pokud by využití genotypizace CYP2C9 a VKORC1 snížilo nákladovost za opakované hospitalizace a léčbu krvácivých příhod. V provedené studii Medco a Mayo kliniky²² totiž dávkování warfarinu podle genotypizace CYP2C9 a VKORC1 snížilo u pacientů ambulantně léčených warfarinem během šesti měsíců o 31 % nutnost jejich hospitalizace a o 28 % počet hospitalizací pro krvácení.

V poslední době byl objeven ještě další polymorfismus cytochromu P 4F2 (rs2108622) s prevalencí 24 % mezi osobami evropského původu, který ovlivňuje variabilitu účinku warfarinu o dalších 1,5 %.³⁴

Je známo, že nebezpečí předávkování warfarinu z genetických příčin můžeme částečně eliminovat častějším vyšetřením protrombinového času (PT). K dispozici jsou již osobní analyzátory PT, např. Coagu-Chek (firma Roche, ČR) aj., což zlepšuje dostupnost kontrol. V novém miléniu jsme se také dočkali nových perorálních antikoagulancií – dabigatran etexilatu (Pradaxa, Boehringer Ingelheim, SRN), rivaroxabanu (Xarelto, Bayer, SRN) a apixabanu (Eliquis, konsorcium Bristol-Mayer Squibb a Pfizer, USA) – jejichž farmakologický účinek na rozdíl od warfarinu není ovlivněn geneticky³⁵ a při jednotném dávkování se nemusí laboratorně monitorovat. Pro kterou skupinu nemocných by

Tabulka 3 Kombinace genotypů VKORC1 a CYP2C9 v české populaci s klinickou interpretací podle studie Medco-Mayo Clinic²²

Senzitivita warfarinu	Kombinace genotypu		Počet	Celkem (n = 1 300)	Prevalence ČR	Prevalence USA ²²
	VKORC1	CYP2C9				
Velmi vysoká	A/A	*1/*3, *2/*2, *2/*3, *3/*3	21	21	1,6 %	2,6 %
	G/A	*3/*3	0			
Vysoká	A/A	*1/*2	28	43	3,3 %	4 %
	G/A	*2/*3	11			
	G/G	*3/*3	4			
Střední	A/A	*1/*1	134	341	26,2 %	26,6 %
	G/A	*1/*2, *1/*3, *2/*2	202			
	G/G	*2/*3	5			
Mírná	G/G	*1/*2, *1/*3, *2/*2	162	162	12,5 %	12,2 %
Normální	G/A	*1/*1	365	365	28,1 %	29,2 %
Méně než normální	G/G	*1/*1	368	368	28,3 %	25,4 %

však tyto látky měly být určeny přednostně? V úvodu bylo uvedeno, že incidence krvácení při léčbě warfarinem se nyní zvyšuje spolu s růstem jeho indikací při prevenci kardioembolických příhod u nemocných s nevalvulární fibrilací síní. V této indikaci již byla potvrzena i superiorita dabigatranu v dávce 2×150 mg denně vůči léčbě warfarinem, přičemž výskyt všech krvácivých příhod byl stejný. Významně zde ale klesla incidence z klinického hlediska nejzávažnějšího krvácení – intrakraniálního krvácení. Nejlepší výsledek byl při léčbě dabigatranem dosažen ve skupině nemocných, u nichž nebyla dodržena stabilita účinku warfarinu v terapeutickém rozmezí hodnot INR. U nemocných s dobrou kontrolou léčby warfarinem (TTR > 72 %) již jednoznačná výhodnost dabigatranu nad warfarinem potvrzena nebyla.¹¹

Podle výsledků naší studie lze tedy zvýšenou senzitivitu na warfarin očekávat až u 30 % osob v naší populaci. Budeme proto v budoucnu geneticky testovat individuální senzitivitu na warfarin ve snaze modifikovat výši dávky warfarinu a volit častější monitorování INR pro vylepšení jeho rizikového profilu, anebo u osob se zvýšenou dispozicí ke krvácení nebo kardioembolickému iktu (skórovací systémy již existují, např.¹²) rovnou dáme přednost novým antikoagulantům? Pro tuto skupinu nemocných s fibrilací síní se již indikace dabigatranu 2×150 mg denně jeví i ekonomicky výhodnější než indikace warfarinu, zejména pokud u nich není během léčby dosahováno stability účinku (INR).^{36,37} Poslední slovo zde však neřekla ani další nová antitrombotika.³⁸

Poděkování

Autoři vyslovují dík všem pracovníkům molekulárně genetické laboratoře Trombotického centra a Fakultního transfúzního oddělení VFN za pomoc při provádění vyšetření a odběru krevních vzorků.

Literatura

- Guerrouij M, Uppal CS, Alklabi A, Douketis JD. The clinical impact of bleeding during oral anticoagulant therapy: Assessment of morbidity, mortality and post-bleed anticoagulant management. *J Thromb Thrombolysis* 2011;31:419–423.
- Strandell J, Wahlin S. Pharmacodynamic and pharmacokinetic drug interactions reported to Vigibase, the WHO global individual case safety report database. *Eur J Clin Pharmacol* 2011;67:633–641.
- Samsa GP, Matchar DB, Goldstein LB, et al. Quality of anticoagulation management among patients with atrial fibrillation: results of a review of medical records from 2 communities. *Arch Intern Med* 2000;160:967–973.
- Go AS, Hylek EM, Borowsky LH, et al. Warfarin use among ambulatory patients with nonvalvular atrial fibrillation: the Anticoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) study. *Ann Intern Med* 1999;131:927–934.
- Gattellari M, Worthington J, Zwar N. Warfarin: an inconvenient truth [editorial]. *Stroke* 2009;40:5–7.
- Gladstone DJ, Bui E, Fang J, et al. Potentially preventable strokes in high-risk patients with atrial fibrillation who are not adequately anticoagulated. *Stroke* 2009;40:235–240.
- van Walraven C, Oake N, Wells PS, Foerster AJ. Burden of potentially avoidable anticoagulant-associated hemorrhagic and thromboembolic events in the elderly. *Chest* 2007;131:1508–1515.
- Flaherty ML, Kissela B, Woo D, et al. The increasing incidence of anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage. *Neurology* 2007;68:116–121.
- Shireman TI, Mahnen JD, Howard PA, et al. Development of a contemporary bleeding risk model for elderly warfarin recipients. *Chest* 2006;130:1390–1396.
- Wysowski DK, Nourjah P, Swartz L. Bleeding complications with warfarin use: a prevalent adverse effect resulting in regulatory action. *Arch Intern Med* 2007;167:1414–1419.
- Wallentin L, Yusuf S, Ezekowitz MD, et al, on behalf of the RE-LY investigators. Efficacy and safety of dabigatran compared with warfarin at different levels of international normalized ratio control for stroke prevention in atrial fibrillation: an analysis of the RE-LY trial. *Lancet* 2010;376:975–983.
- Lip GY, Frison L, Halperin JL, Lane DA. Comparative validation of a novel risk score for predicting bleeding risk in anticoagulated patients with atrial fibrillation: the HAS-BLED (Hypertension, Abnormal Renal/Liver Function, Stroke, Bleeding History or Predisposition, Labile INR, Elderly, Drugs/Alcohol Concomitantly) score. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:173–180.
- Ansell J, Hirsh J, Hylek E, et al. Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. *Chest* 2008;133(Suppl 6):160S–198S.
- Cooper GM, Johnson JA, Langae TY, et al. A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on warfarin maintenance dose. *Blood* 2008;112:1022–1027.
- Wang D, Chen H, Momary KM, et al. Regulatory polymorphism in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) affects gene expression and warfarin dose requirement. *Blood* 2008;112:1013–1021.
- Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in Warfarin-treated patients: A HuGenet™ systemic review and meta-analysis. *Genet Med* 2005;7:97–104.
- Schwarz UI, Stein CM. Genetic determinants of dose and clinical outcomes in patients receiving oral anticoagulants. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:7–12.
- Sconce EA, Khan TI, Wynne HA, et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005;106:2329–2333.
- Manolopoulos VG, Ragia G, Tavidou A. Pharmacogenetics of coumarinic oral anticoagulants. *Pharmacogenomics* 2010;11:493–496.
- http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/009218s108lbl.pdf
- Moyer TP, O'Kane DJ, Baudhuin LM, et al. Warfarin sensitivity genotyping: a review of the literature and summary of patient experience. *Mayo Clin Proc* 2009;84:1079–1094.
- Epstein RS, Moyer TP, Aubert RE, et al. Warfarin genotyping reduces hospitalization rates. Results from the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness Study). *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2804–2812.
- Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008;358:999–1008.
- Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005;352:2285–2293.
- Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med* 2011;364:1144–1153.
- Zhu Y, Shennan M, Reynolds KK, et al. Estimation of warfarin maintenance dose based on VKORC1(-1639 G > A) and CYP 2C9 genotypes. *Clin Chem* 2007;53:1199–1205.
- Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet* 2005;14:1745–1751.
- Schelleman H, Chen Z, Kealy C, et al. Warfarin response and vitamin K epoxide reductase complex 1 in African Americans and Caucasians. *Clin Pharmacol Ther* 2007;81:742–747.
- Limdi NA, Wadelius M, Cavallari L, et al.; International Warfarin Pharmacogenetics Consortium. Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups. *Blood* 2010;115:3827–3834.
- Epstein RS, Moyer TP, Aubert RE, et al. Identification of major CYP2C9 and CYP2C19 polymorphisms by Fluorescence Resonance Energy Transfer Analysis. *Clin Chem* 2002;48:1592–1594.
- Puehringer H, Loreth RM, Klose G, et al. VKORC1 – 1639G>A and CYP2C9*3 are the major genetic predictors of phenprocoumon dose requirement. *Eur J Clin Pharm* 2010;66:591–598.
- <http://www.WarfarinDosing.org>
- Rosove MH, Grody WW. Should we be applying warfarin pharmacogenetics to clinical practice? No, not now. *Ann Intern Med* 2009;151:270–273.
- Takeuchi F, McGinnis R, Bourgeois S, et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose. *Plos Genetics* 2009;5:e1000433.
- Ahrens I, Lip GY, Peter K. What do the RE-LY, AVERROES and ROCKET-AF trial tell us for stroke prevention in atrial fibrillation? *Thromb Haemost* 2011;105:574–578.
- Sorensen SV, Kansal AR, Connolly S, Peng S, Linnehan J, Bradley-Konnelly C. Cost-effectiveness of dabigatran etexilate for the prevention of stroke and systemic embolism in atrial fibrillation: A Canadian payer perspective. *Thromb Haemost* 2011;105:908–919.
- Shimoli VS, Cage BF. Cost – effectiveness of dabigatran for stroke prophylaxis in atrial fibrillation. *Circulation* 2011;123:2562–2570.
- Špinar J, Vitovec J. Studie Rocket AF – konec warfarinu na obzoru? *Kardiolog Rev* 2011;13:106–108.

Došlo do redakce: 25. 7. 2011

Přijato: 23. 9. 2011