

## Farmakogenetika a farmakokinetika warfarinu

Šlechtová J., Hajšmanová Z.

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN v Plzni

### SOUHRN

Perorální antikoagulační léčba antagonisty K vitamínu (warfarin, acenokumarol a fenprocoumon v Evropě, warfarin v USA, Kanadě, Asii a Africe) je široce rozšířená léčba v prevenci a léčbě žilního tromboembolismu, zvláště u nemocných s žilní trombózou a nemocných s fibrilací síní. Je všeobecně známo, že existuje značná interindividuální variabilita, vyžadující u řady nemocných časté laboratorní sledování a úpravu dávek. Účinnost léčby je sledována pomocí normalizovaného tromboplastinového času INR (International Normalized Ratio). Léčebné dávky jsou upravovány tak, aby bylo dosaženo doporučených hodnot INR. Cílem léčby je dosažení optimálního stavu, při němž se zabrání vzniku trombózy a nedojde ke krvácivým komplikacím.

Farmakogenetické výzkumy posledního desetiletí prokázaly, že biotransformaci warfarinu ovlivňuje cytochrom P450. Cílovým enzymem warfarinu je však vitamin K-epoxid reduktáza s podjednotkou 1 (VKORC1), která je warfarinem ireverzibilně blokována. I když se na trhu v posledních letech objevují nová antitrombotika s přímým působením na klíčové koagulační faktory, je i nadále místo kumarinových antikoagulancií nezastupitelné.

**Klíčová slova:** warfarin, kumarinová antikoagulancia, cytochrom P450, izoformy cytochromu P450 CyP2C9\*2,\*3, vitamin K-epoxid reduktáza (VKORC1).

### SUMMARY

#### Šlechtová J., Hajšmanová Z.: Pharmacogenetics and pharmacokinetics of warfarin

Oral anticoagulation by vitamin K antagonists is widely used (warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon in Europe and warfarin in the USA, Canada, Asia and Africa) to prevent or treat thrombosis, particularly in patients with venous thrombosis or atrial fibrillation. It is well known that great inter-individual variation of dose-response exists and requires frequent laboratory monitoring and dose modification. Treatment efficacy is evaluated by the International Normalized Ratio (INR). Doses of warfarin are adjusted to reach the optimal INR value. The aim is the optimal state – neither thrombosis nor bleeding complications.

The pharmacogenetic research in last ten years showed that warfarin biotransformation is influenced by cytochrome P450. The main enzyme – vitamin K-epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) is irreversibly blocked by warfarin treatment. Even if new antithrombotic drugs with direct target on key coagulation factors are known and available, the position of coumarin anticoagulants will be still important and irreplaceable.

**Key words:** warfarin, coumarin anticoagulants, cytochrome P450, isoforms of cytochrome P450 CyP2C9 \*2,\*3, vitamin K-epoxide reductase subunit 1 (VKORC1).

## Úvod

Při léčbě warfarinem (racemická směs S a R warfarinu, v níž S-warfarin představuje zhruba 70 % účinnosti warfarinu) je problémem velká inter- i intraindividuální variabilita s úzkým terapeutickým oknem a vysokým rizikem krvácení, především rizikem hemoragického iktu a závažného intraabdominálního krvácení.

Metabolismus a antikoagulační aktivita warfarinu jsou ovlivňovány celou řadou genů. Klíčovou roli však hrají dva stěžejní geny, jejichž polymorfismus výrazně ovlivňuje individuální senzitivitu k tomuto léku. Gen nesoucí informaci pro izoenzymy cytochromu P450 CyP2C9 ovlivňuje biotransformaci S-warfarinu, druhý gen, nesoucí informaci pro enzym vitamin K-epoxid reduktázu VKORC1 (vitamin K-epoxid reductase complex subunit 1), determinuje cílový enzym blokováný warfarinem. VKORC1 je nezbytný pro regeneraci vitamínu K [1–4].

Biotransformace R-warfarinu je ovlivňována cytochromálními izoenzymy CyP1A1,2, CyP3A4 a dalšími, ale vzhledem k tomu, že R-warfarin odpovídá pouze za 30 % aktivity warfarinu, není jejich hodnocení obsahem této práce. Stejně tak nejsou obsahem této práce ani cytochromální izoenzymy CyP2C8,18 a 19, které se

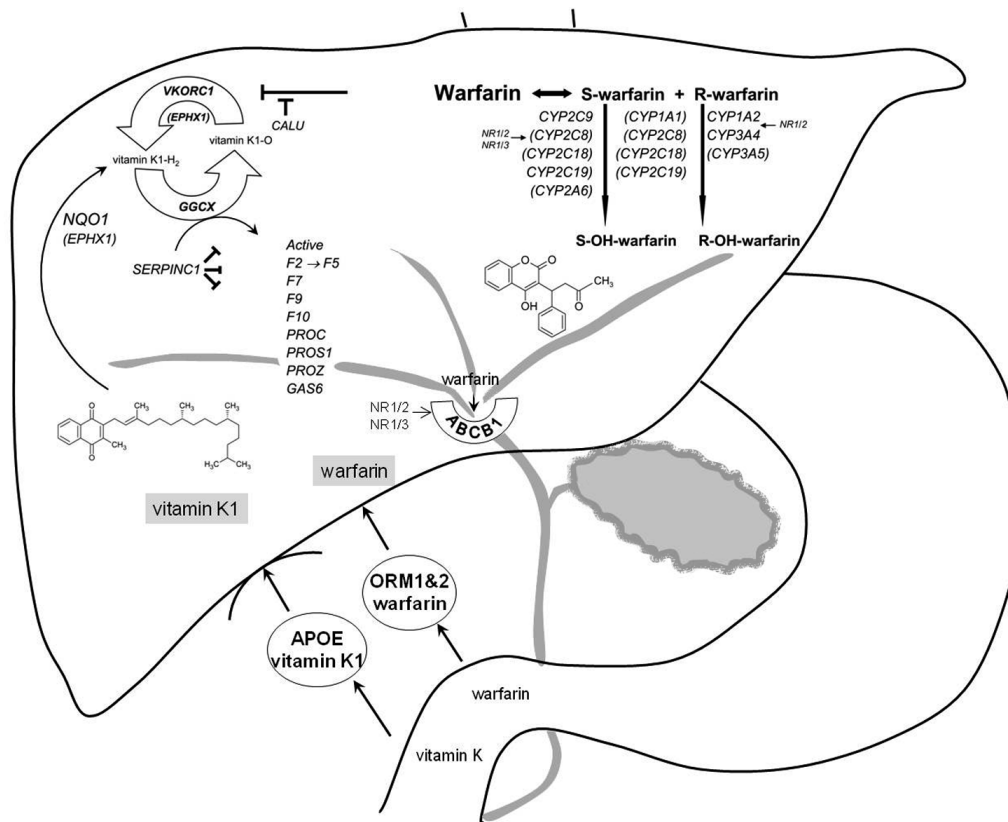
v podstatně menší míře podílejí na biotransformaci S-warfarinu a polymorfismy gama-glutamylkarboxylázy (GGCX) či apolipoproteinu E (ApoE) [5].

Intraindividuální variabilita je částečně ovlivňována vnějšími faktory, např. stravou obsahující vitamin K, souběžnou medikací, neboť řada léků je biotransformována shodnými izoenzymy cytochromu P450 (např. amidaron, některá nesteroidní antirevmatika, omeprazol či statiny), věkem, pohlavím, tělesnou hmotností a komorbidity – především onemocněním jater [7–9].

Výzkum věnovaný izoenzymům cytochromu P450 CyP2C9 a enzymu VKORC1 probíhá zhruba 10 let. V roce 1999 Aithal et al. první ukázali na to, jak důležitou roli hrají genetické komponenty [10]. V retrospektivní studii zahrnující 36 léčených pacientů poukázali na důležitost cytochromálních izoenzymů CyP2C9\*2 a \*3, které souvisejí s výrazně nižšími terapeutickými dávkami warfarinu na rozdíl od tzv. „wild“ typu izoenzymu CyP2C9\*1.

V roce 2004 D'Andrea et al. prokázali souvislost mezi rozdílnými polymorfismy genu ovlivňujícího VKORC1 a farmakodynamikou jednotlivých kumarinů (warfarinu a acenokumarolu) [11].

Studie probíhající v různých zemích světa potvrzují i značné rasové rozdíly [12, 13]. Varianty nejčastěji se



**Fig. 1.** An overview of warfarin interactive pathways

This figure illustrates the genes thought to be involved in the action and biotransformation of warfarin and vitamin K (according [6]).

vyskytujících cytochromálních izoenzymů v evropské populaci jsou CyP2C9\*2 a \*3. CyP2C9\*2 (A114C) redukuje clearance S-warfarinu a snižuje v průměru o 17–19 % cílovou dávku chronicky užívaného léku. Isoenzym CyP2C9\*3 (I359L) redukuje clearance S-warfarinu natolik, že cílová dávka warfarinu je o 33–37 % nižší, než je dávka průměrná. 6–10 % problematických dávkovacích schémat je u chronicky warfarinizovaných jedinců způsobeno polymorfismy CyP2C9. Jen tzv. „wild“ alela CyP2C9\*1 zachovává normální metabolismus S-warfarinu. Higashi et al. v několika retrospektivních studiích prokázali, že pacienti s cytochromálními izoenzymy CyP2C9\*2 a \*3 byli léčení warfarinem podstatně kratší dobu do objevení se závažných a život ohrožujících krvácivých komplikací než nemocní s „wild“ typem CyP2C9\*1 [14]. Stejně izoenzymy byly prokázány u americké židovské populace Sephardi Jewish. U židovské populace Ashkenazi byly naopak predikovány formy odpovídající rezistenci na warfarin [15].

Jiné polymorfismy cytochromálních izoenzymů, např. CyP2C9\*5, \*6 a \*11, také výrazně redukují cílovou dávku warfarinu, jsou časté u africké populace (méně u populace afroamerické) a naopak velmi řídké u populace evropské, kavkazské a asijské [5, 16].

Vlastní antikoagulační efekt (senzitivita) warfarinu je vyvolán inhibicí vitamin K-epoxid reduktázy (VKORC1). Warfarin způsobí katalytické štěpení subjednotky 1, která je nezbytná pro regeneraci vitaminu K. VKORC1 ovlivňuje gama-karboxylaci zbytků kyseliny glutamové K-dependentních koagulačních faktorů (FII, FVII, FIX, FX) a přirozených inhibitorů koagulace – proteinu C a

proteinu S. Nedojde-li ke gama-karboxylaci zbytků kyseliny glutamové, koagulační faktory zůstávají neúčinné.

Od zjištění významu VKORC1 při léčbě kumarinovými antikoagulancii v roce 2004 byla již objevena celá řada polymorfismů a haplotypů, které jsou pevně svázány s očekávanou odpovědí na warfarin. Poslední výzkumy ukazují, že mutace 1639G→A v promotorové oblasti genu, známá u evropské populace, redukuje expresi VKORC1 v játrech a tím snižuje potřebnou dávku warfarinu. Ale i polymorfismus 6853 G→C predikuje nižší dávku warfarinu u chronicky léčených pacientů. Přinejmenším u asijské a kavkazské populace korelují tyto polymorfismy navzájem. Také VKORC1 1173 C→T (zjišťována především u americké populace) se vyskytuje u pacientů senzitivních na léčbu s predikcí až o 25 % menších cílových dávek k dosažení optimálního rozmezí INR. Naopak jiné missense mutace VKORC1 predikují rezistenci na warfarin [6, 18].

V posledních letech proběhla celá řada randomizovaných prospektivních studií. Jedna z posledních [19] vedla k závěru, že ani znalost farmakogenetiky nepřinese významný rozdíl v poměru mezi krvácivými a trombotickými komplikacemi. Částečně proti této zkušenosti stojí studie Caracaova, která prokázala (na relativně malém vzorku 191 respondentů) závislost mezi farmakogenetikou a farmakokinetikou – rychlostí dosažení terapeutického rozmezí, optimálního INR a udržení optimálního léčebného rozmezí bez krvácivých komplikací [20].

I ve světle těchto nejednoznačných výsledků vyvíjejí komerční firmy stále nová diagnostika ke stanovení jednotlivých izoenzymů. FDA (Food and Drug Admini-

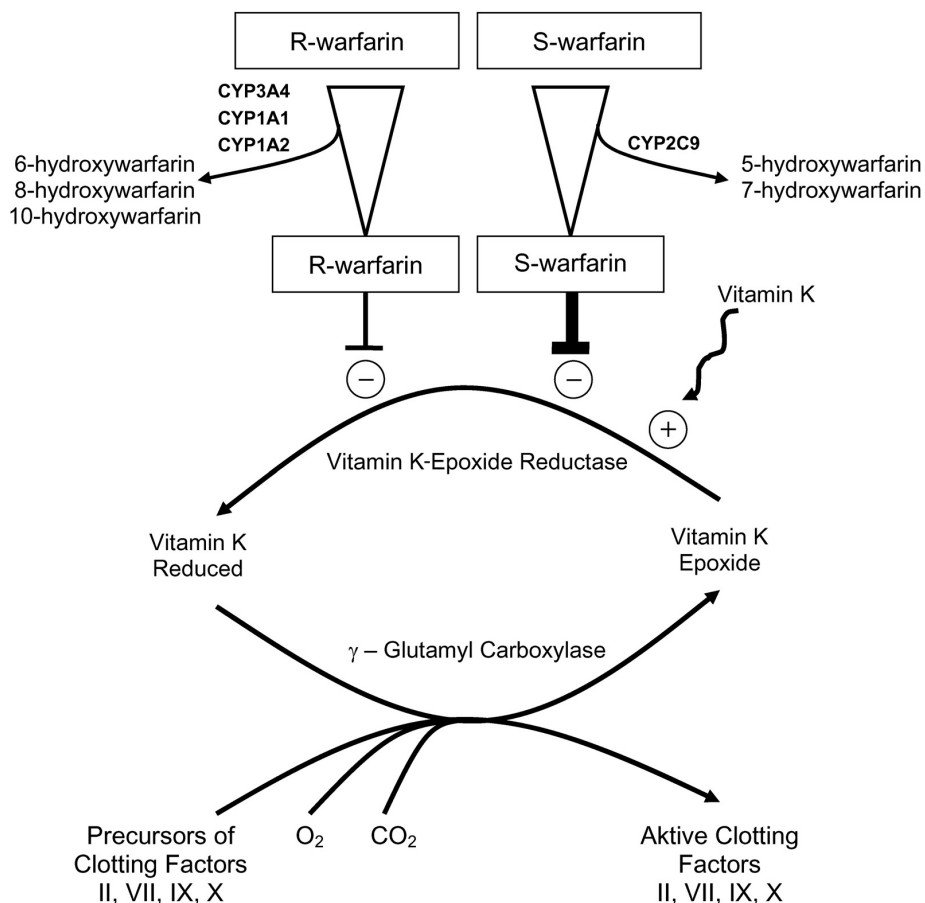


Fig. 2. Genetic determinant of dose and clinical outcomes in patients receiving oral anticoagulants (according [17])

stration) nejenže vydává licence těmto firmám, ale doporučuje, aby v příbalových letáčích byly informace o tom, že cytochromální izoenzymy CyP2C9\*2 a \*3 znamenají zvýšené riziko krvácivých komplikací. Také výstupy 8. konference amerických plicních lékařů (American College of Chest Physicians) se věnují léčbě warfarinem. Na základě dosud známých skutečností nedoporučují před zahájením léčby warfarinem rutinní farmakogenetické testování (stupeň doporučení 2C) [21].

I přesto vydali američtí autoři guidelines farmakogenetického testování [1] – algoritmus:

pacient byl již léčen warfarinem  $\xrightarrow{\text{ano}}$  genetické testování  
 ne ↓ neprovádět

genetické testování není dosažitelné před 4. dávkou  $\xrightarrow{\text{ano}}$  genetické testování  
 ne ↓ neprovádět

pacient s nízkým rizikem krvácení při stoupajícím INR  $\xrightarrow{\text{ano}}$  genetické testování  
 ne ↓ neprovádět

nabídnout možnost farmakogenetického testování CyP2C9 a VKORC1

Dosud není zodpovězena celá řada otázek, které se farmakogenetického testování týkají. Objevují se stále nové práce pro i proti. Především komerční firmy a laboratoře testování jednoznačně podporují, klinické

zkušenosti nejsou jednoznačné. Objevily se studie, v nichž je doloženo, že u nemocných se známým genotypem došlo při rychlé elevaci INR k minimu závažných krvácivých komplikací [20], jiné práce tuto zkušenost vyvracejí.

V současné době byla založena skupina zabývající se objasněním a optimalizací antikoagulační léčby s ohledem na farmakogenetiku (Clarification of Optimal Anticoagulation through Genetics – COAG), která má za úkol navrhnout strategii optimálního dávkování a eventuální optimalizaci farmakogenetického testování.

V posledních letech se na trhu rychle objevují nová antitrombotika působící přímo na cílové koagulační faktory (přímé inhibitory FII, FX a jiná). Lze předpokládat, že v průběhu dalšího desetiletí (stejně dlouhá doba uplynula od první publikace o farmakogenetice warfarinu) bude léčba warfarinem i dalšími kumarinovými antikoagulanty výrazně omezena a výrazně menší význam bude mít i farmakogenetické testování týkající se warfarinu. Otázka testovat ano či ne zůstane zřejmě pozapomenuta.

Použité zkratky:

TEN – tromboembolická nemoc  
 INR – International Normalized Ratio – normalizovaný tromboplastinový poměr  
 CyP 450 – cytochrom P450  
 CyP2C9 – cytochromální izoenzym 2C9  
 VKORC1 – Vitamin K-epoxide reductase complex subunit 1 – vitamin K-epoxid reduktáza subjednotka 1

FDA – Food and Drug Administration  
ACCP – American College of Chest Physicians  
(Americká společnost plicních lékařů)

## Literatura

1. **Thacker, S. M., Grice, G. R., Milligan P. E., Gage B. F.** Dosing anticoagulant therapy with coumarin drugs: is genotyping clinically useful? Yes. *J. of Thrombosis and Haemostasis*, 2008, 6, p. 1445–1449.
2. **Bodin, L., Verstuyft, C., Tregouet, D. A. et al.** Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K-epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood*, 2005, 106, p. 135–141.
3. **Sconse, E. A., Khan, T. I., Šibne, H. A., Avery, P. et al.** The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirement: proposal for a new dosing regimen. *Blood*, 2005, 106, p. 2329–2333.
4. **Kessler, P.** Farmakogenetika warfarinu. Doporučení pro klinickou praxi. Vydáno 16. 3. 2006 u příležitosti konání XII. Pařížkových dní.
5. **Suman, L., Srinivasa, R., Xiaoqui, X., Wan-Teck, Lim, E. J., Balram, Ch.** Pharmacogenetics of Target Genes Across the Warfarin. *Pharmacological Pathway. Clin. Pharmacokinet.*, 2006, 45, p. 1189–1200.
6. **Wadelius, M., Pirmohamed, M.** Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. *Pharmacogenomics J.*, 2007, 7, p. 99–111.
7. **Levine, M. N., Raskob, G., Landefeld, S., Kearon, C.** Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. *Chest*, 1998, 114, p. 511S–523S.
8. **Mannucci, P. M., Spreafico, M., Peyvandi, F.** Dosing anticoagulant therapy with coumarin drugs: is genotyping clinically useful? No. *J. of Thrombosis and Haemostasis*, 2008, 6, p. 1450–1452.
9. **Hamman, M. A., Thompson, G. A., Hall, S. D.** Regioselective and stereoselective metabolism of ibuprofen by human cytochrome P450 2C. *Biochem. Pharmacol.*, 1997, Jul 1, 54, p. 33–41.
10. **Aithal, G. P., Day, C. P., Kesteven, J. L., Daly, A. K.** Association of polymorphism on the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*, 1999, 353, p. 717–719.
11. **D'Andrea, G., D'Ambrosio R. L., Di Perna, P., Chetta, M., Santacroce, R. et al.** A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*, 2005, 105, p. 645–649.
12. **Takahashi, H., Wilkinson, G. R., Nutescu, E. A., Morita, T. et al.** Different contributions of polymorphisms in VKORC1 and CYP2C9 to intra- and inter-population differences in maintenance dose of warfarin in Japanese, Caucasians and African-Americans. *Pharmacogenet. Genomics*, 2006, 16, p. 101–110.
13. **Tham, L. S., Goh, B. C., Nafziger, Guo, J. Y., Wang, L. Z. A.** A warfarin-dosing model in Asians that uses single-nucleotide polymorphisms in vitamin K-epoxide reductase complex and cytochrome P450 2C9. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2006, 80, p. 346–355.
14. **Higashi, M. K., Veenstra, D. L., Kondo, L. M. et al.** Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002, 287, p. 1690–1698.
15. **Stuart, A., Scott, Edelmann L. et al.** Warfarin Pharmacogenetics: CYP2C9 and VKORC1 Genotypes predict Different Sensitivity and Resistance Frequencies in the Ashkenazi and Sephardi Jewish Populations. *American J. of Human Genetics*, 2008, 82, p. 495–500
16. **Uffer, M.** Comparative Pharmacokinetics of Vitamin K Antagonists. Review Article. *Clin. Pharmacokinet* 2005, 44, p. 1227–1245.
17. **Schwarz, U. I., Stein, C. M.** Genetic determinants of dose and clinical outcomes in patients receiving oral anticoagulants. *Clin. Pharmacol Ther.*, 2006, 80, p. 7–12.
18. **Harrington, D. J., Underwood, S., Morse, C., Shearer, M. J. et al.** Pharmacodynamics resistance to warfarin associated with a Va166Met substitution in vitamin K-epoxide reductase complex subunit 1. *Thromb. Haemost.*, 2005, 93, p. 23–26.
19. **Anderson, J. L., Horne B. D., Stevens, S. M., Grove, A. S. et al.** Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation*, 2007, 116, p. 2563–2570.
20. **Caracao, Y., Blotnic, S., Muszkat, M.** CYP2C9 genotype-guided warfarin prescribing enhances the efficacy and safety of anticoagulation: a prospective randomized controlled study. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 2008, 83, p. 460–470.
21. **Hirsh, J., Guyatt, G., Albers, G. W., Harrington, R., Schünemann, H. J.** Executive Summary. American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines. (8th Edition). *Chest*, 2008, 133, p. 71S–109S.

Do redakce došlo 10. 5. 2009.

Adresa pro korespondenci:  
MUDr. Jitka Šlechtová  
ÚKBH LF UK a FN v Plzni  
Alej Svobody 80  
304 60 Plzeň  
e-mail: slechtova@fnplzen.cz