

# Warfarin a farmakogenetika

Matýšková M., Čech Z.

Oddělení klinické hematologie, Fakultní nemocnice Brno

## SOUHRN

Antikoagulační léčba warfarinem a dalšími deriváty dikumarolu vykazuje významnou interindividuální i intraindividuální variabilitu. Potřebná dávka warfarinu z velké části závisí i na vrozených dispozicích každého jedince. Dávku prokazatelně ovlivňují genetické varianty cytochromu P450 2C9 (*CYP2C9*) a reduktázy epoxidu vitamínu K (*VKORC1*). Ovlivnění dalšími polymorfismy je předmětem výzkumu. Zdá se, že zahrnutí výsledků genetického testování do algoritmů pro výpočet potřebné úvodní dávky warfarinu by mohlo být přínosem. Podobně znalost polymorfismů může upozornit na pacienty s vysokým rizikem předávkování a tím i krvácivých komplikací. Dosud to však není jednoznačně prokázáno.

**Klíčová slova:** warfarin, farmakogenetika, *CYP2C9*, *VKORC1*.

## SUMMARY

**Matýšková M., Čech Z.: Warfarin and pharmacogenetics**

Sensitivity to anticoagulation treatment by warfarin shows a wide inter-individual and intra-individual variability. The proper warfarin dose also depends largely on inherited predispositions. The dose is significantly influenced by genetic variants of cytochrome P450 2C9 (*CYP2C9*) and vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*). Other possible polymorphism effects are under investigation. It seems that including genetic testing into algorithms for calculating of the required warfarin dose could be beneficial. Similarly, knowledge of polymorphisms could alert us to patients with a high risk of overdosing and bleeding complication. If there is a benefit of genetic testing remains controversial till now.

**Key words:** warfarin, pharmacogenetic, *CYP2C9*, *VKORC1*.

## Úvod

Když za podpory společnosti Wisconsin Alumni Research Foundation izolovali Link et al. dikumarol a v roce 1941 získali patent na jeho syntézu, nikdo netušil, že se jeden z derivátů stane jedním z nejužívanějších léků v medicíně [23]. Warfarin (W) byl poprvé uveden na trh v roce 1948 jako prostředek na hubení hlodavců, použití v medicíně nebylo cílem jeho vývoje. Jako lidské antikoagulans byl schválen v roce 1954 a jako jeden z prvních pacientů z něj profitoval americký prezident D. Eisenhower. Chemicky se jedná o 4-hydroxykumarin.

Dávka warfarinu potřebná k dosažení terapeutické hladiny je velmi individuální a závisí na řadě faktorů jednak vrozených, jednak získaných (použitý typ preparátu – generika; věk, výška a hmotnost jedince; složení stravy; užívané léky, popř. aktuální onemocnění). Známé jsou také rozdíly v potřebné dávce v závislosti na rase, kdy Afričané mají vyšší dávky než kavkazská populace, a naopak Číňané a Japonci dávky nižší [18].

Warfarin se po podání prakticky kompletně vstřebává ze žaludku, v plazmě se váže na albumin. Je metabolizován v játrech pomocí mikrozomálního systému enzymů cytochromu P450. Jako kompetitivní inhibitor vitamín-K-2,3 epoxid reduktázy potlačuje regeneraci redukováného vitamínu K (VK). VK je kofaktor gama-karboxylace zbytků karboxyglutámové kyseliny proteinů na kyselinu gama-karboxyglutámovou, která je nezbytná pro správnou funkci všech, na vitamínu K závislých proteinů včetně hemostatických faktorů [5].

Warfarin jako racemická směs obsahuje dvě izofomy R a S. Navzájem se liší rychlostí metabolismu a účinností (S je 3krát účinnější). S je metabolizován *CYP2C9*

(a *CYP2C8*) a vylučován žlučí, zatímco R je metabolizován vedle *CYP2C19* a *CYP2C8* hlavně *CYP1A2*, *CYP3A4* (a *CYP1A1*) a vylučován močí [4, 34].

Jednotlivé deriváty dikumarolu (acenokumarol, warfarin, fenoprokumon) se neliší svým účinkem v cyklu VK. Významně rozdílný je jejich poločas a způsob metabolizování u fenoprokumonu – 40 % je vylučováno nezměněno, tj. ovlivnění CYP polymorfismy je minimální, zbytek je metabolizován *CYP2C9* a *CYP3A4* [5].

## Vrozené faktory

Z vrozených faktorů, které mohou působení warfarinu ovlivňovat, se podle současných znalostí uplatňují nejvíce polymorfismy enzymu *CYP2C9*, které ovlivňují farmakokinetiku a *VKORC1* působící na farmakodynamiku [14].

## Cytochrom P450

Cytochrom P450 zahrnuje skupinu enzymů (superfamílie), jejichž společným znakem je obsah molekuly hemu. Většina z nich se nalézá v játrech, jinak např. v tenkém střevě, plicích, ledvinách, kůži. Jejich funkcí je biotransformace endo- i exogenních látek. Aktivita jednotlivých enzymů je velmi variabilní a závisí na spolupůsobení vrozených a řady získaných faktorů. Vlastní enzymy se označují CYP a dělí se na rodiny (arabská číslice), podrodiny (velké písmeno) a konkrétní enzym (číslice) [15].

Ze čtyř izoenzymů z podrodiny *CYP2C*, které se nalézají u lidí, jsou pro metabolismus warfarinu (a řady dalších léčiv) důležité především *CYP2C9* (S-warfarin). Z 34 dosud popsáných hlavních alel genu *CYP2C9* ovlivňují účinnost warfarinu především dvě – *CYP2C9\*2* (záměna C430T

v exonu 3 – Arg144Cys) a *CYP2C9\*3* (záměna A1075C v exonu 7 – Ile359Leu). In vitro má *CYP2C9\*1* normální enzymatickou aktivitu, zatímco varianta *CYP2C9\*2* vykazuje aktivitu kolem 12 % a *CYP2C9\*3* enzymatickou aktivitu < 5 % [1]. Výskyt těchto polymorfismů vykazuje výraznou rasovou závislost [12]. Fenotypickým projevem je snížená clearance léků závislých na *CYP2C9* [30].

Nově bylo popsáno i ovlivnění warfarinu *CYP4F2* (rs2108622; V433M) v kavkazské populaci. Dávka warfarinu se liší o cca 1 mg/den u nositelů CC a TT alel. Byl pozorován vzestup dávky warfarinu o 4–12 % na den a T alelu. Fyziologická role *CYP4F2* v cyklu vitamin K/warfarin je ale dosud neznáma. I u tohoto polymorfismu jsou rozdíly v prevalenci v závislosti na rase [6].

### Vitamin K epoxid reduktáza

Důležitá složka cyklu metabolismu K-vitaminu „Vitamin K epoxid reduktáza multiproteinový komplex“ (VKOR) byl identifikován r. 1974. Avšak teprve o 30 let později byl nalezen a popsán jeho gen „Vitamin K epoxid Reductase Complex subunit 1“ = *VKORC1* [17, 26], který je lokalizován na 16 chromozomu, a na chromozomu 1 a X byly identifikovány dva pseudogeny. Prakticky současně byly popsány i mutace v tomto genu, které mohou být zodpovědné jak za vrozený krvácivý stav při mnohočetném defektu koagulačních faktorů („vitamin K-dependent clotting factor deficiency“ – VKCFD2), tak i rezistenci na warfarin [26]. Následně byly identifikovány dva běžné polymorfismy 1173C>T v intronu 1 a 3730G>A v 3' nepřepisované oblasti [8], které ovlivňují warfarinizaci.

V roce 2005 publikovali Rieder et al. retrospektivní studii jedinců na dlouhodobé orální antikoagulační léčbě (OA) se záměrem zjistit vliv haplotypů *VKORC1* na dávku warfarinu [25]. Identifikovali 28 SNP („single nukleotid polymorfism“ – polymorfismus jednoho nukleotidu), z nichž bylo 10 „běžných“ (prevalence více než 5%), které rozdělili do devíti haplotypů, pět z nich bylo přítomno ve více než 5 % primárních vzorků – H1, H2, H7, H8, H9. Podle potřebné dávky warfarinu byly identifikovány: skupina A (H1, H2) a skupina B (H7, H8, H9). Z toho H7 a H9 mají potřebu vysoké dávky warfarinu. Haplotyp A/A znamená nízkou dávku warfarinu 2,7 ± 0,2 mg/den; haplotyp A/B dávku 4,9 ± 0,2 mg/den a haplotyp B/B 6,2 ± 0,3 mg/den. Tyto dvě skupiny haplotypů zodpovídají asi za 25 % variací v OA. U Asiátů a Američanů je vyšší zastoupení haplotypů ze skupiny A, u afrických Američanů skupina B.

Podobně Geisen et al. vyšetřili 200 dárců krve a vytvořili kompletní mapu jednonukleotidových polymorfismů genu *VKORC1* [11]. Identifikovali 3 hlavní haplotypy, které korelují s variabilitou odpovědi na warfarin, a to nejen interindividuální, ale také interetnickou. Nalezli 28 SNP z toho 25 v tzv. nekódující oblasti. Šest z nich tvoří tři hlavní haplotypy, které jsou zastoupené u 99 % kavkazské populace. *VKORC1\*2* (haplotyp A) je přítomen u 42 % Evropanů, 98 % Čiňanů, ale jen 14 % Afroameričanů a zahrnuje i SNP 3673 G>A. Tento haplotyp má mRNA sníženou na 30 % aktivity, která je běžná u „wild type“. Jeho nositelé potřebují pouze nízkou dávku warfarinu. Haplotyp se dále dělí dle dvou hlavních SNP na *VKORC1\*2A* (prevalence cca 12%) a *VKORC1\*2B* (30%). Druhý haplotyp *VKORC1\*3* (B) byl identifikován u 38 % Evropanů a dělí se na *VKORC1\*3A* až

*3F.VKORC1\*4* (C) je asi u 20 % Evropanů, u Čiňanů nebyl nalezen a má dva podtypy 4A a 4B. Ostatních 14 SNP je přítomno vzácně. Asociaci výše zmíněných haplotypů ve vztahu k dávce OA ověřili u 50 osob, které nebyly nositelé mutace pro zvýšenou citlivost či rezistenci na OA v kódovací oblasti *VKORC1*. Ve skupině se zvýšenou citlivostí na OA bylo 93 % homozygotů *VKORC1\*2* – dávka fenoproduktu byla pod 6 mg/týden, žádný pacient nebyl ani částečně rezistentní na OA. 86 % osob s částečnou rezistencí na OA bylo homozygoty pro ne-*VKORC1\*2*. *VKORC1\*1* byl nalezen pouze u Afričanů.

Prevalence *VKORC1* SNP 3673 G>A v populaci je udávána pro genotyp GG – 25 % s průměrnou dávkou warfarinu 6,7 mg/den, pro GA – 56 % s průměrně 4,2 mg/den a střední citlivostí na warfarin. Genotyp AA se vyskytuje v 19 %, jeho nositelé jsou velmi citliví na warfarin (enzym je málo aktivní) a průměrná dávka warfarinu bývá 2,7 mg/den [27].

Nejčastěji se v současnosti testuje *VKORC1* na přítomnost SNP 3673 G>A a 7566 C>T.

### Další faktory

Předpokládá se výskyt mnoha dalších polymorfismů SNP, které mohou účinnost warfarinu ovlivňovat (tab. 1). Retrospektivní studie, která testovala cca 550 tisíc SNP genů, potvrdila jako primární genetické determinanty léčby *CYP* a *VKORC1*, které dohromady mohou vysvětlit 45–55 % celkové variace dávky warfarinu. Upozornila také na řadu dalších polymorfismů, které mají vztah k warfarinu, většinou se ale nezdají být klinicky významné [7]. Práce z roku 2006 upozorňuje na mutaci v genu pro kalumenin, která významně zvyšuje potřebnou dávku warfarinu [33].

**Table 1.** Polymorphisms of genes which can influence warfarin (W) metabolism

#### Cytochrome P450 – CYP2C9

- *CYP2C2*, *CYP2C3*
- *CYP2C19*; *CYP1A2*; *CYP3A5* (does not influence warfarin dose)
- *CYP4F2*

#### VKORC1

##### ABCB1 (multidrug resistance gene 1)

- Variant 3435T in exon 26
- Increased occurrence in subjects with low W dose

##### gamma-glutamyl carboxylase (GGCX)

- carboxylation of vitamin K – dependent proteins
- Polymorphisms also influence W dosing

##### Factor IX – Mutations in propeptide FIX

##### Apolipoprotein E (APOE)

- Important role in vitamin K intake
- W dose can be influenced in carriers of E4 allele

##### Calumenin

- Ca<sup>2+</sup> binding protein of endoplasmic reticulum
- Influenced the transfer of reduced vitamin K

##### Microsomal epoxide hydrolase (EPHX1)

- Component of the VKOR complex in v endoplasmic reticulum
- Polymorphism of Y113H is associated with a high initial dose of W

##### Polymorphisms of vitamin K – dependent factors

- Factor II
- Factor VII

**Gama-glutamyl karboxyláza (GGC)** je klíčový enzym, který se podílí na karboxylaci na vitamínu K závislých proteinů a má významný vliv na řádnou funkci na VK závislých faktorů. Mutace v genu *CGC* jsou popsány u *VKCFD1*. Jeho polymorfismy také ovlivňují dávkování warfarinu, dávka má stoupající tendenci v závislosti na počtu mikrosatelitů (opakující se sekvence) v intronu 6 [29, 34].

**Na vitamínu K závislé faktory** – polymorfismy faktorů II a VII jsou také dávány do souvislosti s ovlivněním OA, většinou ve smyslu snížené citlivosti na warfarin [29, 34].

**Faktor IX** – mutace faktoru IX jsou příčinou vrozené krvácivé choroby hemofilie B. Méně je známo, že byly nalezeny i mutace v propeptidu FIX, jejichž nositelé jsou normálně bez potíží. Pokud je však nasazen warfarin, dochází k výraznému (disproporcionálnímu) poklesu FIX na 1–3 %, zatímco ostatní K-dependentní faktory zůstávají na hladině kolem 30–40 %. Dosud jsou popsány dvě různé „missence“ mutace, které mají za následek sníženou afinitu karboxylázy k prekursoru FIX. Prevalence tohoto defektu se v populaci odhaduje na < 1,5 %. V důsledku selektivní přecitlivělosti FIX se výrazně zvyšuje náchylnost těchto osob ke krvácení při podávání warfarinu. Laboratorně u těchto jedinců nalézáme prodloužení aktivovaného parciálního trombotoplastinového času (APTT), které neodpovídá stupni warfarinizace [13, 22].

## Klinické využití genetického testování

Klinicky se přítomnost polymorfismů *CYP2C9* projevuje zvýšenou citlivostí na warfarin. Jejich nositelé mají nižší potřebnou dávku nutnou k dosažení a udržení terapeutického rozmezí, potřebují delší čas k dosažení stabilní dávky warfarinu. Dochází ke snadnému předávkování nejen při zahájení antikoagulace a s tím spojenému vyššímu riziku krvácivých komplikací. Je také vyšší riziko předávkování v důsledku interakcí s léky metabolizovanými a/nebo reagujícími s *CYP2C9*. Zdá se, že tyto polymorfismy zvyšují riziko krvácení nezávisle na hodnotě INR. Typickým projevem je také nestabilita antikoagulační terapie a delší přetrvávání antikoagulačního efektu po vysazení léčby [1, 12, 20].

Polymorfismus *VKORC1* má význam pro stanovení požadované dávky OA, pro kolísání dávky nemá tak velký význam jako SNP *CYP2C9* [20]. *VKORC1* haplotyp A/A má v porovnání s non-A (dělení podle Riedera) kratší čas do dosažení PT INR v terapeutických mezích a kratší dobu do dosažení INR nad 4. Oproti tomu *CYP2C9* není významným prognostickým faktorem dosažení účinného INR, ale je významný v případě časového intervalu k dosažení INR přes 4. Jak *CYP2C9* genotyp, tak haplotyp *VKORC1* mají významný vliv na potřebnou dávku warfarinu po dvou týdnech podávání. Úvodní kolísání warfarinu je výrazněji sdruženo s *VKORC1* než s *CYP2C9*. Homozygoti pro haplotyp A

jsou významně častěji předávkováni. Polymorfismy obou jsou sdruženy s nižší potřebnou dávkou warfarinu – *VKORC1* od počátku, *CYP2C9* významněji po 28. dni OA. Většina krvácivých příhod se ve sledované skupině objevila v prvních 28 dnech podávání léčby u starších pacientů (medián věku 71 let) [28].

Mutace v genu *VKORC1* mohou být také zodpovědné za tzv. rezistenci na warfarin [18].

V důsledku vysoké variability dávky warfarinu je dlouhodobě snaha o individualizaci léčby a návrh algoritmu pro nasazování a dávkování OA. Zkoumají a kombinují se nejrůznější faktory včetně genetických. Záměrem je navrhnout dávkovací algoritmus, který zahrnuje i farmakogenetiku, a snížit tak na minimum nežádoucí účinky – ať už z důvodů předávkování, poddávkování nebo kolísání léčby. Již před více než 30 lety byla publikována v Lancetu práce Routledge et al., která využívá k předpovědi potřebné dávky warfarinu časné hodnoty INR, a řada dalších následovala [16]. Ukázalo se, že věk hraje v dávce warfarinu významnou roli – bez ohledu na genetiku a výšku osoby klesá jeho potřebná dávka cca o 8–17 % každou dekádu věku [10], tj. cca 0,5–0,7 mg/den na dekádu mezi 20 a 90 lety bez ohledu na genotyp a výšku pacienta [27]. Dále byla prokázána pozitivní korelace mezi dávkou warfarinu a povrchem těla, hmotností a výškou. Z těchto tří má však pouze výška na dávku významný vliv [27]. V této práci je navržen dávkovací model, který zohledňuje vedle věku a výšky i SNP *CYP2C9* (\*2 a \*3 alely) a *VKORC1* (SNP 3673 G>A).

Milican et al. navrhli dávkovací algoritmus s použitím genetických testů pro pacienty po ortopedickém výkonu. Algoritmus dávkování vychází z INR třetí pooperační den (INR<sub>3</sub>), výše první dávky, *CYP2C9*\*2 a *CYP2C9*\*3, *VKORC1* haplotyp A, krevních ztrát v průběhu operace a kouření v současnosti. Zajímavostí je, že alternativní model bez stanovení SNP *VKORC1* měl stejnou výpovědní hodnotu. Je to zřejmě díky první dávce adjustované podle věku, povrchu těla a užívání amiodaronu.

Názory na genetické testování ale dosud nejsou jednotné. Na jedné straně se objevují doporučení na jejich testování, např. doporučení americké FDA [9] nebo práce Thackera et al., která doporučuje farmakogenetické testy pro osoby s vysokým rizikem krvácivých komplikací, pokud mají vysoké INR tak, aby byly výsledky k dispozici do čtvrtého dne podávání OA [32]. Na druhé straně není využití v běžné praxi doporučováno, např. 8<sup>th</sup> ACCP doporučení: „V současnosti, dokud nebudou k dispozici randomizované studie, nedoporučujeme užívání individualizované úvodní dávky OA na základě farmakogenetického vyšetření [3]. Mannucci et al. zatím testování v běžné praxi nedoporučují.

Randomizovaná studie COUMA-GEN, publikovaná v roce 2007, dělila pacienty na dvě skupiny: dávkování určené podle genetického vyšetření oproti standardnímu dávkování (sledování 3 měsíce) [2]. Přestože u pacientů ve skupině podle genetiky se přesněji odhadla potřebná dávka (dosáhli rychleji stabilní dávky s méně četnými a menšími změnami dávky), cíle studie, tj. statisticky významného snížení výsledků INR mimo

terapeutické meze v porovnání s osobami se standardním dávkováním, se nedosáhlo.

Další prospektivní, randomizovaná kontrolovaná studie byla zaměřena pouze na stanovení *CYP2C9* polymorfismů a toto testování doporučuje. Celkově však lze výsledky hodnotit jako kontroverzní, protože řada zúčastněných vystoupila ze studie před jejím ukončením [32].

V největší prospektivní studii zaměřené na farmakogenetiku warfarinu („WARG study“) bylo vyšetřeno celkem 183 polymorfismů z 29 genů 1496 pacientů, u kterých byl tento lék zaváděn. Použitím vícenásobného regresního modelu (multiple regression model) se ukázalo, že 59 % variability v dávce warfarinu je vysvětlitelné polymorfismy *CYP2C9*, *VKORC1* (SNP 3673 G>A a 7566 C>T), věkem, pohlavím a lékovými interakcemi [35]. Závěrem je doporučení využívat farmakogenetiku v úvodu OA.

### Metody stanovení

V současné době jsou na trhu dostupné komerční stripy, které umožňují rychlé, jednoduché stanovení polymorfismů genů *VKORC1*-1639 G>A a *CYP2C9* 430 C>T, *CYP2C9* 1075 A>C za méně než 6 hodin [24]. Princip metodiky spočívá v multiplex PCR a následné reverzní hybridizaci. Při multiplex PCR dochází k amplifikaci příslušných fragmentů DNA. Hybridizace je interakce dvou komplementárních jednořetězcových molekul nukleových kyselin za vzniku dvouřetězcových molekul. V hybridizační reakci se smísí jednořetězcové molekuly PCR produktu, které jsou během amplifikace značeny biotinem, s krátkými alelově specifickými oligonukleotidy (sondami) ukotvenými na stripu, které hybridizují pouze s mutovanou DNA, respektive „wild-type“ DNA. Vizualizaci hybridizovaných sond lze následně detekovat protilátkou proti biotinu.

Ke stanovení polymorfismů lze také použít např. alelově specifickou PCR, amplifikaci produktu s následným restrikcčním štěpením, alelovou diskriminaci a další. Metodiku reverzní hybridizace na stripu lze považovat za nejrychlejší variantu detekce.

### Závěr

Antikoagulační léčba pomocí warfarinu a dalších derivátů dikumarolu je velmi obtížná vzhledem k velmi širokému terapeutickému oknu a výrazné individuální variabilitě odpovědi na tyto preparáty.

Farmakogenetické studie potvrdily významný vliv vrozených polymorfismů na průběh léčby warfarinem. Především polymorfismy v genu *CYP2C9*, zodpovědného za průměrně 12 % variability potřebné dávky *W* a *VKORC1*, který vysvětluje asi 27% kolísání [27, 35]. Spolupůsobí zde ale i řada dalších vrozených dispozic a v neposlední řadě i získané stavy, především lékové interakce a vlastní klinický stav nemocného včetně krvácení v anamnéze. Genetické testování může pomoci klinikům především v úvodu antikoagulační léčby vyvarovat se předávkování a vytipovat pacienty s vysokým rizikem krvácivých komplikací [30]. Jedno-

značné doporučení ke genetickému vyšetřování zatím není dáno, nevyjasněna zůstává zejména ekonomická stránka testování.

### Literatura

1. **Aithal, G. P., Day, C. P., Kesteven, P. D., Daly, A. K.** Association of polymorphisms in the cytochrome P450 *CYP2C9* with Warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet*, 1999, 353, p. 717–718.
2. **Anderson, J. L., Horne, B. D., Stevens, S. M. et al for the Couma-Gen Investigators.** Randomized Trial of Genotype-Guided Versus Standard Warfarin Dosing in Patients Initiating Oral Anticoagulation. *Circulation* 2007, 116, p. 2563–2570.
3. **Ansell, J., Hirsh, J., Hylek, E. et al.** Pharmacology and management of the vitamin K antagonists. *8<sup>th</sup> ACCP Guidelines Chest*, 2008, 133, Suppl, p. 160S–198S.
4. **Becquemont, C.** Evidence for a pharmacogenetic adapted dose of oral anticoagulant in routine medical practice. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 2008, 64, p. 953–960.
5. **Beinema, M., Brouwers, J. R. B. J., Schalekamp, T., Wilffert, B.** Pharmacogenetic differences between warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. *Thromb. Haemost.*, 2008, 100, 6, p. 1052–1057.
6. **Caldwell, M. D., Awad, T., Johnson, J. A. et al.** *CYP4F2* genetic variant alters required warfarin dose. *Blood*, 2008, 111, p. 4106–4112.
7. **Cooper, G. M., Johnson, J. A., Langae, T. Y. et al.** A genome-wide scan for common genetic variants with a large influence on Warfarin maintenance dose. *Blood*, 2008, 112, 4, p. 1022–1027.
8. **D’Andrea, G., D’Ambrosio, R. L., Di Perna, P. et al.** A polymorphism in the *VKORC1* gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of Warfarin. *Blood*, 2005, 105, 2, p. 645–649.
9. FDA 2007 Safety alerts for human medicine products: Warfarin marked as Coumadin. Dostupné na [www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/](http://www.fda.gov/Safety/MedWatch/SafetyInformation/SafetyAlertsforHumanMedicalProducts/).
10. **Gage, B. F., Eby, Ch. Miligan, P. E., Banet, G. A., Duncan, J. R., McLeod, H. L.** Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin. *Thromb. Haemost.*, 2004, 91, p. 87–94.
11. **Geisen, C., Watzka, M., Sittinger, K. et al.** *VKORC1* haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb. Haemost.*, 2005, 94, p. 773–779.
12. **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, 13, p. 1690–1698.
13. **Chu, K., Wu, S.-M., Stanley, T. et al.** A mutation in the propeptide of factor IX Leads to warfarin sensitivity by a novel station. *J. Clin. Invest.*, 1996, 98, 7, p. 1619–1625.
14. **Kessler, P.** Farmakogenetika warfarinu. *Vnitř. Lék.*, 2006, 52, S1, p. 31–34.
15. **Květina, J., Grundmann, M.** Farmakologické interakce. *Klin. farmakol. Farm.*, 2003, 1, p. 17–21.
16. **Lazo-Langner, A., Monkman, K., Kovacs, M. J.** Predicting warfarin maintenance dose in patients with venous thrombo-

- embolism based on the response to a standardized warfarin initiation nomogram. *J. Thromb. Haemost.*, 2009, 7, s. 1276–1283.
17. **Li, T., Chang, C.-Y., Jin, D.-Y., Lin, P.-J., Khvorova, A., Stafford, D. W.** Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature*, 2004, 427, p. 541–544.
  18. **Loebstein, R., Dvoskin, I., Halkin, H. et al.** A coding VKORC1 Asp36Tyr polymorphism predisposes to warfarin resistance. *Blood*, 2007, 109, p. 2477–2480.
  19. **Mannucci, P. M., Spreafico, M., Peyvandi, F.** Dosing anticoagulant therapy with coumarin drugs: is genotyping clinical useful? No. *J. Thromb. Haemost.*, 2008, 6, 9, p. 1450–1452.
  20. **Meckley, L. M., Wittkowsky, A. K., Rieder, M. J. et al.** An analysis of the relative effects of VKORC1 and CYP2C9 variants on anticoagulation related outcomes in Warfarin-treated patients. *Thromb. Haemost.*, 2008, 100, 2, p. 229–239.
  21. **Milican, E. A., Lenzini, P. A., Milligan, P. E. et al.** Genetic-based dosing in orthopedic patients beginning Warfarin therapy. *Blood*, 2007, 110, p. 1511–1515.
  22. **Oldenburg, J., Quenzel, E.-M., Harbrecht, U. et al.** Missense mutations at ALA-10 in the factor IX propeptide: an insignificant variant in normal life but a decisive cause of bleeding during oral anticoagulant therapy. *Br. J. Haematol.*, 1997, 98, p. 240–244.
  23. **Owen, Ch. A.** *A History of Blood Coagulation*. Rochester, Minnesota: Mayo Foundation for Medical Education and Research. 2001, p. 265–266.
  24. **Remková, A.** Farmakogenetický algoritmus stanovení dávky warfarínu. *Interná Med.*, 2008, 8, 6, p. 3–5.
  25. **Rieder, M. J., Reiner, A. P., Gage, B. F. et al.** Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N. Engl. J. Med.*, 2005, 352, p. 2285–2293.
  26. **Rost, S., Fregin, A., Ivaskevicius, V. et al.** Mutation in VKORC1 cause resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*, 2004, 427, p. 537–540.
  27. **Sconce, E. A., Khan, T. I., Wynne, H. A. et al.** The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patients characteristics upon Warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood*, 2005, 106, 7, p. 2329–2333.
  28. **Schwarz, U. I., Ritchie, M. D., Bradford, Y. et al.** Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N. Engl. J. Med.*, 2008, 358, p. 999–1008.
  29. **Shikata, E., Ieiri, I., Ishiguro, S. et al.** Association of pharmacokinetic (CYP2C9) and pharmacodynamic (factors II, VII, IX, and X; proteins S and C; and  $\gamma$ -glutamyl carboxylase) gene variants with warfarin sensitivity. *Blood*, 2004, 103, p. 2630–2635.
  30. **Slanař, O.** Farmakogenetika v klinické praxi. *Farmakoterapie*, 2005, 3, p. 296–298.
  31. **Takahashi, H., Echizen, H.** Pharmacogenetics of CYP2C9 and interindividual variability in anticoagulant response to warfarin. *Pharmacogenomics J.*, 2003, 3, p. 202–214.
  32. **Thacker, S. M., Grice, G. R., Milligan, P. E., Gage, B. F.** Dosing anticoagulant therapy with coumarin drugs: is genotyping clinical useful? Yes. *J. Thromb. Haemost.*, 2008, 6, 9, p. 1445–1449.
  33. **Vecsler, M., Loebstein, R., Almog, S. et al.** Combined genetic profiles of the components and regulators of the vitamin K-dependent  $\gamma$ -carboxylation system affect individual sensitivity to Warfarin. *Thromb. Haemost.*, 2006, 95, p. 205–211.
  34. **Wadelius, M., Chen, L. Y., Eriksson, N.** Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum. Genet.*, 2007, 121, p. 23–34.
  35. **Wadelius, M., Chen, L. Y., Lindh, J. D. et al.** The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting. *Blood*, 2009, 113, p. 784–792.

Do redakce došlo 24. 8. 2009

Adresa pro korespondenci:  
 MUDr. Miloslava Matýšková, CSc.  
 Oddělení klinické hematologie  
 Fakultní nemocnice Brno  
 Jihlavská 20  
 625 00 Brno  
 e-mail: mmatys@fnbrno.cz