

# Znaczenie polimorfizmów genów VKORC1 oraz CYP2C9 dla leczenia przeciwzakrzepowego doustnymi pochodnymi kumaryny — przegląd doniesień

Tomasz Ciurus, Małgorzata Lelonek

Klinika Kardiologii, Katedra Kardiologii i Kardiochirurgii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

## Streszczenie

*Doustne leki przeciwzakrzepowe z grupy pochodnych kumaryny są zalecane w wielu jednostkach chorobowych układu sercowo-naczyniowego. Terapia doustnymi antykoagulantami obarczona jest wysokim ryzykiem powikłań, głównie występowaniem incydentów krwawienia. Dlatego poszukuje się nowych rozwiązań, mających ograniczyć działania niepożądane terapii przeciwzakrzepowej. Wykazano, że istotny wpływ na wielkość dawkowania i częstość występowania powikłań ma polimorfizm genów związanych z metabolizmem leku, CYP2C9 oraz VKORC1. Szacuje się, że u nosicieli alleli CYP2C9\*2 lub CYP2C9\*3 efektywna dawka leku jest 3–4-krotnie mniejsza w porównaniu z osobami z sekwencją genu CYP2C9\*1. Genotyp VKORC1 wiąże się z nadwrażliwością (VKORC1\*2) lub opornością (VKORC1\*3, VKORC1\*4) na kumarynę i wpływa na czas do uzyskania terapeutycznej wartości INR oraz na ryzyko wystąpienia powikłań krwotocznych lub zakrzepowych. Prawdopodobnie w najbliższych latach coraz większe znaczenie będą miały badania genetyczne prowadzone w celu ustalenia dawkowania i określenia indywidualnej wrażliwości chorego na pochodne kumaryny. Jednak niezbędne są dalsze badania, aby wykazać korzyści z takiego postępowania. (Folia Cardiologica Excerpta 2012; 7, 4: 189–193)*

**Słowa kluczowe: antagoniści witaminy K, polimorfizm genów CYP2C9 i VKORC1**

## Wstęp

Doustne leki przeciwzakrzepowe z grupy pochodnych kumaryny są powszechnie stosowane zarówno w Polsce, jak i na świecie. Działanie tych związków wiąże się z hamowaniem zależnej od witaminy K syntezy czynników krzepnięcia zespołu protrombiny (II, VII, IX, X), co przekłada się na silny efekt przeciwzakrzepowy. Wskazania do terapii doustnymi lekami przeciwzakrzepowymi rozszerzyły się i aktualnie są one zalecane m.in. w leczeniu

i zapobieganiu zakrzepicy żył głębokich i zatorowości płucnej, w zapobieganiu powikłaniom zatorowym u pacjentów z migotaniem przedsionków, z patologią zastawek lub po protezowaniu zastawek serca. Terapia pochodnymi kumaryny wymaga monitorowania za pomocą regularnych oznaczeń znormalizowanego wskaźnika aktywności protrombiny (INR, *International Normalized Ratio*). Początkowe pomiary wykonuje się po pierwszych 2 lub 3 dawkach, a następnie po ustaleniu dawki podtrzymującej, nie rzadziej niż co 4 tygodnie. Najmniejsze ryzyko powi-

**Adres do korespondencji:** Lek. Tomasz Ciurus, Klinika Kardiologii, Katedra Kardiologii i Kardiochirurgii, Uniwersytet Medyczny, ul. Sterlinga 1/3, 91–425 Łódź, tel./faks (42) 636 44 71, e-mail: tomaszciurus@interia.pl

kłań stwierdzono przy cotygodniowej kontroli INR [1]. Opieka nad chorymi przyjmującymi przewlekłe leki przeciwzakrzepowe powinna być prowadzona w sposób zorganizowany, obejmując edukację pacjenta, systematyczne pomiary INR oraz regularne wizyty kontrolne [2].

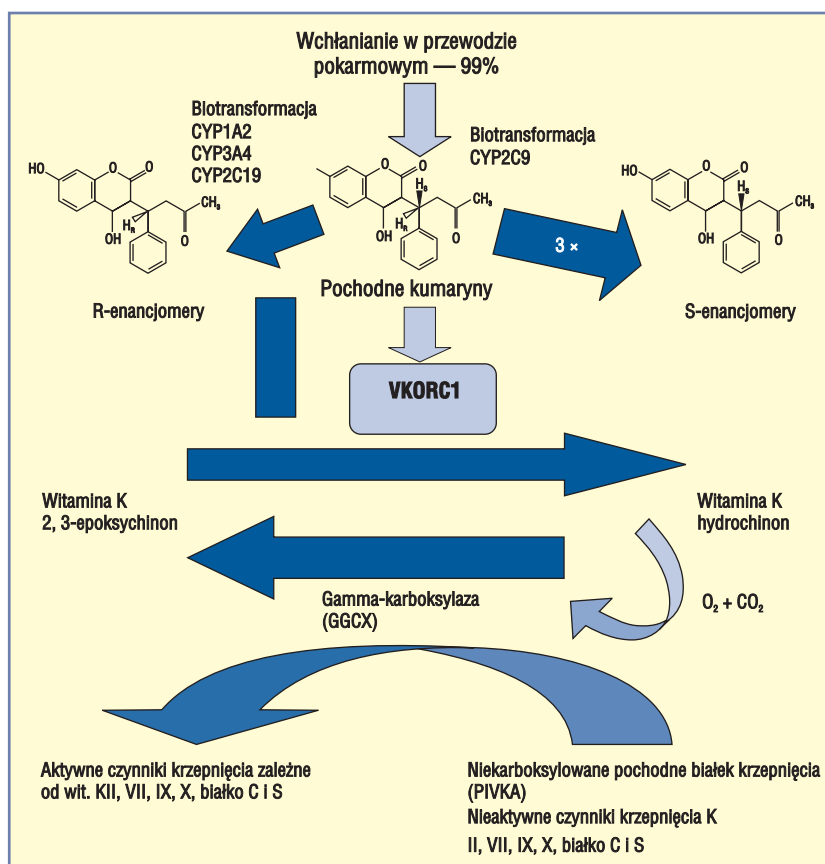
Istniejące algorytmy postępowania, w których uwzględnia się dane kliniczne i demograficzne, wykazały swoją skuteczność w praktyce klinicznej. Wiek, płeć, współistniejące jednostki chorobowe i stosowane leki mają istotne znaczenie w doborze dawki leku. Prawdopodobnie w najbliższych latach coraz większe znaczenie będą miały badania genetyczne prowadzone w celu ustalenia dawkowania i określenia indywidualnej wrażliwości chorego na pochodne kumaryny. Takie postępowanie będzie dotyczyć głównie pacjentów wymagających wieloletniej farmakoterapii. Celem pracy jest przegląd aktualnych doniesień na temat znaczenia wariantów genetycznych CYP2C9 i VKOR1 dla przewlekłej terapii przeciwzakrzepowej doustnymi antykoagulantami.

### Powikłania terapii przeciwzakrzepowej

Terapia doustnymi antykoagulantami jest obciążona wysokim ryzykiem powikłań. Powszechne działania niepożądane (1–10%) to krwawienia. Ogólny odsetek krwawień wynosi około 8% na rok, w tym mniej poważnych krwawień jest 6% rocznie, poważnych 1% a krwawień śmiertelnych około 0,25% w ciągu roku [3]. Podstawowym problemem w tej terapii jest wąski indeks terapeutyczny. Szczególnie trudne są pierwsze dni, w czasie których należy dobrać odpowiednią dla chorego dawkę leku, tak aby uzyskać terapeutyczną wartość INR. U niektórych osób już niewielkie dawki leku powodują znaczne podwyższenie wskaźnika INR, podczas gdy inni wymagają stopniowego zwiększania leku. Wiele wskazuje na to, że za zmienność odpowiedzi na pierwsze dawki leku i wielkość dawki podtrzymującej odpowiedzialne są czynniki genetyczne. Uważa się, że odpowiadają one za około 40–50% zmienności odpowiedzi terapeutycznej na lek. Oczywiście, poza wpływem genów, odpowiedź tę warunkują również czynniki środowiskowe, masa ciała, stan wydolności nerek, wątroby czy wiek chorego. O zmienności odpowiedzi na lek decyduje również równoczesne stosowanie innych leków (tab. 1), a także sam rodzaj preparatu (wzajemne proporcje prawo- i lewoskrętnego enancjomeru — ten drugi wykazuje 2–5 razy silniejsze działanie) [4]. Na świecie najczęściej stosowanym antykoagulantem jest warfaryna. W przeprowadzonych badaniach udowodniono, że podawanie acenokumarolu wiązało się

Tabela 1. Klinicznie istotne interakcje z antagonistami witaminy K

Leki przeciwdrobnoustrojowe	Leki działające na układ sercowo-naczyniowy	Leki przeciwbólowe, przeciwzapalne i immunomodulujące	Leki działające na ośrodkowy układ nerwowy	Leki działające w przewodzie pokarmowym i żywność	Inne leki
<b>Leki zwiększające działanie przeciwzakrzepowe</b>					
Cyprofloksacyna	Amiodaron	Fenylbutazon	Alkohol (jeśli współistnieje choroba wątroby)	Cymetydyna	Steroidy anaboliczne
Erytromycyna	Diltiazem	Kwas acetylosalicylowy	Citalopram	Mango	Miforżab
Flukonazol	Fenofibrat	Paracetamol	Entakapon	Olej rybi	Szałwia
Izoniazyd (600 mg/d.)	Klofibrat	Piroksykam	Sertralina	Sok grejfrutowy	Żeń-szeń
Kotrimoksazol	Propafenon				
Metronidazol	Propranolol				
Mikonazol	Sulfimpyrazon				
Worikonazol					
<b>Leki zmniejszające działanie przeciwzakrzepowe</b>					
Gryzeofulwina	Cholestyramina	Mesalamina	Barbiturany	Awokado (duże ilości)	Suplementy wielowitaminowe
Nafcytyna		Azatiopryna	Karbamazepina	Pokarmy bogate w witaminę K	
Rybawiryna				Zielona sałata	
Ryfampicyna				Kapusta, kalafior, brokuły	



**Rycina 1.** Przemiany witaminy K w wątrobie i ich modyfikacja przez antagonistów witaminy K. Pochodne kumaryny blokują aktywność enzymu VKORC, ograniczając dostępność witaminy K niezbędnej w procesie powstawania aktywnych czynników krzepnięcia krwi, natomiast S-enancjomery ulegają głównie biotransformacji w wątrobie przy udziale cytochromu CYP2C9 [22, 23]

z dwukrotnie wyższym ryzykiem wystąpienia niestabilnej terapii przeciwzakrzepowej w porównaniu z warfaryną [5, 6].

### Warianty genetyczne enzymów układu cytochromu P450

Doustne antykoagulanty podlegają metabolizmowi w wątrobie z udziałem enzymów układu cytochromu P450 (ryc. 1), które są kodowane przez silnie polimorficzny gen CYP2C9 [7]. Obecność allela polimorficznego CYP2C9\*2 (Arg144Cys) lub CYP2C9\*3 (Ile359Leu) istotnie zmniejsza efekt pierwszego przejścia przez wątrobę. Zmniejszenie aktywności enzymu powoduje mniejsze tempo metabolizmu pochodnych kumaryny, wydłużenie okresu półtrwania i zmniejszenie efektywnej dawki leku. Szacuje się, że u nosicieli alleli CYP2C9\*2 lub CYP2C9\*3 efektywna dawka leku jest 3–4-krotnie mniejsza, aby osiągnąć ten sam INR, w porównaniu z osobami z sekwencją genu CYP2C9\*1 [8–10].

U tych nosicieli trudniej osiąga się stabilność dawkowania i większe jest ryzyko powikłań krwotocznych [11]. W metaanalizie 9 badań klinicznych wykazano, że ryzyko wystąpienia krwawienia w czasie stosowania warfaryny jest o 90% większe dla CYP2C9\*2 i o 80% dla CYP2C9\*3 [12]. U osób rasy kaukaskiej częstość występowania allele CYP2C9\*2 i CYP2C9\*3 wynosi odpowiednio 15% i 7% [13]. W innych grupach etnicznych częstość występowania jest znacznie niższa [13].

Indywidualna dawka pochodnych kumaryny zależy także od aktywności enzymu kompleksu reduktazy witaminy K — VKORC1 (*vitamin K epoxide reductase complex subunit 1*) (tab. 2). Geisen i wsp. wyróżnili 3 haplotypy w populacji europejskiej: VKORC1\*2, VKORC1\*3 i VKORC1\*4, determinujące 99% zmienności genetycznej tego enzymu [14]. Obecność polimorfizmu VKORC1\*2 powoduje obniżenie ekspresji genu, co skutkuje mniejszą liczbą cząsteczek enzymu VKORC1 w błonie erytrocytów. Zatem do zablokowania mniejszej liczby cząsteczek

**Tabela 2.** Początkowe dawkowanie warfaryny na podstawie polimorfizmów genów CYP2C9 oraz VKORC1

VKORC1-1639	CYP2C9					
	*1/*1	*1/*2	*1/*3	*2/*2	*2/*3	*3/*3
GG	5–7	5–7	3–4	3–4	3–4	0,5–2
AG	5–7	3–4	3–4	3–4	0,5–2	0,5–2
AA	3–4	3–4	0,5–2	0,5–2	0,5–2	0,5–2

Dawka podana w  $\mu$ /d. Princeton, NJ: Bristol-Myers-Squibb; 2010. [http://packageinserts.bms.com/pi/pi\\_coumadin.pdf](http://packageinserts.bms.com/pi/pi_coumadin.pdf). Accessed May 14, 2010.

enzymu VKORC1 potrzeba mniejszej dawki pochodnych kumaryny. W przypadku haplotypów VKORC1\*1, VKORC1\*3 oraz VKORC1\*4 ekspresja genu wzrasta i w tym przypadku w celu uzyskania terapeutycznej wartości wskaźnika INR potrzeba więcej cząsteczek pochodnych kumaryny.

W populacji amerykańskiej stosuje się nomenklaturę Riedera i wsp. [15], opierającą się na 5 haplotypach podzielonych na 2 grupy: A — haplotypy warfarynowrażliwe (H1 i H2), oraz B — haplotypy warfarynooporne (H7, H8, H9). W przybliżeniu haplotyp A odpowiada haplotypowi VKORC1\*2, natomiast haplotyp B odpowiada haplotypowi VKORC1\*3 i VKORC1\*4 [16].

Podobny wpływ polimorfizmów genu VKORC1 na dawkowanie warfaryny wykazał D'Andrea i wsp. W grupie 147 włoskich pacjentów najczęściej występowały dwa polimorfizmy: 1173C>T w intronie 1 (znany również jako c.174-136C>T, rs9934438) oraz 3730G>A (znany również jako c. \*134g>, rs7294) w regionie 3. Średnia dzienna dawka warfaryny wymagana w celu utrzymania stabilnych wartości wskaźnika INR była większa u pacjentów z polimorfizmem genu VKORC1 1173CC (7,0 mg) niż u pacjentów z polimorfizmem 1173CT (5,1 mg) oraz 1173TT (3,7 mg). W przypadku osób z polimorfizmem genu VKORC1 3730GG dawka warfaryny była istotnie mniejsza niż u nosicieli polimorfizmu 3730AA (6,9 mg) [17].

Z kolei w populacji polskiej udowodniono, że większe zapotrzebowanie na leki przeciwzakrzepowe obserwowano u pacjentów z polimorfizmem VKORC1 –1639G (5,9 mg) niż u chorych mających homozygoty –1639AA (4,1 mg) [18, 19].

Podsumowując, genotyp VKORC1 wiąże się z nadwrażliwością lub opornością na kumarynę i wpływa na czas do uzyskania terapeutycznej wartości INR oraz na ryzyko wystąpienia powikłań krwotocznych lub zakrzepowych.

## Badania kliniczne

Od 2007 roku Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, *Food and Drug Administration*) zaleca korzystanie z badań genetycznych poprzedzających terapię, które pomagają określić początkową dawkę pochodnych kumaryny [20]. Jednak nadal brak praktycznych wskazówek wykorzystania nowych danych. Jednym z pierwszych prospektywnych badań z randomizacją było badanie Andersona i wsp. opublikowane w 2007 roku, w którym wykazano, że stosowanie nowych algorytmów na podstawie oceny polimorfizmów genów pozwoliło lepiej przewidzieć wielkość stabilnej dawki leku oraz zmniejszyć liczbę zmian w jego dawkowaniu. Jednak odsetek wskaźników INR poza zakresem terapeutycznym nie różnił się istotnie pomiędzy grupą badaną a kontrolną (30,7% v. 33,1%) [21, 22]. Skuteczność stosowania wyników testów genetycznych potwierdzono w badaniu *Medco-Mayo Warfarin Effectiveness Study* (MM-WES), w którym oceniono polimorfizm CYP2C9\*1, CYP2C9\*2, CYP2C9\*3 oraz VKORC1 A/A, G/A i G/G [23]. Po opracowaniu statystycznym wyników stwierdzono, że wykonanie testów genetycznych przed włączeniem warfaryny pozwoliło szybciej osiągnąć dawkę podtrzymującą leku oraz zmniejszyć o około 30% liczbę hospitalizacji z powodu wystąpienia krwawienia i/lub incydentu zakrzepowo-zatorowego w ciągu pierwszych 6 miesięcy terapii [23]. W związku z ogłoszeniem wyników badania MM-WES pojawiło się wiele wątpliwości, czy rzeczywiście redukcja w liczbie hospitalizacji wynikała jedynie z przeprowadzenia testów genetycznych, czy może miała związek ze zwiększoną kontrolą tej grupy pacjentów. Niezbędne są dalsze badania w celu potwierdzenia skuteczności indywidualizacji postępowania z pacjentem na podstawie wykonanych testów genetycznych.

## Podsumowanie

Testy genetyczne są nowym narzędziem służącym do poprawy skuteczności leczenia doustnymi pochodnymi kumaryny, a głównym celem jest zmniejszenie liczby powikłań krwotocznych i zakrzepowych w czasie przewlekłej terapii. Jednak badania genetyczne są stosunkowo drogie i mało dostępne, co ogranicza ich wykorzystanie, zwłaszcza w Polsce. Obecnie pozostaje więc ścisła współpraca między lekarzem a pacjentem w celu maksymalnego obniżenia ryzyka działań niepożądanych terapii przeciwzakrzepowej.

## Piśmiennictwo

1. Horstkotte D., Piper C., Wiemer M. Optimal frequency of patient monitoring and intensity of oral anticoagulation therapy in valvular heart disease. *J. Thrombosis and Thrombolysis* 1998; 5: 19–24.
2. Zawilska K., Jaeschke R., Tomkowski W. i wsp. Polskie wytyczne profilaktyki i leczenia żyłnej choroby zakrzepowo-zatorowej, uaktualnienie 2009. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2009; 119 (supl. 1): 1–69.
3. Stehle S., Kirchheiner J., Lazar A., Fuhr U. Pharmacogenetics of oral anticoagulants: a basis for dose individualization. *Clin. Pharmacokinet.* 2008; 47: 565–594.
4. Thijssen H.H., Baars L.G., Vervoort-Peters H.T. Vitamin K 2,3-epoxide reductase: the basis for stereoselectivity of 4-hydroxycoumarin anticoagulant activity. *Br. J. Pharmacol.* 1988; 95: 675–682.
5. Pattacini C., Manotti C., Pini M., Quintavalla R., Dettori A.G. A comparative study on the quality of oral anticoagulant therapy (warfarin versus acenocoumarol). *Thrombosis and Haemostasis* 1994; 71: 188–191.
6. Undas A., Cieśla-Dul M., Zólciniński M., Tracz W. Switching from acenocoumarol to warfarin in patients with unstable anticoagulation and its effect on anticoagulation control. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2009; 119: 360–365.
7. Thijssen H.H., Baars L.G., Vervoort-Peters H.T. Vitamin K 2,3-epoxide reductase: the basis for stereoselectivity of 4-hydroxycoumarin anticoagulant activity. *Br. J. Pharmacol.* 1988; 95: 675–682.
8. Wojtczak A., Skrzętkowicz J. Kliniczne znaczenie polimorfizmu wybranych genów cytochromu P-450: rodziny CYP1, podrodziny CYP2A, CYP2B oraz CYP2C. *Pol. Merk. Lek.* 2009; 153: 248–252.
9. Aithal G.P., Day C.P., Kesteven P.J., Daly A.K. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; 353: 717–719.
10. Sconce E.A., Khan T.I., Wynne H.A. i wsp. 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.
11. Higashi M.K., Veenstra D.L., Kondo L.M. i wsp. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA* 2002; 287: 1690–1698.
12. Sanderson S., Emery J., Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a Hu-GENet systemic review and meta-analysis. *Genet. Med.* 2005; 7: 87–104.
13. Oldenburg J., Bevens C.G., Fregin A., Geisen C., Müller-Reible C., Watzka M. Current pharmacogenetic developments in oral anticoagulation therapy: The influence of variant VKORC1 and CYP2C9 alleles. *Thromb. Haemost.* 2007; 98: 570–578.
14. Geisen C., Watzka M., Sittlinger K. i wsp. VKORC1 haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb. Haemost.* 2005; 94: 773–779.
15. Rieder M.J., Reiner A.P., Gage B.F. i wsp. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 2285–2293.
16. Kamali F., Khan T.I., King B.P. i wsp. Contribution of age, body size, and CYP2C9 genotype to anticoagulant response to warfarin. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2004; 75: 204–212.
17. D’Andrea G., D’Ambrosio R.C., Di Perna P. i wsp. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005; 105: 645–649.
18. Stepień E., Branicka A., Cieśla-Dul M., Undas A. A vitamin K epoxide reductase-oxidase complex gene polymorphism (–1639G>A) and interindividual variability in the dose-effect of vitamin K antagonists. *J. Appl. Genet.* 2009; 50: 399–403.
19. Sconce E.A., Khan T.I., Wynne H.A. i wsp. 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.
20. Wu A.H. Use of genetic and nongenetic factors in warfarin dosing algorithms. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 851–861.
21. Anderson J.L., Horne B.D., Stevens S.M. i wsp. Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation* 2007; 116: 2563–2570.
22. Stepień E., Wypasek E., Branicka A. Optymalizacja leczenia antagonistami witaminy K — rola polimorfizmów genowych. *Kardiologia Polska* 2010; 68: 428–435.
23. Epstein R.S., Moyer T.P., Aubert R.E. i wsp. Warfarin Genotyping Reduces Hospitalization Rates Results From the MM-WES (Medco-Mayo Warfarin Effectiveness Study). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55: 2804–2812.