

Genetyczne aspekty farmakokinetyki i farmakodynamiki klopidogrelu

Genetic aspects of clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics

Ewa Laskowska¹, Aldona Kubica², Jacek Kubica¹

¹Katedra Kardiologii i Chorób Wewnętrznych *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

²Katedra i Zakład Promocji Zdrowia *Collegium Medicum* im. im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Klopidogrel to jeden z leków stosowanych w leczeniu pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi. Jest on metabolizowany do aktywnego metabolitu, który jest nieodwracalnym antagonistą płytkowego receptora P2Y₁₂ zależnego od adenylozynodifosforanu. Odpowiedź farmakokinetyczna i farmakodynamiczna na klopidogrel jest osobniczo zmienna. W pracy przedstawiono przegląd badań służących ocenie związku czynników genetycznych ze skutecznością kliniczną klopidogrelu.

Słowa kluczowe: klopidogrel, agregacja płytek krwi, CYP2C19 polimorfizm, ABCB1 polimorfizm

(Folia Cardiologica 2015; 10, 4: 275–282)

Wstęp

Klopidogrel jest doustnym prolekiem, pochodną tienopirydyny, hamującym agregację płytek krwi zależną od adenylozynodifosforanu (ADP, *adenosine diphosphate*) [1]. Wyniki wielu badań klinicznych wskazują na to, że 5–10% pacjentów nie odpowiada na terapię tym lekiem (ang. *non-responders*), natomiast u 20–40% pacjentów obserwuje się jego niepełne działanie przeciwplateletowe [2–6].

Po raz pierwszy osobniczą zmienność odpowiedzi na klopidogrel opisano w 2002 roku [7]. Zastosowano cytometrię przepływową i oceniano stopień wiązania fibrynogenu do płytek krwi w zależności od stężenia ADP [7]. Oporność na klopidogrel (CR, *clopidogrel resistance*) zdefiniowano jako bezwzględną różnicę między początkową agregacją płytek (%) i agregacją płytek po podaniu leku (%) poniżej 10% [8]. Zahamowanie płytek krwi powyżej 30% przyjęto

za prawidłową reakcję na klopidogrel, natomiast wartości między 10% a 30% uznano za niewystarczającą odpowiedź na lek [2]. Ta definicja, zaproponowana przez Gurbela i wsp. [8], nie jest jednak optymalnym wskaźnikiem efektywności leczenia, ponieważ nie pozwala zidentyfikować pacjentów obciążonych podwyższonym ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych z powodu znacznych międzypersonalnych różnic w początkowej reaktywności płytek krwi przed podaniem leku przeciwplateletowego [9].

Na podstawie analizy wyników wielu badań wypracowano i opublikowano wspólne stanowisko, zgodnie z którym zaproponowano stosowanie określenia „wysoka reaktywność płytek krwi podczas leczenia” (HTPR, *high on-treatment platelet reactivity*) [9]. Zalecono podawanie bezwzględnej wartości reaktywności płytek krwi podczas leczenia, podając punkty odjęcia wartości agregacji płytek krwi w odniesieniu do różnych metod pomiaru [9]. Wysoka reaktywność płytek krwi

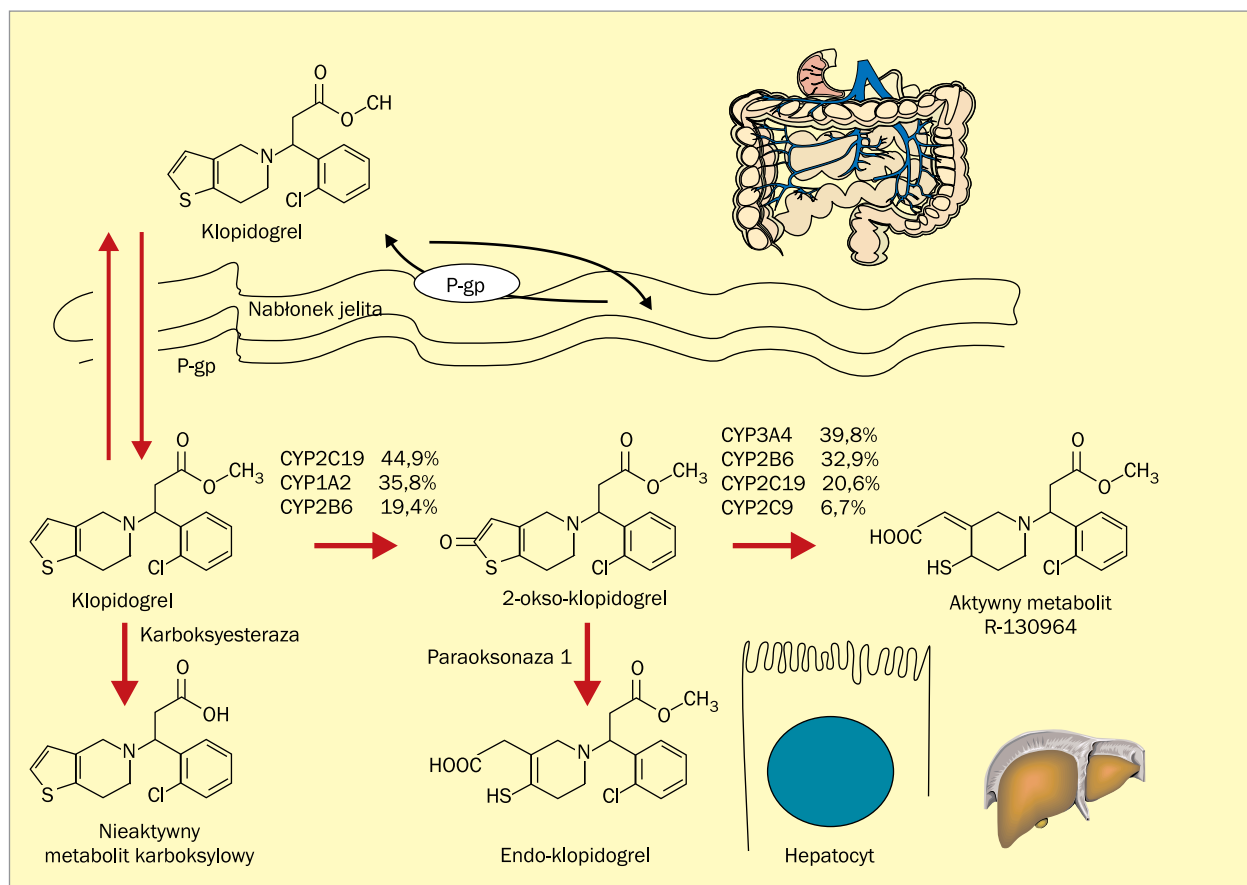
podczas leczenia jest związana ze zwiększonym ryzykiem poważnych niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (MACE, *major adverse cardiac events*) [10].

Międzyosobnicza zmienność odpowiedzi na klopidogrel ma charakter polietiologiczny [11]. Wśród uwarunkowań klinicznych oporności na ten lek wymienia się między innymi: nieregularne przyjmowanie go, otyłość, cukrzycę, insulinooporność, stan zapalny, niewydolność nerek, poziom początkowej aktywacji płytek, interakcję z innymi lekami, czynniki genetyczne [11–15].

Celem tego systematycznego przeglądu piśmiennictwa jest podsumowanie dostępnej wiedzy dotyczącej wpływu czynników genetycznych na antyagregacyjne działanie klopidogrelu oceniane na podstawie klinicznych wykładników skuteczności oraz bezpieczeństwa zastosowanej terapii oraz badania agregacji płytek krwi. Analizowano piśmiennictwo opublikowane od 1 stycznia 2002 roku do 31 grudnia 2014 roku. Przeglądu dokonano w bazach danych *PubMed*, *CENTRAL*, *Google Scholar* i *ClinicalTrials.gov* oraz w streszczeniach prac zaprezentowanych na kongresach *American College of Cardiology* (<http://www.acc.org>), *American Heart Association* (<http://www.aha.org>), *European Society of Cardiology* (<http://www.escardio.org>), *Transcatheter Cardiovascular Therapeutics* (<http://www.tctmd.com>) i *EuroPCR* (<http://www.europcr.com>).

Wchłanianie i metabolizm klopidogrelu

Klopidogrel jest transportowany z przewodu pokarmowego do krwi w około 50% i osiąga maksymalne stężenie w osoczu już w 1. godzinie od podania [16]. Regulacja wchłaniania absorpcji leku z przewodu pokarmowego odbywa się na zasadzie transportu aktywnego, między innymi z udziałem białka transportowego – glikoproteiny P (P-gp) – kodowanej przez gen *ABCB1* [17]. Po przejściu klopidogrelu ze światła jelita do krążenia wrotnego, w 85% ulega on hydrolizie przez osoczowe esterazy (karboksylesterazy 1) do nieaktywnej formy karboksylowej [18, 19]. Pozostałe 15% leku ulega dwuetapowemu przekształceniu w wątrobie, z udziałem enzymów cytochromu P450, do aktywnego metabolitu zawierającego grupę tiolową [20, 21]. W pierwszym etapie klopidogrel jest przekształcany w procesie oksydacji do nieaktywnego metabolicznie 2-okso-klopidogrelu poprzez enzymy cytochromu CYP450, takie jak CYP1A2, CYP2B6 i CYP2C19 [22, 23]. W drugim etapie 2-okso-klopidogrel ulega hydrolizie do niestabilnego, aktywnego metabolitu klopidogrelu (R-130964), zawierającego grupy karboksylową i tiolową [22]. Etap tworzenia tiolowego metabolitu odbywa się z udziałem enzymów cytochromu P450: CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4 [23, 24] (ryc. 1).



Rycina 1. Metabolizm klopidogrelu (modyfikacja własna na podstawie [23, 24]); P-gp – glikoproteina P

Biologiczny okres półtrwania aktywnego metabolitu klopidogrelu wynosi około 30 minut [16, 25]. Wydalanie metabolitów klopidogrelu zachodzi w 41–46% przez nerki z moczem (w postaci wolnej lub związanej z kwasem glukuronowym – powstają glukuroniany), a w 39–59% – z kałem [26, 27].

Mechanizm działania klopidogrelu

Aktywny metabolit klopidogrelu hamuje agregację płytek krwi zależną od ADP nieodwracalnie, blokując płytkowy receptor P2Y₁₂ [1]. Grupa tiolowa tego metabolitu wiąże się z miejscem aktywnym receptora P2Y₁₂, tworząc mostki dwusiarczkowe z cysteiną (wiązanie kowalencyjne), co powoduje nieodwracalną zmianę konformacji białka receptora i w konsekwencji blokuje dostęp naturalnego agonisty receptora, jakim jest ADP [1]. Z powodu nieodwracalnego wiązania się klopidogrelu z receptorem P2Y₁₂ okres hamowania funkcji płytek krwi przez lek utrzymuje się zwykle przez 5–10 dni i zależy od sprawności odnawiania populacji trombocytów przez komórki szpiku [28]. W przypadku stosowania dawki 75 mg leku/dobę maksymalny efekt przeciwpłytkowy jest osiągnięty po 3–7 dniach. Po zastosowaniu pojedynczej dawki nasycającej leku, wynoszącej 600 mg, pełny efekt przeciwpłytkowy następuje po 2–3 godzinach od podania [29–31]. Zastosowanie standardowej dawki klopidogrelu powoduje zablokowanie około połowy receptorów P2Y₁₂ trombocytów [4, 32].

Na podstawie wyników badania ISAR-CHOICE (*Intra-coronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose between 3 High Oral doses for Immediate Clopidogrel Effect*) stwierdzono, że podanie klopidogrelu w dawce nasycającej 600 mg pozwala na uzyskanie silniejszego zahamowania zależnej od ADP agregacji płytek krwi niż po podaniu 300 mg tego leku. Natomiast dalsze zwiększanie dawki nasycającej klopidogrelu, tj. z 600 mg do 900 mg, nie wiąże się z silniejszym działaniem leku [33].

Czynniki genetyczne wpływające na efekt antyagregacyjny klopidogrelu

Na farmakokinetykę i farmakodynamikę klopidogrelu modyfikujący wpływ mają czynniki genetyczne, takie jak: polimorfizm genu *ABCB1* kodującego białko transportowe P-gp związane z wchłanianiem leku z przewodu pokarmowego, [17, 34], polimorfizm genów kodujących enzymy cytochromu P450 – szczególnie CYP2C19 [34–36], polimorfizm genów kodujących enzym paraoksonazę 1 (PON1) [37], polimorfizm genów kodujących białko receptora P2Y₁₂ [38].

CYP 2 C19

Cytochrom P450 jest częścią układu wieloczynnościowej monoooksydazy (MFO, *mixed function oxidases*) – zespołu

enzymów katalizujących utlenianie substancji endogennych oraz wielu ksenobiotyków [39]. Stwierdzono znaczny polimorfizm genów kodujących enzymy cytochromu P450 (CYP). Wyniki badań wskazują na to, że polimorfizm genu CYP2C19 ma największy związek z metabolizmem klopidogrelu [34–36, 40–42].

Opisano około 25 mutacji genu kodującego enzym CYP2C19 [24], wśród których można wyróżnić warianty prowadzące do utraty bądź zmniejszenia aktywności enzymatycznej (LoF, *loss-of-function*; utrata funkcji) oraz warianty genu związane ze zwiększoną aktywnością enzymatyczną (GoF, *go-of-function*; nabycie funkcji) [35, 43]. U nosicieli dwóch dzikich alleli CYP2C19*1/*1 stwierdzono prawidłowy (pośredni) metabolizm klopidogrelu. Do najczęściej występujących w populacji ludzkiej alleli warunkujących utratę aktywności enzymatycznej należą CYP2C19*2 i CYP2C19*3 oraz, znacznie rzadziej występujące, CYP2C19*4 i CYP2C19*5 [24, 44, 45]. Najczęściej występującym w populacji zmutowanym allelem, związanym z wysoką aktywnością enzymatyczną (zwiększoną syntezą aktywnego metabolitu klopidogrelu), jest CYP2C19*17 [40, 41, 46] (tab. 1 [24, 47, 48]). Częstość występowania poszczególnych wariantów genetycznych CYP2C19 pozostaje zmienna w populacji ogólnej i zróżnicowana rasowo [49, 50]. U około 30% osób rasy kaukaskiej, 40% osób rasy czarnej i ponad 55% Azjatów stwierdzono występowanie nosicielstwa przynajmniej jednego dysfunkcyjnego allelu CYP2C19*2 [50, 51]. W populacjach europejskich średnio około 70% osób jest homozygotami dwóch dzikich alleli CYP2C19*1/*1, około 25% – heterozygotami CYP2C19*2/*1, natomiast około 2% – homozygotami CYP2C19*2/*2 [24, 36]. Allel CYP2C19*17 występuje stosunkowo często w populacjach kaukaskich – u 43% Polaków, 41% Niemców, 20% Francuzów i 18% Szwedów oraz wśród rasy czarnej – u 18% Etiopczyków, rzadziej zaś w populacji azjatyckiej – u 4% Chińczyków [36, 52].

Aktywność metaboliczna enzymu CYP2C19 jest wypadkową konfiguracji alleli występujących u poszczególnych osób (tab. 2) [24, 53].

Tabela 1. Wybrane allele genu CYP2C19 i ich związek z aktywnością enzymu (na podstawie [24, 47, 48])

Allel CYP2C19	Różnica sekwencji nukleotydów w cDNA	Aktywność enzymu	Występowanie
*1	Brak	Prawidłowa	70%
*2	681 G→A	Mniejsza	25–55%
*3	636 G→A	Mniejsza	1–7%
*4	1 A→G	Mniejsza	< 1%
*5	1297 C→T	Mniejsza	< 1%
*17	991 A→G	Większa	4–41%

cDNA (*complementary DNA*) – komplementarny DNA; A (*adenine*) – adenina; C (*cytosine*) – cytozyna; G (*guanine*) – guanina; T (*thymine*) – tymina;

Tabela 2. Związek polimorfizmów CYP2C19 z metabolizmem kłopidogrelu (na podstawie [24])

Genotyp	Związek z metabolizmem kłopidogrelu
CYP2C19*1/*1	Prawidłowy metabolizer – spodziewany prawidłowy metabolizm kłopidogrelu i prawidłowa odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę kłopidogrelu
CYP2C19*2/*17 CYP2C19*3/*17 CYP2C19*4/*17 CYP2C19*5/*17	Prawidłowy/pośredni metabolizer (LoF/GoF) – spodziewany bardzo nieznacznie spowolniony metabolizm kłopidogrelu i prawidłowa odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę kłopidogrelu
CYP2C19*1/*2 CYP2C19*1/*3 CYP2C19*1/*4 CYP2C19*1/*5	Pośredni metabolizer (*1/LoF) – spodziewany niski metabolizm leku kłopidogrel i słaba odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę kłopidogrelu oraz konieczność stosowania większej dawki leku lub zastosowanie innego inhibitora platekowego receptora P2Y ₁₂ (prasugrelu lub tikagreloru)
CYP2C19*2/*2 CYP2C19*2/*3 CYP2C19*2/*4 CYP2C19*2/*5 lub inna konfiguracja dysfunkcyjnych alleli	Wolny metabolizer (LoF/LoF) – spodziewany jest bardzo niski metabolizm leku kłopidogrel (znacznie zmniejszone stężenie aktywnego metabolitu) i bardzo słaba odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę leku kłopidogrel, oraz konieczność zastosowania wyższej dawki leku lub zastosowanie innego inhibitora platekowego receptora P2Y ₁₂ (prasugrel lub tikagrelor) w celu uzyskania oczekiwanego działania antyagregacyjnego
CYP2C19*1/*17	Szybki metabolizer (*1/GoF) – spodziewany jest wysoki metabolizm leku kłopidogrel i wyższa odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę leku kłopidogrel
CYP2C19*17/*17	Ultraszybki metabolizer (GoF/GoF) – spodziewany jest bardzo wysoki metabolizm leku kłopidogrel (wysokie stężenie aktywnego metabolitu) i bardzo wysoka odpowiedź przeciwplatekowa na standardową dawkę leku kłopidogrel, co może skutkować zwiększonym ryzykiem wystąpienia krwawienia

LoF (loss-of-function) – utrata funkcji; GoF (go-of-function) – nabycie funkcji

CYP2C19*2

Przeprowadzono wiele badań klinicznych, których wyniki wskazują na związek polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, *single-nucleotide polymorphism*) CYP2C19*2 z niskim hamowaniem agregacji płytek krwi i wyższym ryzykiem zdarzeń niedokrwiniowych u osób leczonych kłopidogrelem [36, 46].

W badaniu przeprowadzonym w grupie 259 pacjentów w wieku poniżej 45. roku życia leczonych kłopidogrelem po przebytym zawale serca wykazano, że złożony punkt końcowy obejmujący zgon, ponowny zawał serca i konieczność pilnej rewaskularyzacji wystąpił istotnie częściej u nosicieli zmutowanego allelu CYP2C19*2 (*1/*2; *2/*2) niż u homozygot CYP2C19*1/*1 (współczynnik ryzyka [HR, *hazard ratio*] 3,69; 95-proc. przedział ufności [CI, *confidence interval*] 1,69–8,05; $p = 0,0005$) [45]. Częściej występowały także zawał serca (HR 4,54; 95% CI 1,64–12,53; $p = 0,001$) oraz zakrzepica w stencie (HR 6,02; 95% CI 1,81–20,04; $p = 0,0009$) [45].

W populacji 24 852 pacjentów, u których przeprowadzono przezskórną angioplastykę wieńcową z implantacją stentu, ponad 3-krotnie wyższe ryzyko zakrzepicy w stencie w obserwacji trwającej 30 dni zaobserwowano u nosicieli allelu CYP2C19*2 (heterozygoty *1/*2 i homozygoty *2/*2) niż u osób charakteryzujących się prawidłowym metabolizmem kłopidogrelu – homozygot CYP2C19*1*1 (1,5% v. 0,4%; HR 3,81; 95% CI

1,45–10,02; $p = 0,007$) [54]. Ryzyko zakrzepicy w stencie było najwyższe (2,1%) u nosicieli dwóch zmutowanych alleli – homozygot CYP2C19*2/*2 ($p = 0,002$) [54].

W badaniu TRITON TIMI 38 oceniano związek między polimorfizmem genów kodujących CYP2C19 a stężeniem aktywnego metabolitu kłopidogrelu, agregacją płytek krwi oraz zdarzeniami sercowo-naczyniowymi [36]. U nosicieli co najmniej jednego allelu związanego z utratą funkcji enzymatycznej CYP2C19*2 (heterozygoty *1/*2 i homozygoty *2/*2) stwierdzono niższe o 32,4% stężenia aktywnego metabolitu kłopidogrelu ($p < 0,001$) niż u osób niebędących nosicielami tej mutacji. Także maksymalna indukowana ADP agregacja płytek krwi była o 9% mniejsza u nosicieli dysfunkcyjnego allelu ($p < 0,001$) [36]. W grupie 1477 osób leczonych kłopidogrelem z powodu ostrego zespołu wieńcowego 27,2% było nosicielami allelu zmutowanego CYP2C19*2. U pacjentów tych obserwowano niższe stężenie aktywnego metabolitu kłopidogrelu, większą agregację płytek podczas leczenia oraz wyższe ryzyko wystąpienia zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału serca i udaru mózgu (pierwszorzędowego złożonego punktu końcowego) niż u pacjentów będących homozygotami CYP2C19*1/*1 (12,1% v. 8,0%; HR 1,53; 95% CI 1,07–2,19; $p = 0,01$). Stwierdzono także 3-krotnie wyższe ryzyko zakrzepicy w stencie u nosicieli CYP2C19*2 (2,6% v. 0,8%; HR 3,09; 95% CI 1,19–8,0; $p = 0,02$) [36].

W opublikowanej w 2010 roku metaanalizie dziesięciu badań klinicznych, obejmującej 11 959 osób, nosicielami dysfunkcyjnego allelu CYP2C19*2 było 28% (n = 3418), co – w porównaniu z osobami niebędącymi nosicielami tego allelu – wiązało się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia MACE zdefiniowanych jako: zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych, zakrzepica w stencie (9,7% v. 7,8%; iloraz szans [OR, *odds ratio*]: 1,29; 95% CI 1,12–1,49; p = 0,001). Ponadto obecność wariantu CYP2C19*2 wiązała się ze wzrostem ryzyka zgonu (1,8% v. 1,0%; OR 1,79; 95% CI 1,10–2,91; p = 0,019; n = 6225) i zakrzepicy w stencie (2,9% v. 0,9%; OR 3,45; 95% CI 2,14–5,57; p = 0,001; n = 4905). Zwiększone ryzyko wystąpienia MACE obserwowano u heterozygot i homozygot CYP2C19*2, niezależnie od czynników ryzyka sercowo-naczyniowego obecnych wyjściowo [50].

Podobne wyniki uzyskano w innej metaanalizie dotyczącej populacji 9685 osób z chorobą wieńcową [49]. Nosicielstwo jednego zmutowanego allelu CYP2C19, związanego z niską aktywnością enzymatyczną, wykazano u 26,3% osób, a 2,2% badanych było nosicielami dwóch dysfunkcyjnych alleli CYP2C19 [49]. Osoby z dwoma dzikimi allelami *1/*1 stanowiły 71,5% [49]. Zarówno u nosicieli dwóch, jak i jednego allelu związanego z niską aktywnością enzymatyczną CYP2C19 stwierdzono istotnie wyższe ryzyko wystąpienia złożonego punktu końcowego, obejmującego zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawał serca oraz udar mózgu, niż u osób z dwoma dzikimi allelami (HR dla dwóch dysfunkcyjnych alleli 1,76; 95% CI 1,24–2,5; p = 0,002; HR dla nosiciela jednego dysfunkcyjnego allelu 1,55; 95% CI 1,11–2,27; p = 0,01) [49]. Ryzyko wystąpienia zakrzepicy w stencie u nosicieli jednej kopii dysfunkcyjnego allelu CYP2C19 było ponad 2-krotnie wyższe (HR 2,67; 95% CI 1,69–4,22; p < 0,0001), a u nosicieli dwóch zmutowanych alleli – 4-krotnie wyższe (HR 3,97; 95% CI 1,75–9,02; p = 0,001) niż u osób będących homozygotami *1/*1 [49].

CYP2C19*17

Występowanie wariantu genetycznego CYP2C19*17 wiąże się z ultraszybkim metabolizmem klopidogrelu [40, 46]. U osób będących nosicielami mutacji CYP2C19*17 rzadziej niż u osób z allelem CYP2C19*1*1 jest obserwowana HTPR [55]. Obecność CYP2C19*17 może się wiązać z niższym ryzykiem wystąpienia niepożądanych zdarzeń zakrzepowych, lecz jednocześnie wyższe jest ryzyko krwawienia [56].

Jednym z pierwszych badań służących ocenie związku alleli CYP2C19*4 CYP2C19*5 i *6 i CYP2C19*17 z metabolizmem klopidogrelu jest retrospektywna analiza przeprowadzona w grupie 598 osób z zawałem serca bez przetrwałego uniesienia odcinka ST [57]. Oceniano w nim agregację płytek krwi zależną od ADP oraz współczynnik reaktywności

płytek krwi w teście fosforylacji białka VASP (PRI VASP, *platelet-reactivity index vasodilator-stimulated phosphoprotein*) po podaniu 600 mg klopidogrelu [57]. W przypadku polimorfizmów CYP2C19*4, CYP2C19*5 oraz CYP2C19*6 nie wykazano różnic agregacji płytek w porównaniu z osobami niebędącymi nosicielami mutacji [57]. Natomiast u nosicieli zmutowanego genu CYP2C19*17 stwierdzono niższe wartości współczynnika PRI VASP, co sugeruje silniejszą odpowiedź płytek krwi na klopidogrel niż u homozygot CYP2C*1*1 (50% v. 63%; p = 0,007) [57].

W badaniu przeprowadzonym przez Sibbinga i wsp. [46], w populacji 1524 osób, u których przeprowadzono przeszłą interwencję wieńcową, zbadano związek między indukowaną ADP agregacją płytek a ryzykiem wystąpienia krwawienia, częstością występowania zakrzepicy w stencie oraz nosicielstwem wariantu genetycznego CYP2C19*17. W tym badaniu głównym klinicznym punktem końcowym dotyczącym bezpieczeństwa było wystąpienie krwawienia, a głównym klinicznym punktem końcowym dotyczącym skuteczności – częstość występowania zakrzepicy w stencie. Zarówno u heterozygot (CYP2C19*1/*17; n = 546), jak i homozygot (CYP2C19*17/*17; n = 76) stwierdzono niższe wartości zależnej od ADP agregacji płytek krwi w porównaniu z homozygotami (CYP2C19*1/*1; n = 902; odpowiednio: p = 0,039 i p = 0,008). Na podstawie analizy wieloczynnikowej stwierdzono, że nosicielstwo allelu CYP2C19*17 jest niezależnym czynnikiem ryzyka występowania krwawień (OR 1,85; 95% CI 1,19–2,86; p = 0,006). Nie wykazano natomiast związku nosicielstwa CYP2C19*17 z występowaniem zakrzepicy w stencie (p = 0,79) [46].

Na podstawie analizy jedenastu badań klinicznych oceniano związek polimorfizmu CYP2C19*17 z występowaniem MACE, krwawień, śmiertelności, zakrzepicy w stencie i HTPR. Osoby z chorobą wieńcową będące nosicielami CYP2C19*17 cechowały się o 16% niższym ryzykiem MACE niż osoby niebędące nosicielami tej mutacji (10,0% v. 11,9%; OR 0,82; 95% CI 0,72–0,94; p = 0,005). Stwierdzono także, że nosiciele CYP2C19*17 cechuje wyższe ryzyko krwawień (8,0% v. 6,5%; OR 1,25; 95% CI 1,07–1,47; p = 0,006). Występowanie HTPR było istotnie rzadsze u nosicieli zmutowanego genu CYP2C19*17 w porównaniu z homozygotami CYP2C19*1*1 (37,9% v. 50,8%, OR 0,60; 95% CI 0,45–0,79; p = 0,0003) [51].

Polimorfizm genetyczny glikoproteiny P

Odpowiedź płytek krwi na klopidogrel wiąże się także z osobniczą zmiennością sprawności jego transportu ze światła przewodu pokarmowego do układu krążenia. W transporcie aktywnym tego leku uczestniczy P-gp. Glikoproteina ta jest ATP-zależną pompą transportującą, kodowaną przez gen *ABCB1* zlokalizowany na chromosomie 7 [34, 58]. Najlepiej zbadanym polimorfizmem genu

ABCB1 związanym z farmakokinetyką klopidogrelu oraz jego metabolitów jest zamiana 3435C→T [17].

Stwierdzono, że pole powierzchni pod krzywą (AUC, *area under curve*) stężenia leku w czasie oraz stężenia maksymalne klopidogrelu, a także jego metabolitu są niższe w przypadku genotypu TT niż u homozygoti CC oraz heterozygot CT [17]. Mniej efektywny transport klopidogrelu może powodować zwiększoną reaktywność płytek u osób z genotypem TT w trakcie leczenia antyagregacyjnego [59].

W rejestrze FAST-MI (*French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction*) w populacji ponad 2100 osób liczba homozygot CC stanowiła 25,8%, heterozygot CT – 48,0%, a homozygot TT – 26,2%. Wykazano, że liczba zdarzeń sercowo-naczyniowych w trwającej rok obserwacji jest większa u pacjentów po zawale serca z dwoma wariantami alleli ABCB1 (genotyp TT) niż u osób z dzikim genotypem ABCB1 (15,5% TT v. 10,7% CC; HR 1,72; 95% CI 1,2–2,47) [34]. Również w subanalizie z badania TRITON-TIMI 38 u osób będących homozygotami (genotyp TT ABCB1) stwierdzono zwiększoną częstość nawrotu zdarzeń niedokrwiennych niż u osób o genotypie CC/CT (12,9% TT v. 7,8% CT/CC; HR 1,72; 95% CI 1,22–2,44; $p = 0,002$) [48].

Wyniki badań klinicznych związanych z polimorfizmem genu ABCB1 nie są jednoznaczne. W metaanalizie opublikowanej przez Singh i wsp. [60] nie stwierdzono związku polimorfizmu genu ABCB1-C3435T z wysokim ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych (ryzyko względne [RR, *relative risk*] 1,13; 95% CI 0,99–1,29; $p = 0,06$) ani występowaniem zakrzepicy w stencie (RR 0,88; 95% CI 0,52–1,47; $p = 0,63$). Istotnych różnic w tym zakresie nie potwierdzono także w analizie genetycznej badania PLATO (*PLAtelet inhibition and patient Outcomes*) [43].

Paraoksonaza 1

W metabolizmie klopidogrelu, oprócz enzymów z grupy cytochromu P450, bierze także udział enzym z grupy hydrolaz – PON1 [37]. Wyniki badania Boumana i wsp. [37] wskazują na to, że jeden z polimorfizmów genu kodującego ten enzym (Q192R) wiąże się z efektywniejszym powstawaniem aktywnego metabolitu klopidogrelu. Nosiciele dwóch alleli QQ (PON1 QQ 192) cechują się niższą aktywnością PON1 oraz mniejszym stężeniem aktywnego metabolitu klopidogrelu, a w konsekwencji – słabszym hamowaniem agregacji płytek krwi niż osoby bez mutacji genu kodującego PON1. U homozygot PON1 QQ192, w porównaniu z homozygotami PON1 RR192 i heterozygotami PON1 RQ192, stwierdzono istotnie wyższe ryzyko zakrzepicy w stencie (OR 3,6; 95% CI 1,6–7,9; $p = 0,003$) [37]. Jednak w innych badaniach nie potwierdzono związku polimorfizmu PON1Q192R z efektem antyagregacyjnym klopidogrelu [61–64].

Wnioski

Przeprowadzony przegląd piśmiennictwa potwierdza istotny wpływ czynników genetycznych na antyagregacyjne działanie klopidogrelu. Mutacje dotyczące genu kodującego enzym CYP2C19, w szczególności warianty *2 oraz *17, wpływają na skuteczność laboratoryjną i kliniczną tego leku. Nie potwierdzono natomiast znaczenia klinicznego innych badanych wariantów genetycznych odpowiedzialnych za wchłanianie i metabolizm klopidogrelu, które mogą być związane z mierzalnymi różnicami aktywności płytek krwi.

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

Abstract

Clopidogrel is one of drugs used in patients with acute coronary syndromes. Clopidogrel is metabolized to active metabolite, which is an irreversible platelet P2Y₁₂ adenosine diphosphate receptor antagonist. The pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel varies between individuals. The paper presents a systematic review of studies evaluating the association between genetic factors and clinical efficacy of clopidogrel.

Key words: clopidogrel, platelet aggregation, CYP2C19*2 polymorphism, ABCB1 polymorphism

(Folia Cardiologica 2015; 10, 4: 275–282)

Piśmiennictwo

1. Ding Z., Kim S., Dorsam R. i wsp. Inactivation of the human P2Y₁₂ receptor by thiol reagents requires interaction with both extracellular cysteine residues Cys 17 and Cys 270. *Blood* 2003; 101: 3908–3914.
2. Muller I., Besta F., Schulz C.I. i wsp. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb. Haemost.* 2003; 89: 783–787.
3. Matetzky S., Shenkman B., Guetta V. i wsp. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109: 3171–3175.
4. Serebruany V.L., Steinhilb S.R., Berger P.B. i wsp. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45: 246–251.

5. O'Donoghue M., Wiviott S.D. Clopidogrel response variability and future therapies: clopidogrel: does one size fit all? *Circulation* 2006; 114: e600–e606.
6. Sangkuhl K., Klein T.E., Altman R.B. Clopidogrel pathway. *Pharmacogenet. Genomics* 2010; 20: 463–465.
7. Järeemo P., Lindahl T.L., Fransson S.G., Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J. Intern. Med.* 2002; 252: 233–238.
8. Gurbel P., Bliden K., Hiatt B. i wsp. Clopidogrel for coronary stenting response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003; 107: 2908.
9. Bonello L., Tantry U.S., Marcucci R. i wsp. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 56: 919–933.
10. Cattaneo M. High on-treatment platelet reactivity – definition and measurement. *Thromb. Haemost.* 2013; 109: 792–798.
11. Geisler T., Schaeffeler E., Dippon J. i wsp. CYP2C19 and nongenetic factors predict poor responsiveness to clopidogrel loading dose after coronary stent implantation. *Pharmacogenomics* 2008; 9: 1251–1259.
12. Béres B.J., Tóth-Zsámboki E., Vargová K. i wsp. Analysis of platelet alpha-2 adrenergic receptor activity in stable coronary artery disease patients on dual antiplatelet therapy. *Thromb. Haemost.* 2008; 100: 829–836.
13. Bhatt D.L. What makes platelets angry: diabetes, fibrinogen, obesity, and impaired response to antiplatelet therapy? *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 52: 1060–1061.
14. Moukarbel G.V., Bhatt D.L. Antiplatelet therapy and proton pump inhibition: clinician update. *Circulation* 2012; 125: 375–380.
15. Frelinger A.L. 3rd, Lee R.D., Mulford D.J. i wsp. A randomized, 2-period, crossover design study to assess the effects of dexlansoprazole, lansoprazole, esomeprazole, and omeprazole on the steady-state pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel in healthy volunteers. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2012; 59: 1304–1311.
16. Hurbin F., Boulenc X., Daskalakis N. i wsp. Clopidogrel pharmacodynamics and pharmacokinetics in the fed and fasted state: a randomized crossover study of healthy men. *J. Clin. Pharmacol.* 2012; 52: 1506–1515.
17. Taubert D., von Beckerath N., Grimberg G. i wsp. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006; 80: 486–501.
18. Husted S., Emanuelsson H., Heptinstall S. i wsp. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y₁₂ antagonist AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. *Eur. Heart J.* 2006; 27: 1038–1047.
19. Tang M., Mukundan M., Yang J. i wsp. Antiplatelet agents aspirin and clopidogrel are hydrolyzed by distinct carboxylesterases, and clopidogrel is transesterified in the presence of ethyl alcohol. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006; 319: 1467–1476.
20. Ma T.K.W., Lam Y.Y., Tan V.P. i wsp. Impact of genetic and acquired alteration in cytochrome P450 system on pharmacologic and clinical response to clopidogrel. *Pharmacol. Ther.* 2010; 125: 249–259.
21. Pereillo J.M., Maftouh M., Andrieu A. i wsp. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab. Dispos.* 2002; 30: 1288–1295.
22. Savi P., Zachary J.L., Delesque-Touchard N. i wsp. The active metabolite of clopidogrel disrupts P2Y₁₂ receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 11 069–11 074.
23. Kazui M., Nishiya Y., Ishizuka T. i wsp. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab. Dispos.* 2010; 38: 92–99.
24. Kubica A., Kozinski M., Grzešk G. i wsp. Genetic determinants of platelet response to clopidogrel. *J. Thromb. Thrombolysis* 2011; 32: 459–466.
25. Takahashi M., Pang H., Kawabata K. i wsp. Quantitative determination of clopidogrel active metabolite in human plasma by LC-MS/MS. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2008; 48: 1219–1224.
26. Caplain H., Donat F., Gaud C., Necciari J. Pharmacokinetics of clopidogrel. *Semin. Thromb. Hemost.* 1999; 25 (supl. 2): 25–28.
27. Lins R., Broekhuysen J., Necciari J., Deroubaix X. Pharmacokinetic profile of ¹⁴C-labeled clopidogrel. *Semin. Thromb. Hemost.* 1999; 25 (supl. 2): 29–33.
28. Quinn M.J., Fitzgerald D.J. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 1999; 100: 1667–1672.
29. Thebault J., Kieffer G., Lowe G. i wsp. Single-dose pharmacodynamics of clopidogrel. *Semin. Thromb. Hemost.* 1999; 25: 3–8.
30. Kandzari D., Berger P., Kastrati A. i wsp. Influence of treatment duration with a 600 mg dose of clopidogrel before percutaneous coronary revascularization. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004; 44: 2133–2136.
31. Hochholzer W., Trenk D., Frundi D. i wsp. Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large, unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2005; 111: 2560–2564.
32. Gurbel P.A., Bliden K.P., Hayes K.M. i wsp. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005; 45: 1392–1396.
33. von Beckerath N., Taubert D., Pogatsa-Murray G. i wsp. Absorption, metabolism, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation* 2005; 112: 2946–2950.
34. Simon T., Verstuyft C., Mary-Krause M. i wsp. French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 363–375.
35. Hulot J.S., Bura A., Villard E. i wsp. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* 2006; 108: 2244–2247.
36. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D. i wsp. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 354–362.
37. Bouman H.J., Schömig E., van Werkum J.W. i wsp. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat. Med.* 2011; 17: 110–116.
38. Staritz P., Kurz K., Stoll M. i wsp. Platelet reactivity and clopidogrel resistance are associated with the H2 haplotype of the P2Y₁₂-ADP receptor gene. *Int. J. Cardiol.* 2009; 133: 341–345.
39. Skrętkowicz J., Rychlik-Sych M. Polimorfizm cytochromu P-450. *Farm. Pol.* 2008; 64: 61.
40. Frere C., Cuisset T., Morange P.E. i wsp. Effect of cytochrome p450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am. J. Cardiol.* 2008; 101: 1088–1093.
41. James S., Akerblom A., Cannon C.P. i wsp. Comparison of ticagrelor, the first reversible oral P2Y₁₂ receptor antagonist, with clopidogrel

- in patients with acute coronary syndromes: rationale, design, and baseline characteristics of the PLATElet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial. *Am. Heart J.* 2009; 157: 599–605.
42. Trenk D., Hochholzer W., Fromm M.F. i wsp. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high onclopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51: 1925–1934.
 43. Wallentin L., James S., Storey R.F. i wsp. Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet* 2010; 376: 1320–1328.
 44. Storey R.F. Clopidogrel in acute coronary syndrome: to genotype or not? *Lancet* 2009; 373: 276–278.
 45. Collet J.P., Hulot J.S., Pena A. i wsp. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* 2009; 373: 309–317.
 46. Sibbing D., Koch W., Gebhard D. i wsp. Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* 2010; 121: 512–518.
 47. Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee. Dostępne na: <http://www.cypalleles.ki.se>. Data dostępu: 16.11.2014.
 48. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D. i wsp. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. *Lancet* 2010; 376: 1312–1319.
 49. Mega J.L., Simon T., Collet J.P. i wsp. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA* 2010; 304: 1821–1830.
 50. Hulot J.S., Collet J.P., Pena A. i wsp. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C10*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic metaanalysis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 56: 134–144.
 51. Li Y., Tang H-L., Hu Y-F., Xie H-G. The gain-of-function variant allele CYP2C19*17: a doubleedged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10: 199–206.
 52. Sugimoto K., Uno T., Yamazaki H., Tateishi T. Limited frequency of the CYP2C19*17 allele and its minor role in a Japanese population. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2008; 65: 437–439.
 53. Kubica A., Kasprzak M., Obońska K. i wsp. Impact of CYP2C19 polymorphisms on antiplatelet efficacy of clopidogrel in patients after myocardial infarction. *Folia Medica Copernicana* 2013; 1: 12–17.
 54. Sibbing D., Stegherr J., Latz W. i wsp. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2009; 30: 916–922.
 55. Grosdidier C., Quilici J., Loosveld M. i wsp. Effect of CYP2C19*2 and *17 genetic variants on platelet response to clopidogrel and prasugrel maintenance dose and relation to bleeding complications. *Am. J. Cardiol.* 2013; 111: 985–990.
 56. Tiroch K.A., Sibbing D., Koch W. i wsp. Protective effect of the CYP2C19 *17 polymorphism with increased activation of clopidogrel on cardiovascular events. *Am. Heart J.* 2010; 160: 506–512.
 57. Frère C., Cuisset T., Gaborit B. i wsp. The CYP2C19*17 allele is associated with better platelet response to clopidogrel in patients admitted for non-ST acute coronary syndrome. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7: 1409–1411.
 58. Fojo A., Lebo R., Shimizu N. i wsp. Localization of multidrug resistance-associated DNA sequences to human chromosome 7. *Somat. Cell Mol. Genet.* 1986; 12: 415–420.
 59. Śpiewak M., Malek Ł.A., Kostrzewa G. i wsp. Influence of C3435T multidrug resistance gene-1 (MDR-1) polymorphism on platelet reactivity and prognosis in patients with acute coronary syndromes. *Kardiol. Pol.* 2009; 67: 827–834.
 60. Singh M., Shah T., Adigopula S. i wsp. CYP2C19*2/ABCB1-C3435T polymorphism and risk of cardiovascular events in coronary artery disease patients on clopidogrel: is clinical testing helpful? *Indian Heart J.* 2012; 64: 341–352.
 61. Sibbing D., Koch W., Massberg S. i wsp. No association of paraoxonase-1 Q192R genotypes with platelet response to clopidogrel and risk of stent thrombosis after coronary stenting. *Eur. Heart J.* 2011; 32: 1605–1613.
 62. Simon T., Steg P.G., Becquemont L. i wsp. Effect of paraoxonase-1 polymorphism on clinical outcomes in patients treated with clopidogrel after an acute myocardial infarction. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011; 90: 561–567.
 63. Trenk D., Hochholzer W., Fromm M.F. i wsp. Paraoxonase-1 Q192R polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2011; 4: 429–436.
 64. Chen D.Y., Wang C.Y., Wen M.S. i wsp. Paraoxonase-1 is not a major determinant of stent thrombosis in a Taiwanese population. *PLoS One* 2012; 7: e39178.