

Antitrombotická profylaxe – léčba podle doporučených postupů či podle potřeb nemocného?

Jan Bultas

3. lékařská fakulta, Ústav farmakologie, Univerzita Karlova, Praha

Zavádění poznatků farmakogenetiky do léčby kardiovaskulárních onemocnění přestoupilo z fáze teoretických předpokladů do fáze praktického využití, zejména to platí pro léčbu antitrombotiky. Podkladem interindividuálních rozdílů v účinku léků bývá polymorfismus transformačních enzymů, transportních systémů zajišťujících osud léků v organismu i receptorů, enzymů či signálních molekul ovlivňujících vlastní účinek léčiva. V léčbě antitrombotiky se klinicky významně uplatní zejména polymorfismus transportních proteinů (glykoproteinu P) v resorpci či polymorfismus isoenzymu CYP2C19 v bioaktivaci klopidoogrelu. Genotypizace glykoproteinu P (P-gp) má význam pro určení biologické dostupnosti klopidoogrelu, genotyp 3435CC je spojen s nízkou aktivitou P-gp a s vyšší dostupností klopidoogrelu, tedy i spolehlivější antitrombotický efekt. Stanovení genotypu CYP2C19, konkrétně CYP2C19*2 nebo CYP2C19*3 má rovněž význam, u nositelů těchto alel probíhá bioaktivace klopidoogrelu pomaleji a více proléčiva je degradováno esterázami. Podobně má u rizikových osob význam genotypizace reduktázy vitamínu K a CYP2C9 určujících účinek a rychlost biodegradace warfarinu.

Klíčová slova: polymorfismus, klopidoogrel, warfarin, izoenzymy CYP, transportní proteiny, farmakogenetika.

Antithrombotic prophylaxis – treatment according to guidelines or according to the patient's needs?

Implementing the knowledge of pharmacogenetics into the treatment of cardiovascular diseases has moved from the phase of theoretical assumptions to that of practical use, which is particularly true for antithrombotic treatment. Polymorphism of transformation enzymes, the transport systems governing the fate of drugs in the organism, as well as of receptors, enzymes or signalling molecules affecting drug action usually underlies the interindividual differences in the effects of drugs. In antithrombotic treatment, polymorphism of transport proteins (P-glycoprotein) in resorption or polymorphism of CYP2C19 isoenzyme involved in clopidogrel bioactivation, in particular, are of clinical significance. P-glycoprotein (P-gp) genotyping is important in order to determine the bioavailability of clopidogrel; the 3435CC genotype is associated with low P-gp activity and with a higher bioavailability of clopidogrel, thus with a more reliable antithrombotic effect. The determination of the CYP2C19 genotype, particularly of CYP2C19*2 or CYP2C19*3, is also of importance; clopidogrel bioactivation is slower in carriers of these alleles and more of the prodrug is degraded by esterases. Similarly, genotyping of vitamin K reductase and CYP2C9 which determine the effect and speed of biodegradation of warfarin is important in persons at risk.

Key words: polymorphism, clopidogrel, warfarin, CYP isoenzymes, transport proteins, pharmacogenetics.

Interv Akut Kardiolog 2010; 9(6): 302–308

Pomalů se naplňují slova žijícího „klasika“ kardiologa profesora Eugena Braunwalda, který před 10 lety zdůraznil, že uvedení poznatků farmakogenetiky do praxe pokládá za největší výzvu současné medicíny. Stojíme však před určitým schizmatem: na jedné straně jsme od předsednických stolů sympozií vyzýváni k dodržování doporučených postupů a plošnému aplikování doporučených dávek, na straně druhé současné vědomosti o variabilitě odpovědi na lék podporují individuální přístup k léčbě.

Budeme-li mluvit o léčebných postupech snižujících riziko trombotické okluze či tromboembolie, pak nelze dostatečně vyzdvihnout význam dodržování doporučených postupů v této oblasti. Snad nejpersvědčivější důkaz podala recentně publikovaná analýza výsledků dodržování těchto zásad u nemocných s akutní

mi koronárními příhodami (1). Ta ukázala, že důsledné aplikování „guidelines“ vede k poklesu půlroční mortality zhruba na třetinu (RR 0,31, 95 % CI: 0,17–0,57). Největší přínos byl pozorován při aplikaci revaskularizační léčby, nicméně farmakoterapie se pak na tomto poklesu podílela nejméně z poloviny. Při analýze typu léčebného postupu se mezi první trojici nejvýhodnějších léčebných skupin pracovaly, vedle statinů, thienopyridiny – klopidoogrel a blokátory receptorů IIb/IIIa. Acetylsalicylová kyselina (ASA) do analýzy nebyla zahrnuta, tou byli léčeni téměř všichni nemocní. Na základě srovnatelného účinku s klopidoogrem z head to head studií u nemocných s ICHS je však pravděpodobné, že ASA by se stran dopadu na pokles mortality/morbidity rovněž pracovala do první pětičky postupů s největším dopadem na zlepšení prognózy. Studie tak dokumentovala, že čím důsledněji

byla léčba ve smyslu dodržování doporučených postupů, tím větší prospěch přinesla nemocnému. Antitrombotická, resp. protidestičková léčba pak nepochybně hrála klíčovou úlohu.

Aplikace doporučených postupů je však jen polovinou úspěchu. Druhá polovina je v individuálním přístupu k léčbě nemocného a volba optimálního léčiva a optimální dávky pro optimálního nemocného. Cílem tohoto přehledu není polemika se závěry „guidelines“, ale ukázat, že u některých léčiv a u některých nemocných bychom měli léčbu modifikovat podle individuálních genetických předpokladů léčeného.

Co stojí v pozadí interindividuálních rozdílů v terapeutické odpovědi?

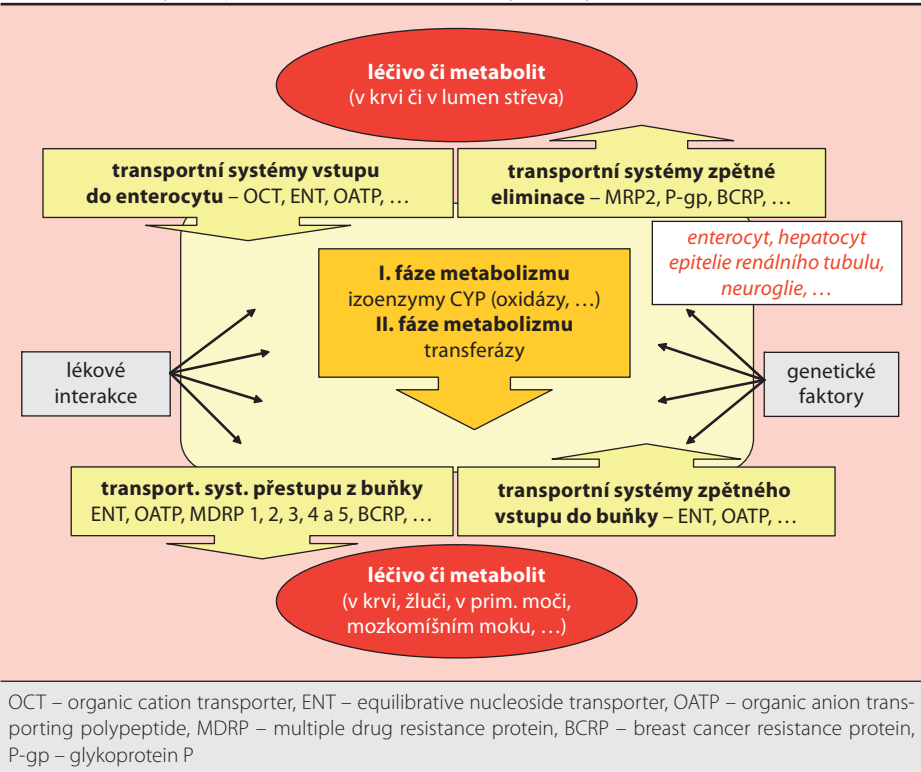
My všichni, včetně našich nemocných se navzájem významně lišíme. Díky polymorfismu

se lišíme na úrovni resorpce léku, jeho biotransformace, bioeliminace, transportu a distribuce – tedy v procesu jak organismus ovlivňuje osud léčiva v systému – tedy farmakokinetiku.

Méně si však uvědomujeme, že se lišíme i ve vlastní odpovědi na lék – tedy ve farmakodynamickém účinku. Příkladem jsou interindividuální a dokonce intraindividuální rozdíly na úrovni **receptoru** (tedy jeho exprese, afinity k ligandu, poměru aktivace a inhibice), na úrovni aktivity sdružených regulačních pochodů, či v odpovědi efektoru (například trombocytu či hladké svaloviny) na vlastní stimulaci. Podobně, působíme-li farmakologicky na **enzym**, je odpověď modifikována opět expresí, afinitou k substrátu, vlastní katalytickou aktivitou apod.). Tyto rozdíly ve farmakogenetické výbavě vedou k odlišné odpovědi na léčbu, zejména však k rozdílné odpovědi na danou dávku léčiva. Nelze opominout, že odlišnosti v farmakogenomické výbavě neurčují pouze terapeutický efekt, významně je ovlivněna i tolerance léku. Z těchto důvodů se stále častěji prosazuje individuální pohled na pacienta i na jeho léčbu, čili prosazuje se personalizovaná medicína beroucí ohled na genotyp i fenotyp léčeného. Jak bude doloženo, v léčbě antitrombotiky to platí dvojnásob.

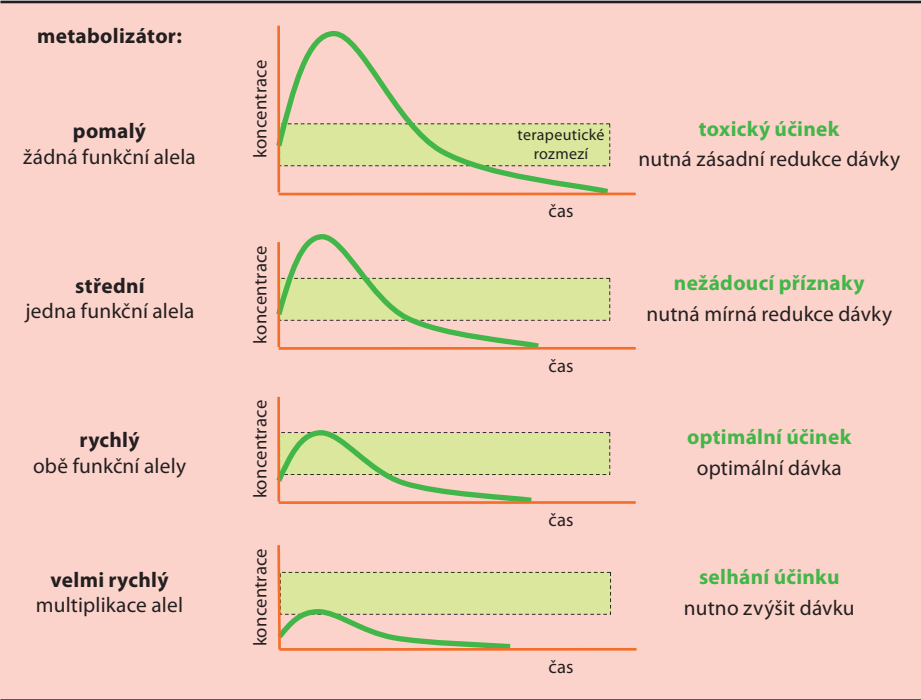
Největší význam v rozdílné terapeutické odpovědi na léčbu pramení z **farmakokinetických** rozdílů. Shrňme proto krátce naše znalosti o základních transportních a biotransformačních systémech, které stojí za těmito interindividuálními rozdíly v pozadí (obrázek 1). Prvý systém, se kterým se lék po perorálním podání setká, je systém transportních membránových proteinů umožňujících jak vstup do enterocyty, tak jeho eliminaci. Transportními proteiny je vybaven jak lumenální, tak kapilární pól buňky. Tyto systémy, které jsou zpravidla ATP dependentní, rozhodují o biologické dostupnosti léčiva. Jedním z nejvýznamnějších systémů eliminujících léky z organismu je glykoprotein P (P-gp). Již ve vlastním **enterocyty** molekula podléhá biotransformaci oxidázami systému CYP či transferázami s cílem změnit vlastnosti molekuly a usnadnit eliminaci, inaktivaci cizorodých látek – xenobiotik či ve zvláštních případech mohou bioaktivovat proléčivo. Stejná situace se opakuje na úrovni **hepatocyty** s tím rozdílem, že hepatální mikrozomy jsou v biotransformaci a bioeliminaci aktivnější, velká část zejména lipofilních léčiv bývá přímo eliminována do žluči. Frakce léčiva, která se objeví v systémové krvi, může dosahovat jen několika mála procent, či se může blížit 100%. Dalším klíčovým orgánem eliminace a inaktivace léčiv jsou ledviny, zejména **epitelie renálních tu-**

Obrázek 1. Transportní a metabolické systémy kontrolující osud léčiva v organismu (farmakokinetické vlastnosti) a jeho uplatnění na efektoru (farmakodynamický účinek)



OCT – organic cation transporter, ENT – equilibrative nucleoside transporter, OATP – organic anion transporting polypeptide, MDRP – multiple drug resistance protein, BCRP – breast cancer resistance protein, P-gp – glykoprotein P

Obrázek 2. Vztah typu metabolizátora a účinku léčiva



bulů. I ty jsou na obou pólech osazeny výkonnými transmembránovými transportními a metabolickými systémy, které specificky vylučují či resorbují metabolity či xenobiotika. Díky tomu, že tubulárním systémem protékají 4/5 krve v ledvinách, je tento systém daleko výkonnější než prostá glomerulární filtrace. Na všech úrovních, tj. enterocyty, hepatocyty, epitelii tubulárního systému ledvin, endotelií cév či neuroglií, probíhá intenzivní přeměna xenobiotik, tedy i léků

s cílem jejich inaktivace a eliminace. Většina těchto transportních a biotransformačních systémů je polymorfních a významná část populace pak patří na úrovni daného enzymu k **rychlým** (při obou funkčních alelách), **středním** (při jedné funkční alele) či **pomalým** metabolizátorům (při obou afunkčních alelách). Tyto rozdíly pak stojí v pozadí za skutečně významnými a často život ohrožujícími odchylkami na úrovni farmakokinetiky léků (obrázek 2).

Význam interindividuálních rozdílů v odpovědi na léčbu protideštičkovými léky

V procesu primární hemostázy jsou při vědomí značného zjednodušení klíčové tři kroky. Prvým je **adheze** trombocytu k subendoteliálním strukturám, zejména kolagenu, buď přímo či se zapojením bivalentních proteinů typu von Willebrandova faktoru (vWF). Druhým je **aktivace** se syntézou a uvolněním řady působků, z nichž dva mají klíčovou úlohu – **tromboxanu A₂** (TXA₂) a **adenosin difosfátu** (ADP). Oba faktory iniciují amplifikaci destiček a růst vlastního trombu, navodí vazokonstrikci omezující perfuzi a v případě ADP aktivují expresi vazných receptorů IIb/IIIa. Třetím krokem je vlastní **agregace**, tj. vazba trombocytů navzájem pomocí těchto receptorů a bivalentních proteinů, zejména fibrinogenu. Léčebně umíme zasáhnout zejména ve fázi aktivace a agregace trombocytu, inhibice adheze (blokátory vazné domény vWF či destičkového receptoru Ib) je zatím ve fázi klinického hodnocení.

Vlastní aktivaci trombocytů cestou TXA₂ umíme velmi účinně brzdit na dvou stupních – syntézu tlumíme **inhibitory cyklo-oxygenázy 1** (COX-1) či **blokádou tromboxanových receptorů**. V praxi je zlatým standardem kyselina acetylsalicylová ireverzibilně inhibující COX-1. Paralelně je možno snížit odpověď trombocytu na stimulaci ADP **blokádou receptorů typu P2Y₁₂** – **thienopyridinovými blokátory** (s ireverzibilní vazbou) či **non-thienopyridinovými blokátory** (s vazbou reverzibilní). Zlatým standardem jsou zatím thienopyridiny, nicméně v dohledné době přibude konkurence non-thienopyridinu – ticagreloru. Třetí oblast účinného farmakoterapeutického zásahu je **inhibice vazného receptoru IIb/IIIa** specifickými blokátory na bázi receptorové protilátky (abciximab) či analog vazné sekvence (tirofiban a eptifibatid). Na všech těchto klíčových místech hraje farmakogenetika svoji úlohu a dříve než zaškrtneme své „recipe“ bychom měli o rozdílech v interindividuální odpovědi nejen vědět, ale snažit se i riziko selhání léčby či výskytu toxických projevů léčby snížit.

Farmakogenetika v odpovědi na acetylsalicylovou kyselinu

O interindividuálních rozdílech v citlivosti k protideštičkovému působení **kyseliny acetylsalicylové** víme již dvě desítky let. Výskyt rezistence, či lépe řečeno nedostatečné léčebné odpovědi, se pohybuje v závislosti na podané dávce, citlivosti testu a testované populaci me-

zi 1 a 45 %. Tento údaj sám o sobě nic neříká, nicméně nedávná meta-analýza dvou desítek studií sledujících dopad rezistence k ASA na kardiovaskulární morbiditu/mortalitu v sekundární prevenci ukázal, že u 28 % nemocných označených jako rezistentní, byla nízká odpověď k léčbě spojena s téměř 4x vyšším výskytem kardiovaskulární příhody (HR 3,85, CI 3,08–4,80) (2). Toto zvýšení rizika příhody bylo obdobné ve skupině, které byla ASA podávána bez klopidoogrelu (HR 3,53, 95 % CI 2,66–4,68), či v rámci duální protideštičkové léčby s klopidoogrem (HR 4,12, 95 % CI 2,87–5,92). Obdobné riziko bylo přítomno v podskupině léčené nižší (75–100 mg) a vyšší dávkou (> 100 mg ASA denně). Tato meta-analýza je obzvláště cenná, neboť u 90 % pacientů bylo sledováno užití předepsané dávky léku, riziko nízké spolupráce ze strany nemocných tak bylo redukováno.

Jaké jsou příčiny rezistence k ASA? Příčin je mnoho, jistě se významně podílí nedostatečná spolupráce nemocných, nedostatečná dávka, lékové interakce, zejména ty inhibující acetylaci cyklo-oxygenázy ASA (např. ibuprofen), či vysoký obrat trombocytů při hyperaktivaci zánětem. Na úrovni změněné **farmakokinetiky** hraje rozhodující úlohu v dostupnosti ASA polymorfismus biodegradčních enzymů. Farmakologické vlastnosti ASA jsou závislé na vlastní biodegradaci mateřské molekuly i aktivního metabolitu kyseliny salicylové. Hlavní úlohu v metabolismu mají tři systémy: oxidáza CYP2C9 a dvě transferázy UGP-glukuronosyl-transferáza (UGT1A6) a ligáza ACSM2. Všechny tři enzymy jsou výrazně polymorfní a mění tak expozici aktivních substancí v závislosti na genotypu nemocného. Potenciál pro rychlou inaktivaci má zejména glukuronidáza UGT1A6. Její polymorfismus typu UGT1A6*2 vede k překotné aktivitě enzymu a nedostatečné dostupnosti aktivní látky (3). Obdobná je situace u isoenzymu CYP2C9 a ACSM2, rychlí metabolizátoři urychleně degradují aktivní substrát (4). Do jaké míry polymorfní metabolismus ASA přispívá k rezistenci není zatím osvětleno. Laboratorní práce význam podporují, prognostická studie chybí.

Dalším typem je polymorfismus enzymů a receptorů hrajících úlohu v aktivaci a agregaci trombocytu – jedná se tedy o rezistenci či toxicitu na podkladě **farmakodynamického**. Zde se účastní plejáda enzymů s významným polymorfismem, důležité jsou mutace na úrovni COX-1 a COX-2, popsány jsou desítky mutací s různým významem i výskytem, řada laboratorních a menší klinické práce podporují představu o jejich spojení s rezistencí a se se-

lhaním léčby (4). Obdobná je situace u polymorfismů destičkových vazných glykoproteinů Ia/IIa a Ibα, fixujících trombocyt ke strukturám subendoteliálního prostoru nebo glykoproteinů IIb/IIIa, vázících trombocyty navzájem (4). Vzhledem k tomu, že ani zde není doložen klinický význam jednotlivých mutací, není účelné se podrobněji problematikou zabývat. Doba, kdy budeme rutinně stanovovat molekulární podstatu „aspirinové rezistence“, ještě nenastala. Zda léčba alternativním ireverzibilním inhibitorem COX-1 – triflusalem – nebude spojena s rezistencí, není zřejmé, stejný otazník visí i nad blokátory tromboxanových receptorů – např. terutrobanem.

Pro dokreslení celého obrazu, také nežádoucí účinky ASA, jsou výrazně ovlivněny farmakogenetikou, od výskytu krvácení (např. při polymorfismech v oblasti osy renin-angiotensin-aldosteron), aspirinem-indukovaného astma (např. při polymorfismech v metabolické cestě leukotrienů), po urtikii (např. při polymorfismu adenosinového receptoru A3), všude se účastní mutace spojené s rozdílnou aktivitou enzymů, regulačních proteinů či receptorů.

Shrme-li, pak interindividuální variabilita k působení ASA i tolerance ASA jistě existuje, velmi pravděpodobný je též její genetický podklad, nicméně není shoda v optimálním screeningovém testu pro diagnostiku, ani ve specifické léčbě – na výsledky klinického hodnocení budeme muset ještě počkat. Na případu levné kyseliny acetylsalicylové je vidět, že na rozdíl od výnosné skupiny thienopyridinů, je oblast inhibice trombocytů pomocí ASA jaksi ve stínu a mimo zájem „velkých prostředků“. Velkých klinických studií je významně méně.

Farmakogenetika v odpovědi k působení inhibitorů ADP receptorů

Druhou, daleko lépe osvětlenou oblastí, je úloha polymorfismů ovlivňujících efekt léčby **thienopyridiny**, konkrétně klopidoogrem. Zde se daleko více uplatní změny farmakokinetiky, podle současných znalostí farmakodynamické vlastnosti, tedy odpověď na aktivní léčivo, ovlivněny nejsou. Genotyp každého z nás ovlivňuje jak resorpci, tak bioaktivaci klopidoogrelu a má nepochybně přímý dopad na účinek léčby a tak i prognózu nemocných. Ovlivnění nemusí být jen negativní, ale některé polymorfismy vedou též ke zvýšení účinku klopidoogrelu. Praktický význam má možnost farmakogenetického testování, které je v současné době v ČR dostupné, není finančně nadměrně nákladné a již současné kapacity zhruba desítky pracovišť

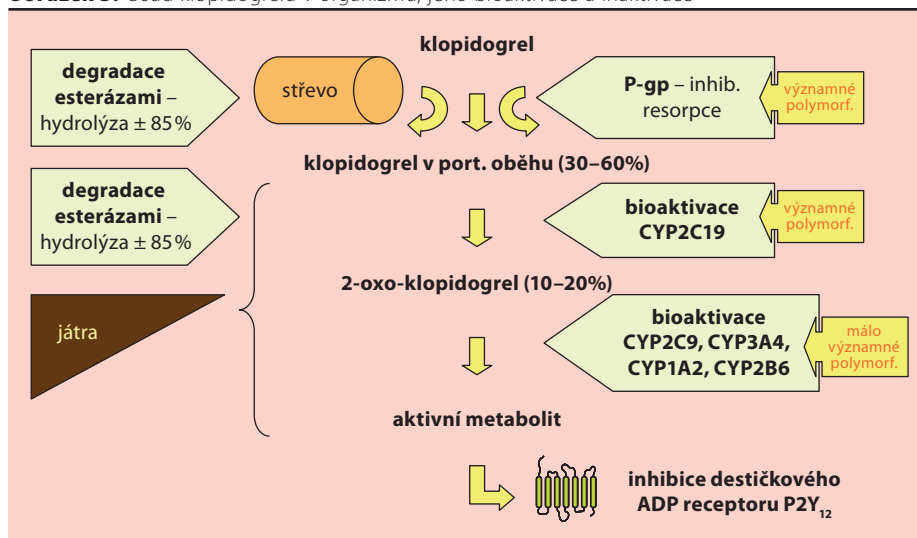
dostačují k postupnému rutinnímu využití. Z pohledu farmakoekonomického má jistě takovýto přístup oprávnění – převedení na jiný inhibitor ADP receptorů – může zajistit dostatečný antitrombotický účinek i u osob s primárně sníženou odpovědí na klopido-grel.

Klopido-grel, inhibitor destičkových ADP receptorů $P2Y_{12}$, je důležitý lék snižující riziko aterosklerotické příhody – infarktu myokardu, iktu či úmrtí. Opakovaně bylo doloženo, že část nemocných nereaguje na klopido-grel optimálně, či je dokonce k léčbě rezistentní. Příčin je více, společným jmenovatelem je však **nedostatečná hladina aktivního metabolitu klopido-grelu** potřebná k účinné inhibici trombocytů. S touto situací se při podávání doporučených dávek setkáváme u čtvrtiny až třetiny populace.

Význam variability resorpce klopido-grelu na úrovni enterocyty: jak ukazuje obrázek 3, v bioaktivaci klopido-grelu je několik klíčových kroků. Prvým je **resorpce** proléčiva v enterocyty. Ta může být významně ovlivněna aktivitou transportéru eliminujícího xenobiotika z organismu – **glykoproteinu P**. Při nízké aktivitě P-gp se vstřebá významně větší část léčiva nežli při standardní aktivitě, resp. při aktivitě vysoké se naopak dostupnost substrátu snižuje. Podobně aktivita P-gp v hepatocytu či tubulárních epiteliích ledvin ovlivňuje eliminaci léčiva do žluče či do moče. Rozdíly v expozici na podkladě rozdílné aktivity některého z desítek transportních systémů se neobjevují pouze u klopido-grelu, ale u všech substrátů. Významné je např. dvoj- až trojnásobné zvýšení hladin digoxinu při genotypu s inaktivním P-gp, které je spojeno s rizikem toxického efektu (5). Ve srovnání s polymorfizmy metabolických systémů – např. isoenzymu CYP2D6, kde rozdíly v expozici lipofilních betablokátorů např. metoprololu či karvedilolu při různé aktivitě enzymu mohou dosahovat 20–30násobku – je dopad změn aktivity P-gp daleko mírnější, řádově se jedná pouze o dvojnásobky expozice. Nicméně v řadě případů i tyto menší rozdíly mohou být klinicky významné, klopido-grel je příkladem jednoho z nich.

Je popsána řada mutací kódujícího genu ABCB1, většina je němých, nicméně mutace v pozici 2677 a 3435 jsou spojeny s alterací exprese P-gp a změnou jeho aktivity. Asi u čtvrtiny populace, homozygotních nosičů genotypu 3435TT (ABCB1 3435C → T), se setkáváme s vysokou expresí P-gp a s nižší dostupností klopido-grelu proti nosičům alely 3435CT. Naopak u jiné čtvrtiny populace je známa nižší aktivita P-gp

Obrázek 3. Osud klopido-grelu v organismu, jeho bioaktivace a inaktivace



u nosičů genotypu 3435CC spojená s vysokou dostupností klopido-grelu a větším klinickým efektem (6). Jak ukázala řada studií, tato vyšší exprese přináší pokles dostupnosti klopido-grelu, aplikace doporučených dávek (300 mg iniciační a 75 mg udržovací) může být v těchto případech nedostatečná a je spojena s vyšším rizikem příhody.

Na klinický význam farmakogenetické variability bylo upozorněno počátkem roku 2009. Analýza registru nemocných s akutními koronárními příhodami FAST-MI nalezla vzestup rizika kardiovaskulární příhody o 72 % (HR 1,72; 95 % CI 1,20–2,47) pro nemocné s genotypem 3435TT (7). Zcela stejné zvýšení rizika, tj. o 72 % (HR 1,72; 95 % CI 1,22–2,44) nalezla recentní post-hoc analýza studie TRITON-TIMI 38 pro kardiovaskulární mortalitu, infarkt myokardu či iktus (8). U homozygotů 3435TT (28 % populace) byl výskyt příhod 12,9 %, u nosičů genotypu 3435CT/CC byl 7,8 %. V druhé větvi studie – léčené prasugrelem – nebyl obdobný dopad farmakogenetiky na prognózu nemocných pozorován.

Význam variability bioaktivace klopido-grelu: druhým důvodem nedostatečné inhibice trombocytů po doporučených dávkách klopido-grelu je **nedostatečná biokonverze** klopido-grelu na vlastní aktivní metabolit, neboli nedostatečná bioaktivace. Klopido-grel, stejně jako ostatní thienopyridinové inhibitory ADP receptorů, je podáván pro lepší resorpci jako proléčivo. Za fyziologické situace je asi 85 % proléčiva degradováno esterázami a pouze 15 % je aktivováno na účinný metabolit (obrázek 3). V této skutečnosti je kámen úrazu, přeměna na aktivní metabolit neproběhne vždy tak, jak bychom očekávali – podkladem může být polymorfismus konvertujících enzymů, či inhibice

konverze některými léky, např. inhibitory protonové pumpy.

Enzymů nutných k bioaktivaci je více, klíčovým však je polymorfní oxidáza CYP2C19. Ta sice metabolizuje méně než 5 % užívaných léků, ale její kapacita v jaterních mikrozomech je nízká. Proto její snížená exprese či inhibice výrazně zpomalí metabolismus substrátů. Genotypy (např. CYP2C19*2 nebo CYP2C19*3) jsou spojeny s nižší expresí a aktivitou isoenzymu pro obě defektní alely, proto je tento stav často označován **varianta loss-of-function**; genotyp CYP2C19*17 je naopak spojen s aktivitou vyšší pro multiplikaci genu, tedy přítomnost více aktivních alel, obdobně je tento stav nazýván **varianta gain-of-function**.

Významným a bohužel rychlost bioaktivace klopido-grelu limitujícím enzymem je polymorfní CYP2C19. U nositelů alel CYP2C19*2 nebo CYP2C19*3, probíhá konverze klopido-grelu pomaleji, významně větší část proléčiva je inaktivována esterázami na neúčinné metabolity a výsledná nabídka účinného metabolitu klopido-grelu je významně snížena. Jak ukázala farmakogenetická analýza studie TRITON-TIMI-38, u nemocných s alespoň jednou defektní alelou pro tento isoenzym, vyskytující se u 25–30 % indoevropské populace, se objevilo o polovinu (HR 1,53; 95 % CI 1,07–2,19) více závažných kardiovaskulárních příhod (KV úmrtí, infarkt či iktus); trombóza po implantaci stentu bylo dokonce 3x více než u zbytku populace s funkčním isoenzymem (9). Tento nález byl potvrzen, stejně jako u polymorfismu P-gp, analýzou dat v registru nemocných s akutními koronárními příhodami FAST-MI (7).

Na druhé straně, vedle polymorfismů snižujících aktivitu CYP2C19, jsou známy polymorfismy zvyšujících aktivitu oxidázy. Jeden z nejčastějších,

objevující se asi u třetiny populace, je polymorfismus CYP2C19*17, typu **gain-of-function**. V analýze studie CURE zvýšila přítomnost tohoto genotypu efekt léčby klopido-grelem. Nositelé mutace CYP2C19*17, zvyšující konverzi klopido-grelu na aktivní metabolit, měli výraznější zisk z duální protideštičkové léčby. Rozdíl ve výskytu závažných kardiovaskulárních příhod po akutní koronární příhodě mezi placebem a klopido-grelem dosáhl u varianty gain-of-function plných 45 %, naproti tomu u nositelů ostatních genotypů (běžné i loss-of-function) byl rozdíl pouhých 15 % (10). Dá se tak soudit, že velká část účinku klopido-grelu na pokles mortality/morbidity byla koncentrována do skupiny velmi rychlých metabolizátorů na úrovni izoenzymu CYP2C19.

Nedávná meta-analýza 10 studií u 12 tisíc nemocných, která sledovala význam polymorfismu CYP2C19, doložila, že nositelé varianty loss-of-function, konkrétně CYP2C19*2, byli zatíženi téměř 30% zvýšením rizika závažné kardiovaskulární příhody typu MACE ve srovnání s nositeli běžného genotypu či gain-of-function varianty (11). V první skupině s málo aktivním CYP2C19, která činila 28% sledované populace, se objevily příhody typu MACE v 9,7 %, u zbytku probandů pak v 7,8 % (HR 1,29; 95 % CI 1,12–1,49, $p < 0,001$). Podobně byl pozorováno vyšší riziko úmrtí o téměř 80 % (HR 1,79; 95 % CI 1,1–2,91, $p = 0,019$) a riziko výskytu trombózy v místě implantace stentu vzrostlo více než trojnásobně (HR 3,45; 95 % CI 2,14–5,57, $p < 0,001$). Vyšší výskyt sledovaných příhod byl patrný jak u homo- tak u heterozygotů s inaktivitou CYP2C19, riziko bylo stejné u osob s nižším i vyšším rizikem trombotické komplikace.

Rozdíl mezi nositeli aktivního genotypu CYP2C19 (běžný genotyp a genotyp gain-of-function) proti inaktivnímu genotypu loss-of-function byl sledován též u nemocných s fibrilací síní, tedy v populaci, ve které se antitrombotické působení klopido-grelu uplatňuje relativně málo, kdy klíčový význam má blokáda sekundární hemostázy. Ve farmakogenetické podstudii studie ACTIVE A nebyl pozorován vliv polymorfismu CYP2C19 na prognózu léčených (12). V obdobné podskupině studie CURE byl patrný větší protektivní efekt klopido-grelu u nemocných s vysokou aktivitou isoenzymu, tedy s genotypem gain-of-function – s poklesem příhod typu MACE o 45 % proti ostatním genotypům – u nichž činil rozdíl proti placebu pouze o 15 %.

V populaci se jistě vyskytují nemocní s kombinací genotypu s nízkou expresí P-gp, kteří dobře resorbují klopido-grel a současně s vyšší aktivitou CYP2C19 s vysokou nabídkou aktivního

metabolitu, zde si lze představit optimální protideštičkový účinek a pravděpodobně i zvýšené riziko krvácení. Na druhé straně při koincidenci vysoké exprese P-gp a současně slabé aktivity CYP2C19 se budeme setkávat s úplnou rezistencí k běžným dávkám klopido-grelu. Bohužel zatím data o dopadu léčby klopido-grelem u takovýchto nemocných s kombinací různých polymorfizmů chybí.

Jak čelit těmto významným rozdílům v účinku klopido-grelu na úrovni farmakogenetiky? Jednou z možností je farmakogenetické testování. Určení polymorfismu CYP2C19*2 nebo CYP2C19*3 či ABCB1 3435C → T je sice schůdné a na řadě pracovištích se provádí, nicméně dá se očekávat, že ještě řada let uplyne než bude zavedeno rutinně v praxi. Alternativou genetického testování je stanovení rezistence po nasazení léčby laboratorními testy. Do jaké míry sníží testování odpovědi na klopido-grel či na ASA před podáním obou antitrombotik a úprava dávky podle zjištěných hodnot, řeší probíhající prognostická studie ARCTIC u nemocných významně ohrožených trombózou, tj. po implantaci lékového stentu. Výsledky menší studie VASP-GUIDED Clopidogrel Therapy ukazují, že tato možnost je slibná (13). Velké kardiovaskulární příhody (MACE) se objevily ve skupině s dávkou klopido-grelu upravovanou podle poměru VASP/VASP-P pouze jedenkrát (0,5 %), v kontrolní skupině se objevily příhody 18krát (8,9 %), nutno však zdůraznit nevelký počet sledovaných nemocných s elektivní PCI.

Další cestou by mohlo být zdvojnásobení dávky klopido-grelu, dosáhneme tak účinné inhibice aktivity a agregace trombocytů u většiny nemocných. Ač jednoměsíční studie CURRENT s dávkou 75 a 150 mg klopido-grelu u nemocných po koronární intervenci dokumentovala snížení výskytu trombotických okluzí v oblasti stentu asi o třetinu, výskyt závažných kardiovaskulárních příhod a úmrtí ovlivněn nebyl, pouze se zvýšilo riziko významného krvácení (14). Výsledky publikované verze se překvapivě liší od verze prezentované v r. 2009 na ECS, kde byly závěry optimističtější. Dopad dlouhodobého účinku dvojnásobné dávky dostupný není a rutinní podávání 150 mg klopido-grelu je zatím vyhrazeno pro nejvíce rizikové nemocné.

Konečně se nabízí užití blokátorů destičkových ADP receptorů nezávislých na farmakogenetických rozdílech v aktivitě P-gp a isoenzymu CYP2C19. O tom, že tato cesta je schůdná, doložila meta-analýza účinku čtyř nových inhibitorů – **prasugrelu, ticagreloru, cangreloru a elinogrelu** na pokles mortality u nemocných po koronár-

ní intervenci o 17 % (RR 0,83; 95 % CI 0,75–0,92; $p < 0,001$) a pokles výskytu trombóz v oblasti implantovaného stentu byl plných 40 % ve srovnání s klopido-grelem v obvyklém dávkování (15). Výskyt krvácení se paralelně zvýšil o 23 %, což reflektuje efekt u většího spektra nemocných odpovídajících na léčbu, farmakodynamický účinek je totiž u všech léků srovnatelný. Doklad, že efekt prasugrelu, ani ticagreloru není ovlivněn zatím známými farmakogenetickými variantami, doložily analýzy genetických podstudií v rámci studie TRITON-TIMI38 a PLATO (8, 16).

Zatím nebyla zmínka o tiklopidinu. Důvodem je naprostá absence dat o metabolismu a případné bioaktivaci tohoto inhibitoru ADP receptoru 1. generace, s nástupem klopido-grelu byl tiklopidin zapomenut.

Význam farmakogenetických rozdílů na výskyt nežádoucích účinků: mluvíme-li o protideštičkových lécích, pak nelze opomenout, že farmakogenetické rozdíly ovlivňují i výskyt nežádoucích účinků, konkrétně krvácení. Uvedme jen jeden příklad z analýzy studie PRAGUE-8 u nemocných po koronární angiografii léčených z velké většiny acetylsalicylovou kyselinou, ale neužívajících klopido-grel (17). Při sledování řady trombocytárních polymorfizmů měly vztah k výskytu krvácivých komplikací pouze dvě varianty, obě na úrovni cyklo-oxygenázy-1 (COX-1 (–842A > G a 50C > T, $p = 0,013$). Oba polymorfizmy ovlivňují syntézu eikosanoidů – tromboxanu A_2 a řady prostanoidů. Autoři uzavírají, že farmakogenetické testování může zvýšit bezpečnost intervenčních výkonů, resp. výskyt krvácení.

Farmakogenetika v odpovědi působení inhibitorů receptoru IIb/IIIa

Též vazné receptory typu IIb/IIIa jsou polymorfní, popsána je řada mutací na jednotlivých bazích v řídicích genech či samotných receptorů. Řada z nich je ve studiích in vitro spojena s vyšší agregací, jiné s agregací sníženou. Dosavadní znalosti zatím nejsou natolik dostatečné, aby sledování polymorfismu glykoproteinových receptorů IIb/IIIa mělo klinický význam a umožňovalo cílené zásahy do léčby.

Význam interindividuálních rozdílů v odpovědi na léčbu antivitaminy K

Interindividuální rozdíly v odpovědi na antivitaminy K, zejména na warfarin jsou známy již 50 let. Kliniky jsou plně respektovány a nastavení a vedení léčby podle hodnot INR je běžnou praxí. Na variabilitě účinku, zejména na cílové

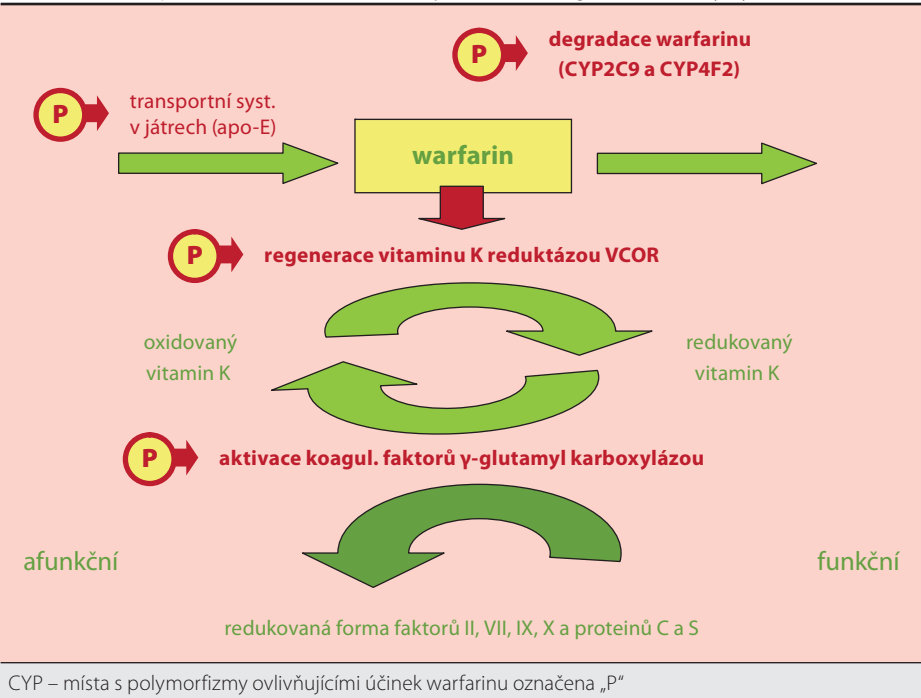
dávce se podílí jak rozdíly ve farmakokinetice (odlišná expozice léku či aktivního metabolitu), tak ve farmakodynamice, tedy v rozdílné odpovědi organismu na léčivo. Řada cílových struktur zodpovědných za působení warfarinu – zejména receptorů a enzymů – je polymorfních. Výsledná odpověď k působení léku má pak velké interindividuální rozdíly, konkrétně se v populaci objevuje velká mozaika jedinců s různou citlivostí k léku.

K aktivaci koagulačních faktorů je potřeba redukovaného vitaminu K, který přechází do formy oxidované a tato redukovaná forma je regenerována pomocí vitamin K reduktázy (VKOR). Vlastní redukce koagulačních faktorů je zprostředkována enzymaticky – γ -glutamyl karboxylázou (GGCX) (obrázek 4).

Warfarin, stejně jako ostatní antivitaminy K, inhibuje regeneraci oxidovaného vitaminu K bloádou tohoto enzymu. VKOR, resp. jeho podjednotka C1 je polymorfní a asi u čtvrtiny populace je více citlivá k inhibici antivitaminy K. Nositelé alelické varianty VKORC1AA konstituují výslednou subpopulaci **warfarin-senzitivní** a na druhém pólu stejná část jedinců s variantou VKORC1BB je k působení warfarinu méně citlivých, tj. subpopulace **warfarin-rezistentní**. Nositelé smíšeného genotypu VKORC1AB, tvořících asi 50 % populace, jsou středně citliví. Takto máme vedle sebe tři skupiny s rozdílnou odpovědí na lék. Nezávisle na přítomnosti dalších polymorfizmů ovlivňujících účinek warfarinu, pro genotyp senzitivní se účinná dávka pohybuje kolem 3 mg denně, pro rezistentní kolem 6 mg denně (18). Vedle polymorfizmu VCORC1 hraje v citlivosti k warfarinu též aktivita γ -glutamyl karboxylázy, výsledná citlivost k warfarinu však je polymorfizmem významně méně ovlivněna (19). Rovněž další polymorfizmy, např. v apolipoproteinu E (apo-E), kontrolující transport vitaminu K a warfarinu v játrech, mají klinicky relativně malý význam.

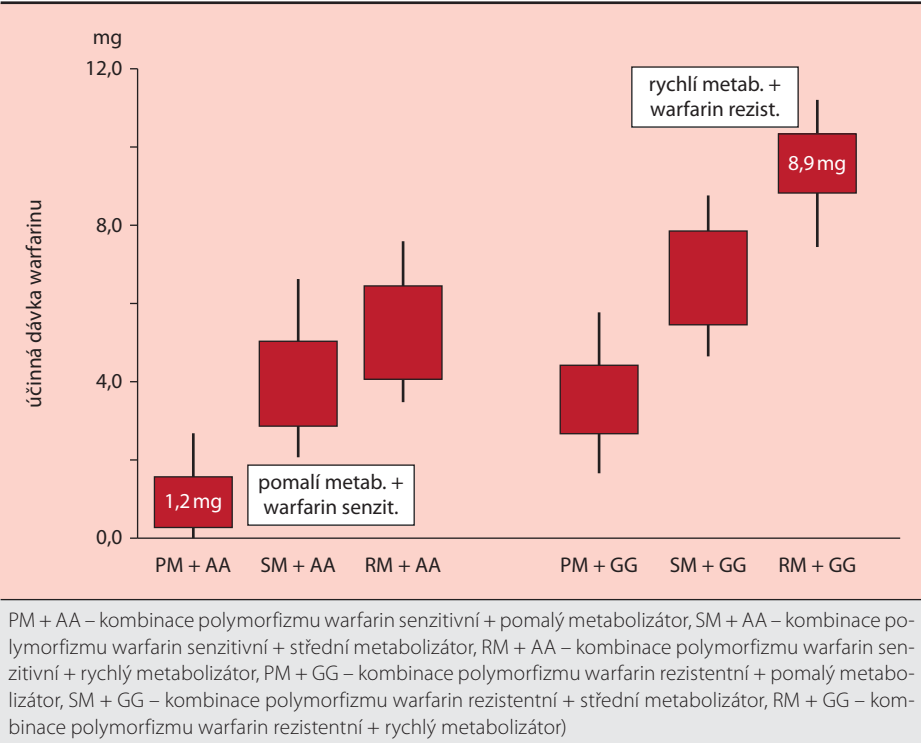
Naproti tomu, zcela zásadně ovlivňuje efekt warfarinu jeho metabolismus. Warfarin je transformován a inaktivován izoenzymem CYP2C9 a CYP4F2. Oba izoenzymy mohou být polymorfní. Hlavní význam má však oxidáza **CYP2C9**, která u části populace může být téměř afunkční – typ CYP2C9*1*1 – pomalý metabolizátor či naopak hyperaktivní, s genotypem CYP2C9*2*2 nebo CYP2C9*1*3, čili rychlý metabolizátor. U prvních stačí k plnému antikoagulačnímu účinku dávky warfarinu nízké, pro druhý extrém je potřeba volit dávky vysoké. Sejde-li se však současně genotyp pomalého metabolizátora a současně genotyp „senzitivní“, pak odpovídající léčebná

Obrázek 4. Aktivace koagulačních faktorů vitaminem K, místo blokády reduktázy vitamin K (VKOR) warfarinem, transport vitaminu K a warfarinu v játrech a biodegradace izoenzymy



CYP – místa s polymorfizmy ovlivňujícími účinek warfarinu označena „P“

Obrázek 5. Vliv polymorfizmu izoenzymu CYP2C9 a reduktázy vitaminu K – VKORC1 na dávkování warfarinu (upraveno podle citace 22)



PM + AA – kombinace polymorfizmu warfarin senzitivní + pomalý metabolizátor, SM + AA – kombinace polymorfizmu warfarin senzitivní + střední metabolizátor, RM + AA – kombinace polymorfizmu warfarin senzitivní + rychlý metabolizátor, PM + GG – kombinace polymorfizmu warfarin rezistentní + pomalý metabolizátor, SM + GG – kombinace polymorfizmu warfarin rezistentní + střední metabolizátor, RM + GG – kombinace polymorfizmu warfarin rezistentní + rychlý metabolizátor

dávka se pohybuje kolem 1–2 mg denně či může dokonce klesnout i pod 1 mg warfarinu denně (obrázek 5). Naopak druhým extrémem je koincidence „rezistentního“ genotypu a současně rychlého metabolizátora. Zde musíme zvýšit dávku až k 10 či 15 mg warfarinu denně (20–22). Na výsledné dávce warfarinu se uplatní řada dalších faktorů, význam mají lékové interakce a příjem vitaminu K v potravě. Nicméně genetické faktory zahrnující VKORC1 a izoenzymy

CYP2C9 a CYP5F2 vysvětlují asi dvě třetiny interindividuálních rozdílu v odpovědi na warfarin.

Stále tak platí slova připisovaná Voltairovi: „Léčíme chorobu, o které víme velmi málo, podáváme lék, o kterém víme ještě méně, a to vše u pacienta, o kterém nevíme téměř nic.“ Bohužel, ještě po 200 letech tato slova platí – v převážné většině o vlastním nemocném toho skutečně víme žalostně málo. Jeho farmakogenetická výbava nám dosud zůstává zpravidla neodhalena.

Přitom, jak je tomu například u zmíněného klopido-
grelu či u warfarinu, farmakogenetické tes-
tování je již rutinně dostupné, jen je musíme
u indikovaných nemocných využít.

Pro stanovení rizika selhání klopido-
grelu je významné určení přítomnosti genotypu rozho-
dujícího pro bioaktivaci: genotypy označova-
né jako varianta loss-of-function: CYP2C19*2
nebo CYP2C19*3 jsou spojeny s nižší expresí
a aktivitou isoenzymu a nízkou biokonverzí
klopido-
grelu na aktivní metabolit a se sníže-
ním jeho efektu, naopak genotyp CYP2C19*17
(varianta gain-of-function) je spojen s aktivitou
vyšší, spolehlivější bioaktivací a s menším vý-
skytem aterotrombotických příhod. Podobně
má význam stanovení polymorfizmů spojených
s dostupností klopido-
grelu. Nosiči genotypu
3435TT (ABCB1 3435C → T) mají vysokou expre-
si P-gp a nižší dostupnost klopido-
grelu, riziko
aterotrombotické příhody při selhání účinku
se zvyšuje.

Podobně u osob se zvýšeným rizikem kr-
vácení při antikoagulační léčbě antivitaminy K
má význam určení alelických variant reduktázy
vitaminu K – VKORC1 řídících farmakodyna-
mickou odpověď na antivitaminy K a genotyp
izoenzymů CYP2C9 a CYP5F2 odpovídajících
za farmakokinetiku warfarinu. Pomalí metabo-
lizátoři CYP2C9 s malou expresí enzymu, stejně
jako nositelé alelické varianty VKORC1AA, tedy
warfarin-senzitivní, mají vyšší riziko krvácení
v období nasazení léčby, běžná dávka warfarinu
vede rychle k předávkování, naopak u druhého
spektra nemocných – u warfarin rezistentních
a u rychlých metabolizátorů – se setkáváme
s častým selháním antikoagulačního efektu.

Zkratky

CYP – cytochrom P450

GGCX – γ-glutamyl karboxylázou

P-gp – glykoprotein P

VKOR – vitamin K reduktáza

Literatura

1. Chew DP, et al. Six-month survival benefits associated with clinical guideline recommendations in acute coronary syn-
dromes, Heart published online June 7, 2010.
2. Krasopoulos G, et al. Aspirin „resistance“ and risk of cardi-
ovascular morbidity: systematic review and meta-analysis.
BMJ. 2008; 336(7637): 195–198.
3. Chen Y, et al. UGT1A6 polymorphism and salicylic acid
glucuronidation following aspirin. Pharmacogenet Geno-
mics 2007; 17: 571–519.
4. Feher G, et al. The genetics of antiplatelet drug resistance.
Clin Genet. 2009; 75(1): 1–18.
5. Johne A, et al. Modulation of steady-state kinetics of di-
goxin by haplotypes of the P-glycoprotein MDR1 gene. Clin
Pharmacol Ther. 2002; 72(5): 584–594.
6. Sakaeda T, et al. MDR1 genotype-related pharmacokine-
tics and pharmacodynamics. Biol Pharm Bull. 2002; 25(11):
1391–400.
7. Simon T, et al. French Registry of Acute ST-Elevation and
Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investiga-
tors: Genetic determinants of response to clopidogrel and
cardiovascular events. N Engl J Med 2009; 360(4): 363–375.
8. Mega JL, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19
and cardiovascular outcomes after treatment with clopi-
dogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a phar-
macogenetic analysis. The Lancet, Early Online Publication, 29
August 2010.
9. Mega JL, et al. Cytochrome P-450 Polymorphisms and Re-
sponse to Clopidogrel. N Engl J Med 2009; 360(4): 411–413.
10. Paré G, et al. Effects of CYP2C19 genotype on clopidogrel
treatment in CURE and ACTIVE. N Eng J Med 2010; Early Onli-
ne Publication August 2010.
11. Hulot JS, et al. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated
patients according to cytochrome P450 2C19*2 loss-of-functi-
on allele or proton pump inhibitor coadministration: a syste-
matic meta-analysis. J Am Coll Cardiol. 2010; 56(2): 134–143.
12. Paré G, et al. Effects of CYP2C19 genotype on clopi-
dogrel treatment in CURE and ACTIVE, N Eng J Med 2010
(on line).

13. Bonello L, et al. Tailored clopidogrel loading dose accord-
ing to platelet reactivity monitoring to prevent acute and
subacute stent thrombosis. Am J Cardiol. 2009; 103(1): 5–10.

14. CURRENT-OASIS 7 Investigators: Dose comparisons of clo-
pidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. N Engl J
Med. 2010; 363(10): 930–942.

15. Bellemain-Appaix A, et al. New P2Y12 inhibitors versus clo-
pidogrel in percutaneous coronary intervention. J Am Coll
Cardiol 2010; Early Online Publ., 30 August 2010.

16. Wallentin L, et al. Effect of CYP2C19 and ABCB1 sing-
le nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment
with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syn-
dromes: A genetic substudy of the PLATO trial. Lancet 2010;
S0140–6736(10) 61274–3.

17. Motovska Z, et al. Platelet gene polymorphisms and risk
of bleeding in patients undergoing elective coronary angio-
graphy: A genetic substudy of the PRAGUE-8 trial, Atheroscle-
rosis 2010, journal homepage: www.elsevier.com/locate/
atherosclerosis.

18. Moyer TP, et al. Warfarin sensitivity genotyping: a review
of the literature and summary of patient experience. Mayo
Clin Proc 2009; 84(12): 1079–1094.

19. King CR, et al. Gamma-glutamyl carboxylase and its in-
fluence on warfarin dose. Thromb Haemost 2010; 104(4).

20. Yang L, et al. Impact of VKORC1 gene polymorphism
on interindividual and interethnic warfarin dosage require-
ment- A systematic review and meta analysis. Thromb Res.,
Early Online Publication 2009 Nov 24.

21. Moyer TP, et al. Warfarin sensitivity genotyping: a review
of the literature and summary of patient experience. Mayo
Clin Proc 2009; 84(12): 1079–1094.

22. Wang B, et al. Genetic Polymorphism of the Human Cy-
tochrome P450 2C9 Gene and Its Clinical Significance. Curr
Drug Metab 2009; 10(7): 781–834.

Článek přijat redakcí: 26. 9. 2010

Článek přijat po přepracování: 8. 11. 2010

Článek přijat k publikaci: 11. 11. 2010

prof. MUDr. Jan Bultas, CSc.

Farmakologický ústav 3. LF UK

Ruská 87, 100 00 Praha 10

jbul@lf1.cuni.cz