



Vážená pani doktorka / vážený pán doktor,

dovoľujeme si Vám týmto oznámiť uvedenie nového vyšetrenia spoločnosti KLINICKÁ BIOCHÉMIA s.r.o. :

Detekcia polymorfizmov ovplyvňujúcich dávkovanie Warfarínu a identifikácia rizikových pacientov

Warfarín patrí stále medzi najviac používané antikoagulačné lieky zo skupiny antagonistov vitamínu K (kumarínov) s vysokou klinickou efektivitou v prevencii a dlhodobej liečbe tromboembolických ochorení a komplikácií. Liečba Warfarínom má veľa výhod (cena, dostupnosť, jednoduchosť podávania), ale medzi pacientami existujú **výrazné rozdiely vo veľkosti dávky**, potrebnej na dosiahnutie optimálneho liečebného účinku. Nevhodné dávkovanie môže spôsobiť **život ohrozujúce komplikácie** - nadmerná dávka môže mať za následok rozsiahle vnútorné krvácanie a príliš malé množstvo lieku nezabráni vzniku trombov.

V Európe je okolo 2 miliónov pacientov liečených Warfarínom, ale viac než 20% z nich je hospitalizovaných v priebehu prvých 6 mesiacov kvôli krvácaným komplikáciám spôsobeným liečbou. **Optimálna dávka je závislá na mnohých faktoroch, a to genetických (40-60% variability) ako aj negenetických (30-50% variability)**, hlavne telesná hmotnosť a výška, pohlavie, vek, fyziologický stav organizmu alebo užívanie ďalších liekov.

Význam genetického vyšetrenia:

- určenie štartovacej a udržiavacej (dennej) dávky Warfarínu
- korekcie dennej dávky u warfarinizovaných pacientov
- identifikácia pacientov s rizikovým genetickým profilom, ktorí majú výrazne zvýšené riziko predávkovania kumarínmi a tým krvácania v prvých mesiacoch liečby
 - identifikácia kandidátov na liečbu novými antikoagulanciami ako liekom prvej voľby alebo kandidátov na výmeny lieku v prípade už nastavenej liečby
- identifikácia pacientov bez zvýšeného rizika – vhodné používanie Warfarínu
- zníženie výskytu závažných hemoragických komplikácií v priebehu liečby
- výrazné skrátenie času potrebného na dosiahnutie stabilného INR
- zvýšenie času v rozmedzí terapeutického rozsahu INR

Polymorfizmy 2 génov – CYP2C9 a VKORC1 sa výrazne podieľajú na znížení metabolizmu a clearance Warfarínu (CYP2C9) a zvýšení senzitivity na Warfarín (VKORC1). Tieto 2 gény sú zodpovedné za cca 40% variability účinku Warfarínu. Pacienti s rizikovým genetickým profilom u týchto variant potrebujú **nižšiu dennú dávku Warfarínu a majú vyššie riziko nadmernej antikoagulácie a krvácaných komplikácií.**

Metabolizmus Warfarínu – gén CYP2C9 – tento gén kóduje izoenzym cytochrómu P450 (enzýmy zodpovedné za metabolizáciu väčšiny liečiv). Podstatný význam majú varianty CYP2C9*2 (aktivita enzýmu len okolo 12 %) a CYP2C9*3 (aktivita enzýmu menšia ako 5 %!). Oproti referenčnej forme označovanej CYP2C9*1 (wilde type homozygot, normálny metabolizátor) je v prípade nosičstva alely CYP2C9*2 potrebná o **19 % nižšia dávka Warfarínu** a v prípade alely CYP2C9*3 až o **37 % nižšia dávka Warfarínu.**

Senzitivita na Warfarín – gén VKORC1 – tento gén kóduje podjednotku 1 vitamín K-epoxid-reduktázového komplexu – cieľového enzýmu Warfarínu. Je zodpovedný za konverziu vitamínu K-epoxidu na vitamín K. Pacienti s rizikovým polymorfizmom majú o 44% zníženú aktivitu promótoru a vyžadujú na dosiahnutie potrebnej hodnoty INR **nižšiu dennú dávku Warfarínu** než so štandardným genotypom. Pacientom s GA genotypom (polovica populácie) hrozí 2,3-krát a pacientom s genotypom AA (pätina populácie) 10,5-krát vyššie riziko predávkovania kumarínmi.

Poznámka: Okrem uvedených bežných polymorfizmov boli opísané aj vzácne mutácie v gene VKORC1, spôsobujúce rezistenciu na Warfarín a na ďalšie kumarínové antikoagulancia.

Efekt polymorfizmov CYP2C9 a VKORC1 na veľkosť dennej dávky Warfarínu sa **navzájom potencie** - riziko závažného krvácania v dôsledku predávkovania Warfarínom stúpa. Prítom až 20% populácie patrí k vysoko

rizikovej skupine nosičov polymorfizmu VKORC1 AA alebo GA a súčasne aspoň 1 rizikovej varianty CYP2C9. Podľa najnovších zistení je toto riziko štatisticky významné nielen vo fáze nasadenia, ale aj v priebehu udržiavacej liečby.

Metabolizmus vitamínu K – gén CYP4F2 – tento gén kóduje hepatálnu oxidázu vitamínu K1, ktorá katalyzuje premenu vitamínu K1 na hydroxyvitamín K1 a odstraňuje vitamín K z jeho cyklu. Pôsobí pri limitovaní nadmernej akumulácie vitamínu K. Nosiči variantnej alely V433M majú zníženú aktivitu enzýmu o 75% a majú tak vyššie hladiny vitamínu K1 v pečeni – **vyžadujú vyššiu dávku Warfarínu** o cca 8%.

Forma výsledku

1) identifikácia rizikových pacientov

CYP2C9*2	CC (wild type)	}	- vysoké riziko hemoragických komplikácií, zníženie dávky Warfarínu
	CT (heterozygot so stredným rizikom)		
	TT (homozygot s vysokým rizikom)		
CYP2C9*3	AA (wild type)	}	- výrazne vysoké riziko hemoragických komplikácií, zníženie dávky Warfarínu
	AC (heterozygot so stredným rizikom)		
	CC (homozygot s vysokým rizikom)		
CYP2C9*2 / *3	kombinovaný heterozygot s vysokým rizikom		- výrazne vysoké riziko hemoragických komplikácií, zníženie dávky Warfarínu
VKORC1 (-1639)	GG (normálna citlivosť na Warfarín)	}	- zníženie dávky Warfarínu
	AG (stredná citlivosť na Warfarín)		
	AA (vysoká citlivosť na Warfarín)		
Kombinácia týchto alel			- výrazne vysoké riziko hemoragických komplikácií, zníženie dávky Warfarínu
CYP4F2	CC (wild type)	}	- zvýšenie dávky Warfarínu
	CT (heterozygot)		
	TT (homozygot s rizikom)		

2) stanovenie vhodnej dávky Warfarínu podľa špeciálneho algoritmu

- tímom odborníkov bol vytvorený systém, ktorý špecialistom pomáha stanoviť čo najpresnejšiu terapeutickú dávku u konkrétneho pacienta
 - výsledky genetického vyšetrenia je možné interpretovať pomocou programu (kalkulátora) určeného pre lekárov, ktorý je dostupný na stránke <http://www.warfarindosing.org>
 - kalkulátor je aplikovateľný pre dospelých pacientov, najvyššia presnosť predikcie u pacientov starších ako 40r.
 - služba je dostupná zdarma bez akékoľvek registrácie
- Podrobné inštrukcie Vám na požiadanie pošleme.

Indikácie vyšetrenia:

- pacienti začínajúci warfarínovú terapiu
- pacienti, u ktorých sa vyskytla nestabilita pri dávkovaní Warfarínu
- pacienti, ktorí majú celkovo zvýšené riziko krvácania pri warfarínovej terapii (napr. HAS-BLED skóre nad 3 body, pacienti s recentným mozgovým infarktom)

Toto vyšetrenie môžu indikovať lekári so špecializáciou:

- vnútorné lekárstvo, hematológia a transfuziológia, angiológia a kardiológia so súčasnou špecializáciou vnútorného lekárstva, neurológia

Vyšetrenie je hrazené poisťovňami VŠZP a Union.

Odber biologického materiálu

Na vyšetrenie sa odoberá 2-5 ml periférnej krvi do sterilnej skúmavky s K₃EDTA (ako na krvný obraz). Bezprostredne po odobratí sa obsah skúmavky šetrne premieša a do transportu sa uchováva pri teplote 2-8°C. Odber nie je nutné vykonať nalačno.

Metóda: Real-time PCR (LightCycler 480 II)

Dostupnosť vyšetrenia: Vyšetrenie sa vykonáva v Medicínskom laboratóriu Žilina.

Výsledok vyšetrenia: do 2 týždňov

Literatúra:

Mega JL and Giugliano RP. Genotype-guided dosing of Warfarin. *Clinical Chemistry* 2014; 60 (7): 920-922.

Kawai VK et al. Genotype and risk of major bleeding during Warfarin treatment. *Pharmacogenomics* 2014; 15(16): 1973-1983.

Johnson JA et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and Warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 90: 625-629.

Tomek A. Farmakogenetika Warfarínu. Dizertačná práca 2013.

Mega JL et al. Genetics and the clinical response to Warfarin and edoxaban: findings from the randomized, double-blind ENGAGE AF-TIMI 48 trial. *Lancet* 2015 Mar 10; [e-pub]. ([http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61994-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61994-2))

V prípade akýchkoľvek otázok, prosím, **kontaktujte** RNDr. Janu Čamajovú, PhD., camajova@klinickabiochemia.sk, call centrum 0800 820 010 alebo MUDr. Juraja Vavriku, vavrik@klinickabiochemia.sk.