

# Odmerjanje zdravil pri starostnikih glede na genetski polimorfizem

## Genetic polymorphism and drug dosing in elderly patients

Vita Dolžan, Iztok Grabnar

**Povzetek:** Starostniki so zaradi fizioloških sprememb, pogostejšega obolenja za kroničnimi, degenerativnimi, rakavimi in vnetnimi boleznimi in povečane porabe zdravilnih učinkovin bolj podvrženi neželenim učinkom zdravil. Če se presnova zdravil zmanjša še zaradi genetskega polimorfizma, je pri starostnikih zaradi manjše zmogljivosti in manjše funkcionalne rezerve tveganje za zaplete pri zdravljenju večje kot pri mlajših odraslih. Predstavili smo genetski polimorfizem najpomembnejših citokromov P450, ki so udeleženi v presnovi zdravilnih učinkovin. Na primeru CYP2C9 smo prikazali pomen genetskega polimorfizma, demografskih dejavnikov in sočasnega jemanja zdravil za odmerjanje in presnovo varfarina.

**Gljučne besede:** Starostniki, genetski polimorfizem, citokromi P450, varfarin

**Abstract:** Elderly people are at increased risk of the adverse effects of drug treatment due to the physiological changes, increased morbidity and co-morbidity and polypharmacy. If drug metabolism is additionally decreased due to genetic polymorphism, the risk for adverse drug effects will be higher in an elderly patient compared to younger adults, due to decrease in maximal performance capacity and loss of homeostatic reserve. Genetic polymorphisms of major drug metabolising cytochromes P450 are presented. As an example, the influence of CYP2C9 genetic polymorphisms, demographic factors and concomitant drug treatment on warfarin maintenance dose and metabolism is presented.

**Key words:** Elderly, genetic polymorphism, cytochrome P450, warfarin

### Uvod

Starostniki v razvitem svetu predstavljajo najhitreje naraščajočo skupino prebivalstva. Pogostejše obolenje za kroničnimi, degenerativnimi, rakavimi in vnetnimi boleznimi spremlja tudi povečana poraba zdravil v tem starostnem obdobju. Po nekaterih podatkih so že pred desetletjem starostniki v povprečju jemali med dve in šest zdravil na recept in eno do tri zdravila, ki so v prosti prodaji (1). Sočasno jemanje večih zdravil pa je še v porastu, saj analize kažejo, da se je z uporabo kombinacije zdravil obolevnost in smrtnost pri starostnikih zmanjšala, kljub temu, da se je s tem znatno povečalo tveganje za klinično pomembne interakcije med zdravili (2). V ZDA so bili leta 1994 neželeni učinki zdravil glavni vzrok smrti več kot 100.000 hospitaliziranih bolnikov, kar predstavlja četrty do šesti najpogostejši vzrok smrti (3). Kateri so torej tisti dejavniki, ki vplivajo na to, ali bo starostnik bolj izpostavljen tveganju za pojav neželenih ali celo toksičnih učinkov zdravil?

### Vpliv staranja na presnovo zdravil

Starostniki so že zaradi narave fizioloških sprememb bolj podvrženi neželenim učinkom zdravil. S staranjem je povezano upadanje številnih fizioloških procesov in zmanjšanje funkcionalne rezerve. Poglavitne fiziološke spremembe, ki pri starostnikih lahko vplivajo na presnovo zdravil so: zmanjšana velikost jeter in manjši pretok krvi skozi jetra, nižja raven serumskih albuminov in zmanjšana ledvična funkcija. Starostniki imajo tudi večinoma nižjo telesno maso, manjši delež vode in večji delež maščevja.

Poleg samih fizioloških sprememb pa med posamezniki obstajajo velike razlike v hitrosti in učinkovitosti presnove zdravil tudi zaradi kroničnih in akutnih bolezni. Ker starostniki ponavadi jemljejo več zdravil, jih dodatno ogrožajo še interakcije med zdravili. Do teh lahko pride že v fazi absorpcije zdravila, klinično najpomembnejše pa so tiste interakcije, ko eno zdravilo vpliva na presnovo drugega. Do indukcije ali inhibicije encimskih sistemov za presnovo zdravil lahko pride tudi

zaradi prehrane. Na učinkovitost encimskih sistemov za presnovo zdravil, na transport zdravil in na aktivnost receptorjev pa pomembno vplivajo zlasti genetski dejavniki (4).

### Presnova zdravil

Večina telesu tujih snovi (ksenobiotikov), med katere sodijo tudi zdravila, se po vstopu v telo presnovi in s tem pretvori v bolj vodotopno obliko, ki se lahko izloči iz telesa. Z biotransformacijo zdravilo postane farmakološko manj učinkovito in se njegova toksičnost zmanjša, v nekaterih primerih pa se farmakološko neaktivna oblika zdravila z biotransformacijo aktivira v biološko bolj aktivno obliko.

Presnova zdravil v telesu poteka s pomočjo specifičnih encimskih sistemov pretežno v dveh stopnjah. Prvo stopnjo (faza I) predstavljajo reakcije oksidacije, redukcije ali hidrolize, pri katerih se v molekulo uvede ali izpostavi že obstoječa hidroksilna, amino, karboksilna ali tiolna skupina. Tako aktivirana molekula v naslednji stopnji (faza II) vstopi v reakcije konjugacije z glutationom, glukuronidom, sulfati ali organskimi kislinami. Po konjugaciji se vodotopnost molekule izredno poveča, kar olajša njeno ekskrecijo.

Večino encimov, ki presnavljajo zdravila kodirajo polimorfni geni. Genetski polimorfizem pomeni, da sta v populaciji prisotna najmanj dva alela nekega gena, pri čemer je frekvenca manj pogostega alela vsaj 1%. Genetski polimorfizem je najpogosteje posledica spremembe enega nukleotida (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), pa tudi insercij ali delecij nukleotidov. Polimorfni aleli pa so lahko tudi posledica delecije ali duplikacije celotnega gena. Te spremembe lahko privedejo do nastanka neaktivnega encima, encima z zmanjšano

aktivnostjo ali spremenjeno substratno specifičnostjo, zaradi duplikacije gena pa nastane več kopij encima in je presnova zdravila hitrejša.

### Klinični pomen genetskega polimorfizma v presnovi zdravil

Genetski polimorfizem encimskih sistemov vključenih v metabolizem zdravil je najpogostejši vzrok za interindividualne razlike v hitrosti in učinkovitosti presnove velikega števila zdravil. Genetski polimorfizem v presnovi zdravil lahko postane klinično pomemben, kadar ima zdravilo majhno terapevtsko širino in se presnavlja pretežno preko polimorfne encima, frekvenca polimorfni alelov pa je v populaciji visoka, recimo 10%. Zaradi genetsko pogojenih interindividualnih razlik v učinkovitosti in hitrosti presnove zdravil v populaciji obstaja skupina posameznikov s povečanim tveganjem za neželjene ali toksične učinke zdravljenja z določenim zdravilom. Po drugi strani pa obstaja skupina posameznikov, pri kateri bo zdravljenje z običajnimi odmerki tega zdravila neučinkovito.

### Citokromi P450 in presnova zdravil

Najbolj pogosto uporabljana zdravila presnavlja zlasti šest izoenzimov, CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 in CYP3A4, ki jih večinoma kodirajo polimorfni geni (5). Poglavitni citokromi P450, ki so vključeni v presnovo zdravilnih učinkovin so prikazani v Tabeli 1.

Tabela 1. Poglavitni citokromi P450 vključeni v metabolizem zdravil.

Encim	Frekvenca polimorfizma	Interakcije	Vpliv starosti na aktivnost	Tipični substrati
CYP1A2	redok	indukcija	zmanjšana	kofein teofilin paracetamol
CYP2C9	14-28% heterozigotov 0,2-1% homozigotov	inhibicija indukcija	zmanjšana?	varfarin glizipid fenitoin losartan
2C19	3-6% homozigotov (belci)		zmanjšana	omeprazol diazepam
CYP2D6	5-10% homozigotov (belci)	inhibicija	ne vpliva	antiaritmiki antidepresivi antipsihotiki kodein
CYP3A4	redok	inhibicija indukcija	zmanjšana v nekaterih študijah, ne pri amiodaronu	nifedipin eritromicin ciklosporin terfenadin

Večina citokromov P450, pomembnih za presnovo zdravil se izraža v jetrih, nekateri pa so prisotni tudi v ekstrahepatičnih tkivih. Tako je CYP3A4 pomemben za presnovo zdravil v tankem črevesu (predsistemski metabolizem), CYP2D6 pa za presnovo zdravil in endogenih substratov v možganih (6). Kar 60-70% zdravilnih učinkovin se presnovi preko treh encimov: CYP3A4, CYP2C9 in CYP2D6.

### CYP3A

Največji delež zdravil se presnovi preko CYP3A4, ki predstavlja 40-60% celokupnih citokromov P450 v jetrih. Med posamezniki obstajajo tudi 20-kratne razlike v nivoju izražanja CYP3A4.

Dosedaj je bilo opisano že 20 alelov CYP3A4, vendar je njihova frekvenca zelo nizka in samo z genetskim polimorfizmom niso mogli pojasniti razlik v presnovi zdravil med posamezniki. Polimorfizem je pogostejši pri izoencimu CYP3A5, ki ima podobno substratno specifičnost kot CYP3A4, je pa zaradi genetskega polimorfizma izražen le pri 20% belcev (7).

Čeprav so ugotovili, da genetski polimorfizem CYP3A4 vpliva na povečano tveganje za levkemijo po zdravljenju z epipodofilotoksini, pa na presnovo zdravil preko izoencimov CYP3A bolj pomembno kot genetski polimorfizmi vplivata inhibicija in indukcija z zdravilnimi učinkovinami in drugimi ksenobiotiki, pa tudi z nekaterimi hranili. Znano je, da sok grenivke inhibira CYP3A4, zato upočasnjuje presnovo sočasno vzetih zdravil in poveča tveganje za neželjene učinke. Interakcije med inhibitorji in substrati CYP3A4 predstavljajo klinično najbolj pomembne in nevarne interakcije med zdravili. Opisani so bili primeri kardiotsičnosti cisapridda in terfenadina ob sočasnem jemanju inhibitorjev CYP3A4 (npr. eritromicina, omeprazola ali ketokonazola) in toksičnost teofilina ob sočasnem jemanju eritromicina. Klinično je pomembna tudi indukcija CYP3A4 z fenobarbitalom, fenitoinom in rifampicinom. Zaradi indukcije se ob jemanju rifampicina zmanjša zanesljivost peroralne kontracepcije. Močan induktor CYP3A4 je tudi šentjanževka.

### CYP2D6

Čeprav CYP2D6 predstavlja le 2% celokupne količine citokromov P450 v jetrih, pa je udeležen pri presnovi kar 30% pogosto uporabljenih zdravil. Do danes je opisanih več kot 80 alelov gena CYP2D6. Nekateri polimorfizmi ne spremenijo ali pa le delno zmanjšajo encimsko aktivnost izoencima (CYP2D6\*2, \*9, \*10, \*17), več kot 20 alelov CYP2D6 pa kodira neaktiven protein (5).

Nosilci dveh funkcionalnih alelov so hitri metabolizatorji (Extensive Metabolisers - EM) z normalno encimsko aktivnostjo in jih je med belci 75%-85% (8). Nosilci enega funkcionalnega alela so srednje hitri metabolizatorji (Intermediate Metabolisers - IM), teh je med belci 10%-15% (9). Osebe, ki so nosilci dveh nefunkcionalnih alelov, nimajo aktivnega encima in v primerjavi s hitrimi metabolizatorji 10-200 krat počasneje hidrosilirajo substrate, ki se presnavljajo preko tega izoencimskega sistema. Fenotipsko so torej slabi metabolizatorji (Poor Metabolisers - PM). Takih je med belci 5%-10%, pri Slovencih pa 7% (8,10). Slabi metabolizatorji dosegajo zaradi manjše kapacitete za presnovo pri istih odmerkih zdravila višje plazemske koncentracije kot hitri metabolizatorji in so zato bolj podvrženi neželjenim učinkom nekaterih zdravil, zlasti antipsihotikov (11). Nosilci duplikacij gena

CYP2D6 pa imajo več kot tri, lahko pa tudi kar trinajst kopij aktivnega izoencima CYP2D6, zato je njihova kapaciteta za presnovo povečana (12). Uvrščamo jih med ultrahitre metabolizatorje, ki za dosego primerne terapevtske plazemske koncentracije zdravila potrebujejo tudi do trikrat večji odmerek zdravila kot hitri metabolizatorji (13).

Čeprav je število alelov CYP2D6 zelo veliko, pa ponavadi od tri do pet najpogostejših alelov predstavlja več kot 95% vseh alelov CYP2D6 v neki populaciji. Populacijske študije povezanosti med genotipom in fenotipom so pokazale, da pri beli rasi z določljivo sedmih najpogostejših alelov (CYP2D6\*2, \*3, \*4, \*5, \*6, \*9 in \*10) na podlagi genotipa lahko s skoraj 100% zanesljivostjo predvidimo fenotip (14).

Genetski polimorfizem CYP2D6 je klinično pomemben dejavnik tveganja za neželjene učinke antipsihotikov, antidepressivov in antiaritmikov (15). K temu prispeva dejstvo, da se mnogo zdravil iz te skupine presnavlja izključno preko CYP2D6 in da imajo hkrati tudi ozko terapevtsko širino in se pogosto uporabljajo. Antagonisti beta-adrenergičnih receptorjev imajo večjo terapevtsko širino, zato genetski polimorfizem CYP2D6 ne prispeva bistveno k povečanemu tveganju za neželjene učinke teh zdravil. Zaradi genetskega polimorfizma CYP2D6 so slabi metabolizatorji izpostavljeni večjemu tveganju za pojav ekstrapiramidne simptomatike ob jemanju nevroleptikov. Pri dolgotrajnem zdravljenju z antipsihotiki je tveganje za tardivne diskinezije pri starostnikih 5-6-krat večje kot pri mlajših odraslih, zato je pri njih vpliv genetskega polimorfizma na presnovo zdravila še toliko bolj pomemben (16). Zaradi pospešene presnove so pri ultrahitrih metabolizatorjih običajni odmerki nevroleptikov neučinkoviti (13).

Čeprav je genetski polimorfizem CYP2D6 klinično pomembnejši, pa so opisani tudi primeri inhibicije CYP2D6. Tako lahko na primer cimetidin sprevrže genotipsko hitre metabolizatorje v fenotipsko slabe metabolizatorje in poveča tveganje za pojav ekstrapiramidnih stranskih učinkov pri sočasnem zdravljenju z nevroleptiki.

### CYP2C9

CYP2C9 predstavlja 15% celokupnih jetrnih citokromov P450 in je pomemben za presnovo več kot sto zdravil, zlasti mnogih nesteroidnih antirevmatikov, peroralnih hipoglikemikov, nekaterih antagonistov angiotenzina II, antagonistov vitamina K in drugih pogosto uporabljenih zdravil. Poleg CYP2D6 je polimorfizem CYP2C9 eden klinično najbolj pomembnih zaradi ozke terapevtske širine nekaterih substratov (17).

Polimorfizem CYP2C9 je večinoma posledica zamenjave posameznih nukleotidov v kodirajočem ali regulatornem področju gena (5). Izmed več kot 50 polimorfnihih alelov sta pogosta le dva: CYP2C9\*2 in CYP2C9\*3 (18). Pri alelu CYP2C9\*2 zaradi substitucije 416C>T v eksonu 3 nastane encim, ki ima na mestu 144 cistein namesto arginina (19). Alel CYP2C9\*3 pa zaradi substitucije 1061A>C v eksonu 7 nosi zapis za encim, ki ima na mestu 359 izoleucin namesto leucina (18). Rezultati študij v pogojih »in vitro« kažejo, da ima encim CYP2C9.2 približno 12% in CYP2C9.3 le še približno 5% metabolne aktivnosti normalnega encima (19, 20).

Populacijske študije so pokazale, da je pri beli rasi pogostnost alela CYP2C9\*1 (normalni alel) okrog 82%, alela CYP2C9\*2 3-10% in alela

CYP2C9\*3 1-7%. Tako je med belci 66% homozigotov za normalni alel CYP2C9\*1, približno 33% oseb je heterozigotov za enega od polimorfnihih alelov, manj kot 2,5% oseb pa ima polimorfna oba alela (18). Podobno razporeditev polimorfnihih alelov CYP2C9 smo ugotovili tudi pri slovenski populaciji (21).

Poleg genetskega polimorfizma na interindividualno variabilnost v presnovi preko CYP2C9 vplivata tudi inhibicija ali indukcija CYP2C9. Opisani so bili primeri toksičnosti fenitoina ob sočasnem jemanju ketokonazola zaradi inhibicije CYP2C9. Zaradi indukcije CYP2C9 je bilo potrebno bolnikom, ki so prejeli varfarin ob začetku zdravljenja s fenobarbitalom zvišati odmerek varfarina, ob ukinitvi barbituratov pa ustrezno znižati odmerek varfarina (17).

## Vpliv polimorfizma CYP2C9 na presnovo in odmere varfarina pri bolnikih na vzdrževalnem zdravljenju

Varfarin deluje kot antagonist vitamina K in je eno najpogostejše uporabljenih antikoagulacijskih zdravil. Za varfarin je značilna izjemno velika razlika v dnevnem odmerku, s katerim dosežejo zadosten antikoagulacijski učinek, saj se dnevni odmerek zdravila med posameznimi bolniki razlikuje celo za več 10-krat. Zaradi tolikšne interindividualne variabilnosti v višini dnevnega odmerka in zaradi ozke terapevtske širine varfarina, je v toku zdravljenja z varfarinom potrebno pogosto spremljanje bolnika in merjenje protrombinskega časa v krvi, predvsem v obdobju uvajanja zdravila, ko bolniku individualno prilagajajo odmerek varfarina. Stalne, sicer redkeje kontrole protrombinskega časa pa so potrebne tudi pri bolnikih na dolgotrajnem vzdrževalnem zdravljenju. S tem se želijo izogniti komplikacijam zaradi nezadostne antikoagulacije, po drugi strani pa preprečiti neželene krvavitve zaradi prekomerne antikoagulacije.

Varfarin je racemat, zmes enakih količin S- in R-varfarina. Presnavljajo ga različni encimi, ki se izražajo v jetrih. S-varfarin se presnavlja skoraj izključno preko CYP2C9, R-varfarin pa se presnavlja preko CYP1A2, CYP2C19 in CYP3A4 (22). Številne raziskave so pokazale, da je genetski polimorfizem CYP2C9, ki presnavlja S-varfarin, eden od dejavnikov, ki pomembno prispevajo k veliki interindividualni variabilnosti v višini dnevnega odmerka. Redkeje pa so študije, ki so poskušale odgovoriti na vprašanje ali so genetske variante CYP2C9 povezane s spremenjeno metabolno aktivnostjo encima v pogojih »in vivo« (23, 24).

S sodelavci smo na veliki skupini slovenskih bolnikov na dolgotrajnem antikoagulacijskem zdravljenju, večinoma starostnikov (71,9 (9,0) let), proučevali vpliv genetskega polimorfizma CYP2C9, demografskih dejavnikov in sočasnega zdravljenja na dnevni odmerek in na presnovo varfarina (25). Rezultati naše študije so povzeti v tabeli 2.

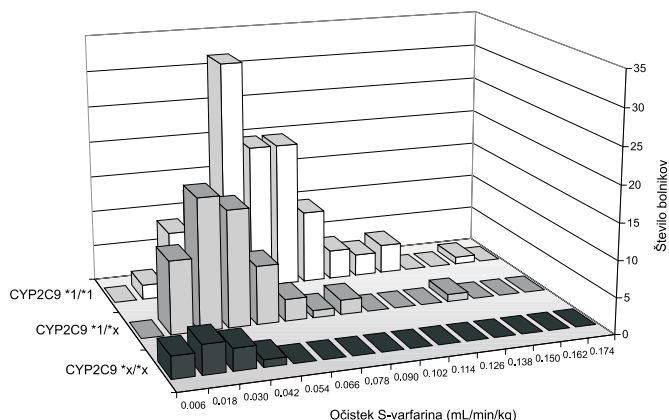
Ugotovili smo, da povprečni dnevni odmerek varfarina, ki je potreben za željeni učinek (INR v območju med 2,0 in 3,5), statistično značilno pada s številom polimorfnihih alelov. Nosilci dveh normalnih alelov so za enak učinek potrebovali v povprečju (s.d.) 4,88 (2,78) mg varfarina na dan, nosilci enega polimorfnega alela 2,71 (1,54) mg, nosilci dveh polimorfnihih alelov pa le 1,64 (1,03) mg varfarina dnevno (Tabela 2). Z merjenjem plazemskih koncentracij obeh enantiomer varfarina in njihovih monohidroksiliranih metabolitov (26) pa smo pokazali, da so kljub velikim razlikam v potrebnih dnevnihih odmerkih plazemske koncentracije S-varfarina, ki je aktivnejša izomera varfarina, podobne. Vzrok za razlike v potrebnem dnevnem odmerku varfarina torej lahko pripišemo različno učinkoviti presnovi S-varfarina. Celokupni plazemski očistek S-varfarina izražen na kilogram telesne teže brez maščob (LBW) je tako največji pri nosilcihih dveh normalnih alelov 0,065 (0,025) mL/min/kg, pri nosilcihih enega polimorfnega alela je 0,041 (0,021) mL/min/kg, pri nosilcihih dveh polimorfnihih alelov pa 0,020 (0,011) mL/min/kg (Slika 1). Zmanjšana učinkovitost presnove S-varfarina pri

Tabela 2: Farmakokinetika varfarina glede na genotip CYP2C9.

	Vsi bolniki	CYP2C9 genotip			p-vrednost
		*1/*1	*1/*x	*x/*x	
Število bolnikov (moški/ženske)	94/94	63/55	26/33	5/6	0,38 <sup>§</sup>
Dnevni odmerek varfarina (mg/dan)	4,01 (2,64)	4,88 (2,78)	2,71 (1,54)	1,64 (1,03)	< 0,001 <sup>a</sup>
Plazemska koncentracija varfarina					
R,S-varfarin (mg/L)	1,44 (0,61)	1,57 (0,62)	1,26 (0,57)	1,04 (0,24)	< 0,001 <sup>b</sup>
R-varfarin (mg/L)	0,94 (0,44)	1,08 (0,43)	0,76 (0,36)	0,44 (0,11)	< 0,001 <sup>a</sup>
S-varfarin (mg/L)	0,50 (0,23)	0,49 (0,22)	0,50 (0,25)	0,60 (0,21)	0,22
Plazemski očistek varfarina <sup>#</sup>					
R,S-varfarin (ml/min/kg)	0,037 (0,015)	0,039 (0,014)	0,031 (0,015)	0,021 (0,010)	< 0,001 <sup>a</sup>
R-varfarin (ml/min/kg)	0,028 (0,012)	0,029 (0,011)	0,026 (0,012)	0,025 (0,009)	0,18
S-varfarin (ml/min/kg)	0,055 (0,027)	0,065 (0,025)	0,041 (0,021)	0,020 (0,011)	< 0,001 <sup>a</sup>

Aritmetične sredine (standardne deviacije); <sup>#</sup>Plazemski očistek je podan na kilogram telesne teže brez maščob (Jamesova formula); p-vrednost podaja značilnost razlike med skupinami (test ANOVA); <sup>§</sup>Pearsonov  $\chi^2$  test za kategorične spremenljivke; <sup>a</sup>vse tri skupine se med seboj značilno razlikujejo; <sup>b</sup>genotip CYP2C9\*1/\*1 se značilno razlikuje od genotipov CYP2C9\*1/\*x in \*x/\*x (test najmanjše pomembne razlike, p<0,05)

nosilcih polimorfni alelov se je torej kompenzirala z nižjimi odmerki varfarina, posledično pa so bile zato nižje tudi plazemske koncentracije R-varfarina (25).



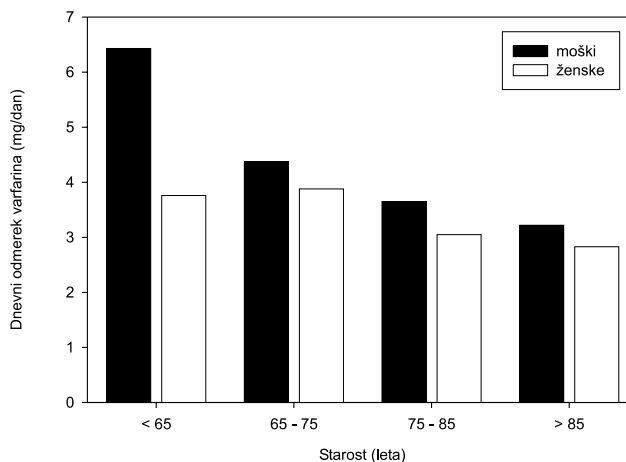
Slika 1: Vpliv polimorfizma CYP2C9 na očistek S-varfarina.

Z multivariatno statistično analizo smo ovrednotili vplive genetskih (polimorfizem CYP2C9) in demografskih (starost, LBW, trajanje terapije z varfarinom, koncentracija plazemskih albuminov) dejavnikov ter sočasnega jemanja učinkovin, ki vstopajo v interakcije z varfarinom (zdravila, vnos zelenjave bogate z vitaminom K in soka grenivke). Ugotovili smo, da kar štirje izmed proučenih dejavnikov značilno vplivajo na potrebni dnevni odmerek varfarina ( $p < 0.05$ ). Najpomembnejši je genetski polimorfizem CYP2C9 s katerim lahko pojasnimo kar 27% variabilnosti v potrebnem dnevnem odmerku varfarina. Z upoštevanjem starosti bolnika, LBW in sočasne terapije z učinkovinami, ki inducirajo presnovo varfarina (karbamazepin in primidon) pa lahko dodatno razložimo še 10% variabilnosti. Pri starejših bolnikih se potrebni dnevni odmerek varfarina zmanjša za 1,7% na leto, poveča pa se pri bolnikih na sočasni terapiji z induktorji presnove (78,1%) in tistih z večjo LBW (0,9%/kg). Na osnovi teh rezultatov smo razvili matematični model, ki nam omogoča določanje potrebnega dnevnega odmerka varfarina v vzdrževalni fazi zdravljenja (25):

$$\text{Odmerek [mg/dan]} = \exp(2,161 - 0,507 \cdot (*1/*x) - 1,018 \cdot (*x/*x) - 0,0173 \cdot \text{STAROST[let]} + 0,577 \cdot \text{IND} + 0,00884 \cdot \text{LBW[kg]})$$

V enačbi v primeru prisotnosti enega (\*1/\*x) ali dveh (\*x/\*x) polimorfni alelov in v primeru sočasne terapije z induktorji presnove varfarina (IND) pripišemo dihotomnim spremenljivkam vrednost 1, sicer 0.

Na enak način smo analizirali tudi vplive na očistek R- in S-varfarina. Izkazalo se je, da imata na očistek varfarina pomemben vpliv tudi sočasna terapija z inhibitorji presnove varfarina (amiodaron, fenofibrat, fluvastatin, gemfibrozil in losartan) in koncentracija plazemskih albuminov (25). Zanimivo je, da se s starostjo bolnikov plazemski očistek R-varfarina zmanjšuje, na plazemski očistek 3 do 5 krat bolj učinkovite S-izomere pa starost nima vpliva. Iz tega lahko sklepamo, da se s staranjem povečuje farmakodinamična učinkovitost varfarina (Slika 2).



Slika 2: Vpliv starosti na povprečni dnevni vzdrževalni odmerek varfarina.

Starostne spremembe v farmakokinetiki varfarina neposredno klinično verjetno niso pomembne, gotovo pa zaradi zvečane občutljivosti na varfarin postane relativno pomembnejši vpliv genetskega polimorfizma CYP2C9.

Pomen genotipizacije CYP2C9 pred začetkom zdravljenja z varfarinom za znižanje tveganja krvavitev ostaja predmet prospektivnih raziskav na bolnikih v uvajalnem obdobju zdravljenja. Hitri postopki izolacije in analize DNA, sodobne tehnologije z DNA mikromrežami (AmpliChip CYP450 Test®) in vedno nižji stroški genotipizacije, možnosti individualiziranih farmakoterapevtskih ciljev in Bayesovega adaptivnega vodenja (27) in ne nazadnje rezultati nekaterih farmakoeonomskih raziskav (28) pa tudi pri več kot pol stoletja poznani učinkovini, kot je varfarin (29) veliko obetajo.

## Zahvala

Sodelavcem Darji Herman in Katji Breskvar z Inštituta za biokemijo Medicinske fakultete, Igorju Locatelliju, Vojku Kmetcu in Alešu Mrharju s Fakultete za farmacijo, Poloni Peternel in Mojci Stegnar s Klinike za žilne bolezni, Klinični Center Ljubljana se zahvaljujeva za trud vložen v raziskavo vpliva polimorfizma CYP2C9, demografskih dejavnikov in sočasnega zdravljenja na vzdrževalni odmerek in presnovo varfarina.

## Literatura

- Fulton M, Riley AE. Polypharmacy in the elderly. A literature review. J Am Acad Nurse Pract 2005; 17: 123-132.
- Turnheim K. Drug therapy in the elderly. Exp Gerontol 2004; 39: 1731-1738.
- Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA 1998; 279:1200-1205.
- Nebert DW. Polymorphisms in drug-metabolizing enzymes: What is their clinical relevance and why do they exist? Am J Hum Genet 1997; 60:265-271.



5. [www.imm.ki.se/CYPalles/CYP2D6.htm](http://www.imm.ki.se/CYPalles/CYP2D6.htm) (april 2005).
6. Siegle I, Fritz P, Eckhardt K, Zanger UM, Eichelbaum M. Cellular localization and regional distribution of CYP2D6 mRNA and protein expression in human brain. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 237-245.
7. Kuehl P, Zhang J, Lin Y et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001; 27: 383-391.
8. Bertilsson L. Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation: current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet* 1995; 29: 192-209.
9. Raimundo S, Fischer J, Eichelbaum M, Griese E-U, Schwab M, Zanger UM. Elucidation of the genetic basis of the common 'intermediate metaboliser' phenotype for the drug oxidation by CYP2D6. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 1-5.
10. Dolžan V, Rudolf Z, Breskvar K. Human CYP2D6 gene polymorphism in Slovenian cancer patients and healthy controls. *Carcinogenesis* 1995; 16: 2675-2678.
11. Kirchheiner J, Nickchen K, Bauer M et al. Pharmacogenetics of antidepressants and antipsychotics: the contribution of allelic variations to the phenotype of drug response. *Mol Psychiatry* 2004; 9: 442-473.
12. Lundquist E, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic mechanisms for duplication and multiduplication of the human CYP2D6 gene and methods for detection of duplicated CYP2D6 genes. *Gene* 1999; 226: 327-338.
13. Bertilsson L, Dahk M-L, Sjökvist F et al. Molecular basis for rational megaprescribing in ultrarapid hydroxylators of debrisoquine. *Lancet* 1993; 341: 363.
14. Sachse C, Brockmoller J, Bauer S, Roots I. Cytochrome P450 2D6 variants in a Caucasian population: allele frequencies and phenotypic consequences. *Am J Hum Genet* 1999; 60: 284-295.
15. Nemeroff CB, DeVane CL, Pollock BG. Newer antidepressants and the cytochrome P450 system. *Am J Psychiatry* 1996; 153: 311-20.
16. Jeste DV. Tardive dyskinesia in older patients. *J Clin Psychiatry*. 2000;61 Suppl 4:27-32.
17. Kirshheiner J, Brockmoller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 77: 1-16.
18. Lee CR, Goldstein JA, Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphism: a comprehensive review of in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 251-263.
19. Rettie AE, Wienkers LC, Gonzalez FJ, Trager WF, Korzekwa KR. Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant CYP2C9. *Pharmacogenetics* 1994; 4: 39-42.
20. Haining RL, Hunter AP, Veronese ME, Trager WF, Rettie AE. Allelic variants of human cytochrome P450 2C9: baculovirus-mediated expression, purification, structural characterization, substrate stereoselectivity, and prochiral selectivity of wild-type and I359L mutant forms. *Arch Biochem Biophys* 1996; 333: 447-458.
21. Herman D, Dolžan V, Breskvar K. Genetic polymorphism of cytochromes P450 2C9 and 2C19 in Slovenian population. *Zdrav vest*. 2003; 72: 347-351.
22. Daly AK, King BP. Pharmacogenetics of oral anticoagulants. *Pharmacogenetics* 2003; 13(5): 247-252.
23. Scordo MG, Pengo V, Spina E, Dahl ML, Gusella M, Padrini R. Influence of cytochrome P450 CYP2C9 and 2C19 genetic polymorphisms on warfarin maintenance dose and metabolic clearance. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72: 702-710.
24. Kamali F, Khan TI, King BP et al. Contribution of age, body size, and CYP2C9 genotype to anticoagulant response to warfarin. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 204-212.
25. Herman D, Locatelli I, Grabnar I et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. *Pharmacogenomics J* 2005; in press.
26. Locatelli I, Kmetec V, Mrhar A, Grabnar I. Determination of warfarin enantiomers and hydroxylated metabolites in human blood plasma by liquid chromatography with achiral and chiral separation. *J Chromatogr B* 2005; 818:191-198.
27. Jelliffe RW, Schumitzky A, Bayard D et al. Model-based, goal-oriented, individualised drug therapy. *Clin Pharmacogenetics* 1998; 34: 57-77.
28. You JHS, Chan FWH, Wong RSM, Cheng G. The potential clinical and economic outcomes of pharmacogenetics-oriented management of warfarin therapy – a decision analysis. *Thromb Haemost* 2004; 92: 590-597.
29. Gustafsson D, Bylund R, Antonsson T et al. A new oral anticoagulant: the 50-year challenge. *Nature Rev. Drug Discovery* 2004; 3: 649-659.