

Název vyšetření: Metabolismus warfarinu - detekce polymorfizmů v cytochromu P450 CYP2C9 (C430T, A1075C) a v genu pro VKORC1 (-1639G>A)

Popis:

Warfarin patří mezi antikoagulační léky s vysokou interindividuální variabilitou v dávkování. S-warfarin je převážně metabolizován polymorfním cytochromem P450 CYP2C9. Enzym cytochrom P450 CYP2C9 (rodina 2, podrodina C, polypeptid 9), kódovaný genem na chromozómu 10 (10q24), je členem superrodiny enzymů P450. Proteiny P450 jsou monooxygenázy, které katalyzují mnoho reakcí zahrnující metabolismus drog a syntézu cholesterolu, steroidů a dalších lipidů. Cytochrom P450 CYP2C9 je produkován v játrech a je zodpovědný za 50% epoxigenázové aktivity v lidských játrech. V buňkách se tento protein nachází v endoplazmatickém retikulu.

Dosud bylo identifikováno dvacet čtyři alel, z nichž klinicky nejvýznamnější jsou alely CYP2C9*2 a CYP2C9*3. Tyto alelické varianty jsou známy tím, že zvyšují antikoagulační efekt warfarinu a snižují denní dávky potřebné pro zachování INR v terapeutickém rozsahu. V alele CYP2C9*2 dochází k nukleotidové substituci (tranzice C za T v pozici 430 ve 3. exonu) tak, že se ve výsledném polypeptidovém řetězci na místě 144 nachází místo argininu cystein [R144C], a v polypeptidovém řetězci kódovaném alelou CYP2C9*3 se na místě 359 nachází místo izoleucinu leucin [I359L] (tranzice A za C v pozici 1075 v 7. exonu nukleotidového řetězce), na rozdíl od běžné alely CYP2C9*1. Mezi populacemi však existují rozdíly v distribucích jednotlivých alel. V „bílé“ populaci se frekvence alely CYP2C9*2 pohybuje v rozmezí 8 – 12,5% a frekvence alely CYP2C9*3 v rozmezí 3 – 8,5%.

Nižší dávkování warfarinu se uplatňuje u nositelů jedné nebo dvou polymorfních alel (*2, *3) než u nositelů dvou běžných alel (*1).

Gen VKORC1, který je lokalizován na chromozomu 16p12-q21, kóduje hlavní podjednotku transmembránového proteinu - vitamin K epoxid reduktázu (VKOR) o velikosti 163 aminokyselin. Komplex VKOR recykluje vitamin K 2,3-epoxid na vitamin K hydrochinon, který je esenciálním kofaktorem posttranslační γ -karboxylace koagulačních faktorů FII, FVII, FIX, FX a proteinů C, S a Z. V genu VKORC1 byly zjištěny dva nejčastější polymorfizmy: 1173 C>T lokalizovaný v intronu 1 a -1639 G>A nacházející se v promotorové oblasti. U těchto dvou polymorfismů byla prokázána těsná vazba, a proto je zcela dostačující detekce jedné mutace, v tomto případě mutace -1639 G>A.

Efekt polymorfizmů CYP2C9 a VKORC1 na velikost denní dávky warfarinu potřebné k udržení terapeutického rozmezí se navzájem potencuje. Cca 20% populace patří k vysoce rizikové skupině lidí s genotypem wt / mut. -1639 G•A nebo mut. -1639 G•A / mut. -1639 G•A v genu pro VKORC1, kteří současně nesou alespoň jednu polymorfní alelu (*2, *3) v genu pro CYP2C9. Tito pacienti jsou ve vysokém riziku předávkování warfarinem, zejména v úvodu léčby.

Jednotky: -

Referenční hodnoty:

Negat. - negativní = nemutovaný homozygot = *wild type* = wt / wt;
*1/*1

Heteroz. – heterozygot = wt / mut; *1/*2; *1/*3; *2/*3

Homozyg. - mutovaný homozygot = mut / mut; *2/*2; *3/*3

Odběr:

- Nesrážlivá periferní krev, zkumavka s protisrážlivou látkou K₃EDTA nebo citrátem sodným
- Odebraný biologický materiál je třeba skladovat při 4–8 °C, pokud není bezprostředně po odběru zaslán do laboratoře. Za těchto podmínek je možné uchovávat biologický materiál 7 dnů.
- Pokud se předpokládá delší uskladnění biologického materiálu před odesláním do laboratoře, je vhodné odebraný biologický materiál zamrazit.
- Krev nesmí být odebrána do heparinu!
- Pro molekulárně genetické vyšetření stačí jedna malá zkumavka krve (2 ml).
- Odběr není třeba provádět na lačno!

Biologický materiál: nesrážlivá periferní krev

Provádí se: 1x týdně

Doba odezvy: 7 pracovních dnů