

Využití farmakogenetiky při léčbě warfarinem

A. Tomek^{1,2}, V. Maťoška¹, T. Kumstýřová¹, L. Tábořský¹

¹ Laboratoř molekulární diagnostiky Oddělení klinické biochemie, hematologie a imunologie Nemocnice Na Homolce Praha, přednosta prim. MUDr. Luděk Tábořský

² Neurologická klinika dospělých 2. lékařské fakulty UK a FN Motol Praha, přednosta doc. MUDr. Martin Bojar, CSc.

Souhrn: Warfarin je i přes svůj nízký terapeutický index, značnou interindividuální variabilitu dávky léku a možné závažné krvácivé komplikace klíčovým lékem v terapii a prevenci tromboembolických příhod. Aplikace farmakogenetiky při vyšetření individuálních polymorfizmů genu určujícího farmakokinetiku warfarinu (CYP 2C9) a senzitivitu na warfarin (VKORC1) je slibnou taktikou pro bezpečnost antikoagulační terapie. První možností aplikace farmakogenetických dat je vypočtení denní dávky warfarinu pro jednotlivé pacienty ještě před zahájením vlastní terapie. Druhou možností je vyšetřování již warfarinizovaných pacientů, kde můžeme zjistit pacienty s rizikovým genotypem, u kterých je předpokládáno vyšší riziko krvácení. Právě zhodnocení současných možností farmakogenetiky a prvním výsledkům autorů v těchto dvou oblastech je věnován následující článek.

Klíčová slova: warfarin – farmakogenetika – CYP 2C9 – VKORC1

Application of warfarin pharmacogenetics

Summary: Even with its narrow therapeutic index, interindividual variability in daily dose and possible serious bleeding complications, is warfarin the mainstay of therapy and prevention of thromboembolic disease. The application of pharmacogenetics in testing individual polymorphisms of two genes CYP 2C9 (pharmacokinetics of warfarin) and VKORC1 (sensitivity on warfarin) is promising tactics leading to a safe anticoagulation. The first of two applications of pharmacogenetics is assesment of the daily dose of warfarin for individual patients even before starting the therapy. The second is the risk stratification of already warfarinized patients: The carriers of variant genotype are in a greater risk of bleeding complications. The following article is dedicated to the evaluation of literature and our own laboratory and clinical experience with these applications in clinical practise.

Key words: warfarin – pharmacogenetics – CYP 2C9 – VKORC1

Úvod

Antikoagulační terapie warfarinem je indikována u širokého spektra onemocnění, jak v terapii, tak v sekundární prevenci systémových tromboembolických příhod. Zároveň je ale warfarin jedním z nejnebezpečnějších léčiv pro svůj nízký terapeutický index, značnou interindividuální variabilitu dávky léku a možné závažné krvácivé komplikace. Warfarin zůstává i přes značné snahy farmaceutického průmyslu o vývoj stejně efektivních, bezpečnějších a užívatelsky příjemnějších antikoagulancií lékem první volby. A nejméně několik dalších let, než budou dokončeny klinické studie řady přímých inhibitorů aktivovaného faktoru X (rivaroxaban, LY517717, YM150, DU-176b, apixaban, betrixaban) a perorálních přímých inhibitorů trombinu (dabigatran) se budeme nuceni spoléhat jen na warfarin.

Právě farmakogenetika, která zkoumá vliv genetické výbavy jedince na po-

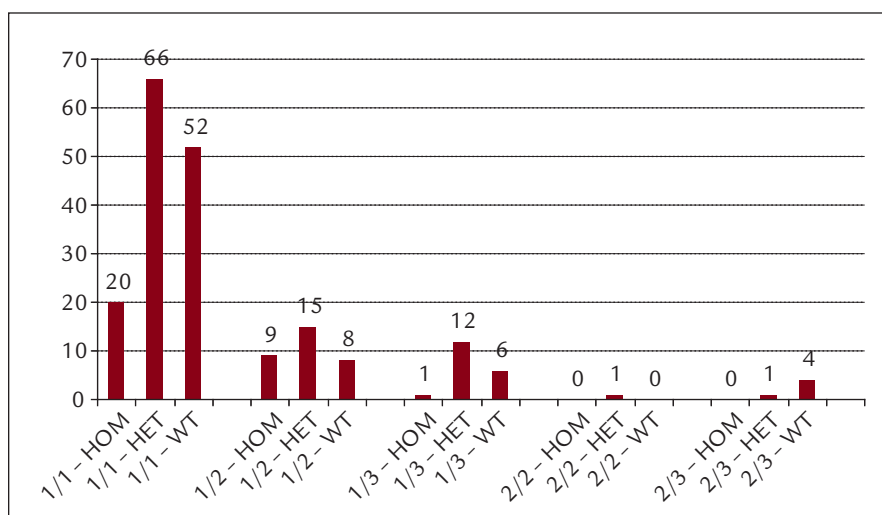
daný lék, nabízí možnost, jak s warfarinem léčit bezpečněji. První možností aplikace farmakogenetických dat je vypočtení denní dávky warfarinu pro jednotlivé pacienty ještě před zahájením vlastní terapie. Druhou možností je vyšetřování již warfarinizovaných pacientů, kde můžeme zjistit pacienty s rizikovým genotypem, u kterých pak můžeme rigorózněji a častěji kontrolovat INR. Právě zhodnocení současných možností farmakogenetiky v těchto dvou oblastech je věnován následující článek.

Co ovlivňuje individuální dávku warfarinu?

Velikost dávky je závislá na negenetických faktorech a na genetické dispozici. Negenetické faktory jsou zodpovědné zhruba za asi 50 % variability v odpovědi na warfarin v jednotlivých studiích. Můžeme je rozdělit na relativně kvantifikovatelné a stabilní (věk,

pohlaví, váha a výška pacienta, zhruba 10–20 % celkové variability dávky) a hůře kvantifikovatelné a více proměnné (aktuální obsah vitamínu K v potravě, stav jaterního a renálního metabolismu a jeho ovlivnění dalšími léky a složkami potravy, aktuální stav poměru anabolismus a katabolismus, celkový stav hemostázy, compliance pacienta a v neposlední řadě adherence k vedení léčby lékařem), které zodpovídají až za 30–40 % variability. Rozdělení faktorů majících vliv na denní dávku warfarinu podle kvantifikovatelnosti nabývá na důležitosti právě při naší snaze odhadnout denní dávku výpočtem.

Individuální genetická výbava vysvětluje 45–60 % interindividuální variability v dávkování warfarinu. Výzkum na poli genů ovlivňujících účinek warfarinu je velmi explozivní. V současnosti je známo více než 30 genů s tisíci popsanými polymorfizmy, které by mohly



Graf 1. Rozložení jednotlivých kombinací alel genů CYP2C9 a VKORC1 v české populaci. Data 195 pacientů vyšetřených v naší laboratoři. Alely genu CYP2C9 jsou v grafu označeny číselnými symboly – tj. 1/1 je nositel dvou alel CYP2C9*1, genotyp genu VKORC1 je vyjádřen zkratkami WT (nosič dvou wild type alel, haplotypy H7-H9), HOM (nosič dvou alel citlivých na warfarin, haplotypy H1 a H2) a HET (heterozygot s jednou alelou H7-9 a druhou H1 nebo H2).

ovlivňovat některou z fází účinku warfarinu. Zásadní vliv je však přisuzován pouze 2 z nich: **genu CYP2C9** pro biotransformační enzym cytochromu P450 CYP2C9 (klinicky studován od roku 1995) a **genu VKORC1** pro cílový enzym blokováný warfarinem – podjednotky 1 enzymového komplexu vitamin K-epoxidreduktázy (klinicky studován od roku 2004). Dalším rozšířením spektra vyšetřovaných genů (PROC, EPHX1, GGCX, ORM1–2) se zdá, že bude možné vysvětlit navíc asi 10 % variability dávky [1]. Nicméně na rozdíl od CYP 2C9 a VKORC1 chybí validizace těchto dat na větších souborech pacientů.

CYP2C9

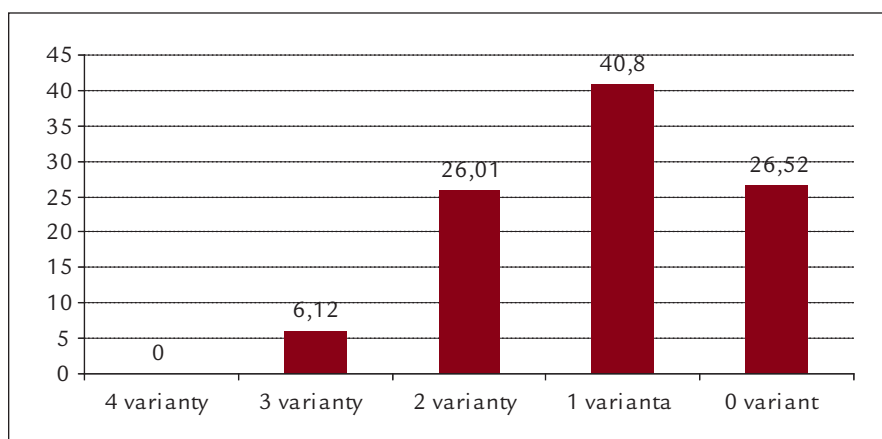
Warfarin je racemickou směsí dvou izomerů S a R (poměr S/R = 0,5 : 1), které jsou metabolizovány izoenzymy cytochromu P450. Zhruba 5krát účinnější S-warfarin je metabolizován izoenzymem CYP2C9, méně účinný R-warfarin zejména izoenzymy CYP1A2 a CYP2C19, které však nemají významný vliv na účinnou denní dávku [1]. Na individuální senzitivitu na warfarin se nejvíce uplatňují alelické varianty biotransformačního enzymu cytochromu P450 CYP2C9. U izoen-

zymu CYP2C9 je známo přes 130 polymorfizmů, na rozdílné rychlosti biotransformace S-warfarinu se klinicky významně uplatňují alelické varianty CYP2C9*1 (rychlí metabolizátoři), CYP2C9*2 (intermediální metabolizátoři) a CYP2C9*3 (pomalí metabolizátoři). Právě nositelé alel *2 a *3 mají sníženou biotransformaci, a tedy i nutnost nižší dávky warfarinu. Četnost u populace kavkazského původu je udávána 79,9 % pro CYP2C9*1, 12,2 % pro CYP2C9*2 a 7,9 % pro CYP2C9*3 [2]. V české populaci je stav obdobný: 81,9 % pro CYP2C9*1, 12,2 % pro CYP2C9*2 a 5,9 % pro CYP2C9*3 [3]. Warfarinizovaní pacienti s alelou CYP2C9*2 potřebovali ve srovnání s nosiči wild-type (wt) alely CYP2C9*1 průměrně o 0,85 mg/den warfarinu méně (17 % redukce dávky), ještě výraznější redukce denní dávky bylo třeba u pacientů s alelou CYP2C9*3 (o 1,92 mg méně, 37 % redukce) [2]. Celkově se odhady podílu těchto polymorfizmů na celkové variabilitě dávky warfarinu pohybují od 6 do 10 % [4]. Je známo, že jedinci s rizikovými alelami jsou během prvních 4 týdnů léčby ve větším riziku INR nad 4,0, a tedy i krvácení. U rizikových genotypů CYP2C9*2 a CYP2C9*3 bylo popsáno vyšší relativní riziko krvá-

cích komplikací 1,91 (1,16–3,17) pro *2 a 1,77 (1,07–2,91) pro *3 [2]. Dále bylo u těchto pacientů popsáno 2–10krát vyšší riziko „přestřelení“ nad terapeutické INR rozmezí [2–3] v prvních dvou týdnech léčby [5,6] při použití doporučeného nasazovacího schématu s úvodní denní dávkou 5–10 mg warfarinu.

VKORC1

Vlastní antikoagulační efekt warfarinu je dán ireverzibilní bloádou vitamin K-epoxidreduktázy a warfarin-senzitivní chinonreduktázy, kdy v organismu vzniká deficit hydrochinonové formy vitaminu K, a tedy jeho chybění v karboxylaci glutamátu v molekulách koagulačních faktorů II, VII, IX, X, proteinu C, S a Z. Na variabilitě individuální senzitivity na warfarin se nejvíce uplatňují alelické varianty cílového enzymu blokováného warfarinem – vitamin K-epoxidreduktázy, podjednotky 1 enzymového komplexu, kódované genem VKORC1 [7,8]. U genu VKORC1 se klinicky významně uplatňují zejména nekódující polymorfizmy s prokázaným přímým vlivem na úroveň transkripce mRNA genu VKORC1 [4]. Jako nejvýznamnější se jeví haplotypizace za použití 10 polymorfizmů signifikantně ovlivňujících dávku warfarinu u populací kavkazského původu (pozice 381, 861, 2653, 3673, 5808, 6009, 6484, 6853, 7566 a 9041 v genu VKORC1, GenBank AY587020), kdy můžeme probandy rozdělit na 2 skupiny podle 10 haplotypů: skupina s vyšší (obvyklou) denní dávkou warfarinu 4,8–6,0 mg (haplotypy H7–H9) a skupina s nižší denní dávkou 2,9–3,0 mg (haplotypy H1 a H2, 42,3 % redukce denní dávky warfarinu). Toto prediktivní schéma bylo použitelné pro 99 % vyšetřované populace indoevropského typu [4]. Z praktického hlediska stačí vyšetřovat jeden z polymorfizmů na pozicích 381, 3673, 6486, 6853 nebo 7566 genu VKORC1, které jsou každý stejně informativní jako plná haplotypizace [4]. Pacienti homozygotní pro haplotyp H1 a H2 mají signifikantně nižší



Graf 2. Rozložení počtu rizikových alel v české populaci. Data 195 pacientů vyšetřených v naší laboratoři. Rizikovými alelami je míněna přítomnost jedné variantní (non wild type alely), tj. alel *2 a *3 genu CYP2C9 a haplotypu H1 nebo H2 genu VKORC1.

čas k dosažení prvního terapeutického INR ($p = 0,02$) i k dosažení prvního INR nad 4 ($p = 0,003$), a tedy i vyšší riziko krvácivých komplikací [9]. Celkově je udáván podíl vlivu genu VKORC1 na celkové variabilitě odpovědi na warfarin od 21 do 30% [10]. Při společné analýze vlivu polymorfismů genů CYP2C9 a VKORC1 je pozorován aditivní efekt, vysvětlují takřka polovinu variability ve srovnání s vlivy negenetickými [11].

Data o populačním výskytu jednotlivých alel genů CYP2C9 a VKORC1 samy o sobě neříkají, jak je kdo citlivý na warfarin. Klíčová je kombinace alel obou genů u jednotlivých osob, počet rizikových alel (žádná až 4) těchto dvou genů – alel *2 a *3 genu CYP2C9 a alel haplotypů H1 a H2 genu VKORC1. Kombinace jednotlivých alel zastoupené v české populaci v kohortě 195 pacientů vyšetřených v naší laboratoři uvádíme v grafu 1 – 93 žen, 102 mužů, indikace vyšetření léčba warfarinem, metoda: CYP 2C9 restriční analýza podle Taubeho [12], VKORC1 high resolution melting analýza navržená podle [4]. Nejde tedy o jasné rozdělení na jedince citlivé a relativně rezistentní na warfarin, spíše o plynulé spektrum redukce dávky dle počtu rizikových alel. V našem souboru (195 pacientů) 26,52% pacientů nebylo nosičem žádné rizikové alely, 40,8% mělo jednu rizikovou alelu, 26,01% dvě rizikové alely, 6,12% tři ri-

zikové alely, žádný vyšetřený pacient neměl čtyři rizikové alely (graf 2). Literatura uvádí zastoupení pacientů bez rizikových alel od 20,4% do 39% populace [13]. Redukce dávky u pacientů s více než 3 rizikovými alelami (zhruba 10% populace) je značná, a nesou tak vyšší riziko příliš vysokého INR při standardním nasazování warfarinu. Průměrná týdenní dávka warfarinu u pacientů se 4 rizikovými alelami byla v Andersonově studii pouze 8 mg, naproti tomu pacienti bez rizikových alel (wild type) užívali 44,7 mg warfarinu [13].

Výpočet denní dávky warfarinu podle farmakogenetiky

Pokusy o vytvoření exaktních pravidel při nasazování a vedení terapie warfarinem jsou staršího data. Korekce faktory, jako je věk pacienta či jeho tělesná hmotnost a výška, však nemohly být příliš úspěšné, negenetické vlivy mohou vysvětlit jen asi 50% variability denní dávky warfarinu. Po spojení negenetických a genetických vlivů do jednoho výpočtu můžeme dosáhnout významně vyšší přesnosti v odhadu denní dávky warfarinu.

Vyšetření polymorfismů genů CYP2C9 a VKORC1 je již prováděno celosvětově v řadě laboratoří, zejména poté, co Úřad pro kontrolu potravin a léčiv v USA (FDA) doporučil v aktualizaci příbalové informace warfarinu vyšetření těchto dvou genů k optimalizaci

léčby. V současnosti však neexistuje jeden všeobecně uznávaný a akceptovaný vzorec výpočtu denní dávky, který by byl obecně doporučován. Žádný z dosud publikovaných vzorců nebyl validizován na opravdu statisticky významném počtu pacientů.

Publikované vzorce můžeme rozdělit na 2 skupiny. První nám umožňuje stanovit denní dávku ještě před zahájením léčby warfarinem pouze stanovením genotypu a korekcí negenetickými faktory [11,13–17]. Druhý přístup je zahájení terapie warfarinem a následná korekce dávky podle prvních výsledků INR korigovaných podle genetických údajů [18], který eliminuje nutnou chybu při odhadu negenetických faktorů (např. vliv tělesné výšky a hmotnosti nebo aktuálního nastavení hemostázy na metabolismus a účinek warfarinu) a také zmenší nezapočítatelný vliv nevyšetřených nebo dosud neznámých genetických faktorů. Přesnost jednotlivých vzorců získaných mnohonásobnou regresní analýzou je udávána hodnotou koeficientu determinace (R^2), která může nabývat hodnoty od 0 do 1 (100%) a udává procentuální úspěšnost vzorce ve výpočtu skutečné denní dávky warfarinu. R^2 se pohybuje u jednotlivých vzorců od 39% do 79% (tab. 1).

Zatím jedinou větší dokončenou randomizovanou studií srovnávající nasazení warfarinu klasickou empirickou cestou podle kontrolních hodnot INR s farmakogenetickým modelem je studie Andersona et al [13], která validizovala dříve vytvořený vzorec publikovaný Carlquistem [11]. Do studie bylo zařazeno 206 pacientů, 101 z nich bylo nasazeno podle farmakogenetického výpočtu, 99 pacientů bylo nasazeno standardně empiricky podle kontrol INR. Během prvních 3 měsíců terapie warfarinem bylo potřeba u farmakogenetické skupiny menšího počtu korekcí dávky (3 proti 3,6, $p = 0,035$) o menší množství léku (7,1 mg týdenní dávka proti 11,5 mg, $p = 0,002$). Nicméně primární cíl nebyl splněn, procentuální poměr měření INR mimo

Tab. 1. Přehled jednotlivých publikovaných vzorců na výpočet denní dávky warfarinu a jejich přesnost v odhadu denní dávky.

Publikace	Vyšetřované geny	Započtené negenetické faktory	Koeficient determinace (R ²)	Velikost vyšetřovaného souboru pro tvorbu vzorce	Metoda validizace
Gage et al 2004 [14]	CYP2C9	věk, rasa, pohlaví, povrch těla (BSA), užívání amiodaronu a simvastatinu	39 %	369	retrospektivní již léčených a stabilizovaných pacientů, prospektivně neprovedeno
Gage et al 2008 [15]	CYP2C9, VKORC1	věk, rasa, pohlaví, povrch těla (BSA), užívání amiodaronu a simvastatinu, kouření, přítomnost hluboké žilní trombózy nebo plicní embolie	57 % u Indoevropanů, 31 % u Afroameričanů	1 015	prospektivní nerandomizovaná studie u 292 pacientů zahajujících warfarinizaci [15]; finálně dosažená dávka byla vysvětlena výpočtem R ² = 54 %
Sconce et al 2005 [16]	CYP2C9, VKORC1	věk, výška	54,2 %	297	prospektivní nerandomizovaná studie u 38 pacientů zahajujících warfarinizaci [16]
Carlquist et al 2006 [11]	CYP2C9, VKORC1	věk, hmotnost, pohlaví	44,6 %	213	prospektivní randomizovaná studie u 206 pacientů srovnávající farmakogenetické s klasickým nasazovacím algoritmem [13]
Wadelius et al 2007 [17]	CYP2C9, VKORC1, PROC, EPHX1, GGCX, ORM1	věk, hmotnost, lékové interakce (rozdělení pouze na léky snižující a zvyšující účinek warfarinu)	73 %	201	retrospektivní již léčených a stabilizovaných pacientů, prospektivně neprovedeno
Millican et al 2007 [18]	CYP2C9, VKORC1	INR před léčbou a 3. den léčby warfarinem, ztráta krve při operačním zákroku, kouření	79 %	92	retrospektivní již léčených a stabilizovaných pacientů, prospektivně neprovedeno

cílové rozmezí sice byl menší u farmakogenetické skupiny, ale statisticky nevýznamně – 30,7% proti 33,1% ($p = 0,47$). Srovnání genotypově určené s empiricky zjištěnou nasazovací dávkou warfarinu tedy zatím není jednoznačně uzavřeno. První dokončená studie byla limitována statisticky nevýznamným závěrem, nicméně trendy byly ve prospěch dávkování warfarinu založeného na genotypizaci jedince. Definitivně zřejmě potvrdí výhodnost farmakogenetiky při zahájení léčby warfarinem až zřejmě publikace výsledků právě probíhajících studií.

Farmakogenetické vyšetření během udržovací léčby warfarinem

Význam genetického vyšetření těchto dvou genů byl částečně dokázán pro

úvodní fázi léčby a je již na řadě pracovišť ve světě součástí běžné klinické praxe. Nadějnou a zatím nepřilíš prozkoumanou oblastí je farmakogenetické vyšetření již léčených pacientů. Ojedinelá data svědčí pro vyšší riziko krvácení u geneticky rizikových pacientů i během dlouhodobé udržovací léčby. Předpoklad je, že krvácení by mělo být více. V práci Aithala et al měli nosiči CYP2C9*1 (běžná populace, wild type) riziko závažného krvácení 2,25%/1 pt.yr. Nosiči CYP2C9*2 a *3 (riziková) měli totéž riziko 8,28%/1 pt.yr., tj. 3,68krát vyšší riziko krvácení při rizikovém genotypu [19]. Genetické vlivy (zvýšená senzitivita na warfarin u nosičů variantních alel VKORC1 a snížená úroveň metabolismu warfarinu u nosičů variant-

ních alel CYP 2C9) samozřejmě nejsou jedinými rizikovými faktory pro krvácivé komplikace při antikoagulační léčbě. Nejčastěji potvrzenými jsou: vyšší věk, noncompliance při užívání medikace a docházení na kontroly INR, nestabilní INR a INR vyšší než 3. Některé tyto faktory, stanovené v éře před nástupem farmakogenetiky warfarinu, mohou být do jisté míry na rizikovém genotypu závislé, nejvíce ohrožení a nejvíce se projevují právě u pacientů s nízkou efektivní dávkou warfarinu při rizikovém genotypu. Důvodem by mohla být nižší dávka léku, a tedy i větší citlivost na zevní vlivy. Tento fakt však nebyl zatím spolehlivě prokázán a hlavně v citované práci byl vyšetřován jen první (CYP 2C9) ze dvou známých genů. Praktickým výstupem

výzkumu v této otázce, vyjde-li předpoklad vyššího počtu krvácení u rizikového genotypu během udržovací léčby, by mohlo být častější provádění kontrol INR u rizikových pacientů dle genetiky (např. místo 1krát za měsíc 1krát za 2 týdny) a vůbec celkově vyšší důraz na vedení léčby warfarinem (důslednější sledování změn vyvolaných konkomitantní medikací apod.).

Závěrem lze shrnout, že farmakogenetika warfarinu je perspektivní metodikou, která však musí být dále dopracována a validizována správně navrženými randomizovanými studiemi.

Literatura

1. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet* 2007; 121: 23–34.
2. Sanderson S, Emery J, Higgins J. CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: a HuGenet systematic review and meta-analysis. *Genet Med* 2005; 7: 97–104.
3. Buzková H, Pechandová K, Slanař O et al. Genetický polymorfismus cytochromu CYP2C9 v české populaci. *Klin Biochem Metab* 2007; 15: 102–105.
4. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005; 352: 2285–2293.
5. Lindh JD, Lundgren S, Holm L et al. Several-fold increase in risk of overanticoagulation by CYP2C9 mutations. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78: 540–550.
6. Peyvandi F, Spreafico M, Siboni SM et al. CYP2C9 genotypes and dose requirements during the induction phase of oral anticoagulant therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 75: 198–203.
7. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 2004; 427: 537–541.
8. D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005; 105: 645–649.
9. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med* 2008; 358: 999–1008.
10. Wadelius M, Chen LY, Downes K et al. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J* 2005; 5: 262–270.
11. Carlquist JF, Horne BD, Muhlestein JB et al. Genotypes of the cytochrome p450 isoform, CYP2C9, and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable wttestoarfarin dose: a prospective study. *J Thromb Thrombolysis* 2006; 22: 191–197.
12. Taube J, Halsall D, Baglin T. Influence of cytochrome P-450 CYP2C9 polymorphisms on warfarin sensitivity and risk of over-anticoagulation in patients on long-term treatment. *Blood* 2000; 96: 1816–1819.
13. Anderson JL, Horne BD, Stevens SM et al. Randomized trial of genotype-guided versus standard warfarin dosing in patients initiating oral anticoagulation. *Circulation* 2007; 116: 2563–2570.
14. Gage BF, Eby C, Milligan PE et al. Use of pharmacogenetics and clinical factors to predict the maintenance dose of warfarin. *Thromb Haemost* 2004; 91: 87–94.
15. Gage BF, Eby C, Johnson JA et al. Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clin Pharmacol Ther* 2008; 84: 326–331.
16. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA et al. The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 2005; 106: 2329–2333.
17. Wadelius M, Chen LY, Eriksson N et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism. *Hum Genet* 2007; 121: 23–34.
18. Millican EA, Lenzini PA, Milligan PE et al. Genetic-based dosing in orthopedic patients beginning warfarin therapy. *Blood* 2007; 110: 1511–1515.
19. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ et al. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; 353: 717–719.

MUDr. Aleš Tomek
www.homolka.cz
e-mail: ales.tomek@gmail.com

Doručeno do redakce: 25. 9. 2008
Přijato po recenzi: 3. 2. 2009

www.mhwa.cz