

Rola czynników genetycznych w terapii przeciwplatekowej z użyciem kłopidogrelu

Artur Robert Cieślewicz, Ewa Kaźmierczak, Anna Jabłeczka

Zakład Farmakologii Klinicznej, Katedra Kardiologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Polska

Postępowanie Kardiologiczne 2012; 8, 2 (28): 130–133

Streszczenie

Leki przeciwplatekowe z grupy pochodnych tienopirydynowych odgrywają istotną rolę w leczeniu choroby wieńcowej. Kłopidogrel jest lekiem blokującym działanie platekowego receptora ADP (P2Y₁₂). Podaje się go w postaci proleku, wymagającego aktywacji metabolicznej przez enzymy cytochromu P450. Standardowa terapia przeciwplatekowa pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym polega na jednoczesnym podawaniu kłopidogrelu i kwasu acetylosalicylowego. Liczne doniesienia naukowe wskazują jednak, że nawet u 25% pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym obserwuje się zróżnicowaną odpowiedź na leczenie kłopidogrelem. U podstaw tego zróżnicowania mogą leżeć czynniki genetyczne. Jako najczęstsze genetyczne przyczyny oporności na terapię kłopidogrelem wymienia się polimorfizmy w genach CYP2C19 (jeden z enzymów cytochromu P450) oraz ABCB1 (gen kodujący glikoproteinę P, biorącą udział we wchłanianiu kłopidogrelu). Znajomość genotypów tych loci może być pomocna w wyodrębnianiu chorych narażonych na mniej skuteczne działanie kłopidogrelu oraz w doborze skutecznej dawki leku.

Słowa kluczowe: czynniki genetyczne, kłopidogrel, terapia przeciwplatekowa

Wprowadzenie

Choroba wieńcowa jest jednym ze schorzeń zależnych od rodzaju miażdżycy. Obecność blaszki miażdżycowej prowadzi do zmniejszenia światła naczyń wieńcowych i upośledzenia przepływu wieńcowego, co ogranicza transport tlenu do określonego obszaru mięśnia sercowego. Powoduje to niedokrwienie i w konsekwencji ból dławicowy. Klinicznie choroba wieńcowa może się objawiać w sposób przewlekły (stabilna dławica piersiowa) lub ostry (ostry zespół wieńcowy, obejmujący niestabilną dławicę piersiową, zawał serca z uniesieniem lub bez uniesienia odcinka ST oraz nagły zgon sercowy) [1]. Główną rolę w leczeniu choroby wieńcowej odgrywają m.in. leki przeciwplatekowe, których stosowanie jest szczególnie ważne u pacjentów poddawanych zabiegom przezskórnej interwencji wieńcowej, ponieważ implantowane do tętnic wieńcowych stenty są dla organizmu ciałami obcymi, wywołującymi adhezję płytek i uruchamiającymi procesy prozakrzepowe [2].

Aktywacja płytek w naczyniu krwionośnym dotkniętym zmianami miażdżycowymi jest procesem składającym się z wielu pojedynczych etapów, które biorą swój początek w przejściowej interakcji między płytką a śródbłonkiem. Interakcja ta może stać się trwała, co w ostateczności pro-

wadzi do kaskady wydarzeń kończących się powstaniem zakrzepu i niedrożnością naczynia [3]. Jeżeli taka sytuacja zachodzi w naczyniach wieńcowych, staje się przyczyną zawału serca. Znajomość poszczególnych etapów aktywacji płytek oraz wpływających na nie dodatkowych czynników umożliwiła opracowanie leków przeciwplatekowych wykorzystujących te mechanizmy.

Mechanizm aktywacji płytek

Według aktualnej wiedzy z zakresu patofizjologii naczyń krwionośnych przyjęto, że we wstępnym kontakcie płytki krwi z nienaruszonym śródbłonkiem pośredniczy czynnik von Willebrandta lub śródbłonkowe białko powierzchniowe P-selektyna, oba zaangażowane w przesuwanie się płytki po śródbłonku. W następnym etapie aktywacji płytek również pośredniczy czynnik von Willebrandta, który przez silne wiązanie z platekowym receptorem GPIIb pośredniczy także w pierwszej silnej adhezji. Ta interakcja, wstępnie odwracalna, może prowadzić do preaktywacji płytek przez uwalnianie czynników pośredniczących w ich autoaktywacji, takich jak adenozynodwufosforan (ADP) i tromboksan A₂ (TxA₂), lub czynników o właściwościach naczynioaktywnych, takich jak epinefryna, serotonina, ligand CD40 (CD40L).

Adres do korespondencji:

Artur Robert Cieślewicz, Zakład Farmakologii Klinicznej, Katedra Kardiologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Długa 1/2, 61-848 Poznań, tel.: +48 61 854 92 16, e-mail: artcies@poczta.um.poznan.pl

Praca wpłynęła: 27.04.2012, przyjęta do druku: 28.05.2012.

Ostatni etap aktywacji płytek następuje w miejscach przebranego śródbłonka, kiedy dochodzi do kontaktu włókien kolagenowych z przepływającą krwią. Powoduje to zmianę kształtu płytki, wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia i uwolnienie czynników aktywujących z wnętrza płytek. Na powierzchni płytek znajdują się receptory kolagenu (GPIa/IIa, GPVI), które pośredniczą w trwałej adhezji i silnej ich aktywacji. W podtrzymaniu kaskady agregacji największą rolę odgrywają ADP oraz tromboksan, aktywujące nieaktywne płytki. Płytkowymi receptorami ADP są P2Y₁ oraz P2Y₁₂, stanowiące cel działania leków tienopirydynowych (m.in. kłopidogrelu) [3].

Charakterystyka kłopidogrelu

Kłopidogrel jest pochodną tienopirydynową będącą inhibitorem receptora P2Y₁₂. Związanie leku z receptorem uniemożliwia przyłączenie fizjologicznego ligandu (ADP), uwalnianego z aktywowanych płytek [4, 5]. Funkcjonalną formą receptora P2Y₁₂ są homooligomery. Kłopidogrel powoduje rozbicie tych oligomerów na nieaktywne jednostki mono- i dimeryczne. Wyniki badań przeprowadzonych przez Savi i wsp. wykazały, że istotna dla działania kłopidogrelu jest cysteina w pozycji 97 łańcucha białkowego receptora P2Y₁₂ [6].

Kłopidogrel podaje się w formie proleku, który wymaga aktywacji metabolicznej przez enzymy cytochromu P450. Hamowanie wywołanej przez ADP agregacji płytek osiąga fazę *plateau* po 5 dniach standardowej terapii (75 mg leku na dobę). W przypadku poważnego uszkodzenia naczynia (np. wszczepienie stentu) działanie przeciwplateletowe może być osiągnięte już po 2–5 godzinach od podania leku dzięki zastosowaniu dawki wysycającej (300–600 mg). Ponieważ kłopidogrel wiąże się nieodwracalnie z receptorem P2Y₁₂, funkcjonowanie płytek wraca do normy po około tygodniu od przyjęcia ostatniej dawki leku. Kłopidogrel po podaniu jest szybko przyswajany i osiąga maksymalne stężenie w osoczu (160 ng/ml) już w ciągu pierwszej godziny. W transporcie tego leku bierze udział glikoproteina P. Większość kłopidogrelu (85%) metabolizowana jest do nieaktywnej pochodnej karboksylowej. Tylko 15% ulega przekształceniu do aktywnego metabolitu w procesie dwuetapowego utleniania przez enzymy cytochromu P450 (formą pośrednią jest 2-oksokłopidogrel). Metabolizm kłopidogrelu wciąż nie jest dokładnie poznany, jednak wydaje się, że istotną rolę odgrywają enzymy CYP3A4, CYP2C19 oraz CYP1A2 [7].

W licznych badaniach, takich jak CAPRIE, CURE, CREDO, CLARITY i COMMIT, wykazano, że stosowanie skojarzonej terapii przeciwplateletowej (kwas acetylosalicylowy i kłopidogrel) w znaczący sposób zmniejsza ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych u pacjentów cierpiących na choroby układu sercowo-naczyniowego [8–12]. Na podstawie tych badań terapia skojarzona stała się standardowym postępowaniem u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym [4].

Znane są jednak liczne doniesienia wskazujące, że nawet u 25% pacjentów z zespołem wieńcowym poddanych przeszklonej interwencji wieńcowej obserwuje się zróżnicowaną odpowiedź na leczenie kłopidogrelem. Pacjenci oporni na działanie leku narażeni są na powtarzające się zdarzenia sercowo-naczyniowe. Dokładna definicja oporności na terapię przeciwplateletową nie została dotąd sformułowana, jednak obserwowane zróżnicowanie w odpowiedzi na terapię jest podobne do różnic występujących u pacjentów leczonych warfaryną [13, 14].

Rola czynników genetycznych w zróżnicowanej odpowiedzi na kłopidogrel

Zróżnicowana odpowiedź na leczenie kłopidogrelem może być związana z działaniem czynników genetycznych. Geny, których polimorfizm może mieć znaczenie w oporności na terapię przeciwplateletową, można wytypować, uwzględniając farmakokinetyczne i farmakodynamiczne właściwości leku. I tak kłopidogrel wchłaniany jest w przewodzie pokarmowym z udziałem glikoproteiny P, kodowanej przez gen ABCB1. Po wchłonięciu jest inaktywowany przez esterazy lub ulega aktywacji metabolicznej w wątrobie przez enzymy cytochromu P450 (CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C19). Aktywowany lek wiąże się nieodwracalnie z receptorem ADP kodowanym przez gen P2RY12, inaktywując w ten sposób receptor fibrynogenu, kodowany przez gen ITGB3. W wielu publikacjach opisano wpływ niektórych wariantów tych genów na działanie kłopidogrelu.

Wydaje się, że największe znaczenie mają geny kodujące enzymy cytochromu P450, z uwagi na wysoki poziom ich polimorfizmu oraz częste występowanie alleli kodujących enzymy o zredukowanej funkcji (allele deficytowe). Suh i wsp. badali wpływ polimorfizmu w genie CYP3A5 na skuteczność działania kłopidogrelu. Badanie przeprowadzono w dwóch etapach. Pierwszy polegał na podaniu kłopidogrelu 16 zdrowym osobnikom będącym nosicielami deficytowych alleli w genie CYP3A5 (allel *3) oraz 16 z normalnym genotypem (allel *1). Następnie mierzono agregację płytek po 4 i 24 godzinach oraz po 6 dniach od podania kłopidogrelu. W drugim etapie badań porównano kliniczne wyniki terapii 348 pacjentów po angioplastyce wieńcowej leczonych kłopidogrelem i powiązano je z genotypem CYP3A5. W pierwszym etapie zaobserwowano wyższą aktywność przeciwplateletową u pacjentów z prawidłowym genotypem CYP3A5 (*1). W drugim etapie stwierdzono większą częstość występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych w ciągu 6 miesięcy po implantacji stentu u pacjentów będących nosicielami niefunkcjonalnego allela *3 (7,3% w porównaniu z 1,9 %) [15].

W badaniu TRITON-TIMI 38 zbadano związek pomiędzy polimorfizmem genów CYP2C19, CYP2C9, CYP2B6, CYP3A5, CYP3A4 i CYP1A2 a stężeniem aktywnego metabolitu kłopidogrelu i poziomem aktywności przeciwplateletowej u 162 zdrowych osób oraz 1477 pacjentów z ostrym zespołem

wieńcowym. Wykazano, że u zdrowych osobników poddanych działaniu klopidogrelu nosiciele co najmniej jednego allele o zredukowanej funkcji dla genu CYP2C19 (30% badanej populacji) mieli o 32,4% niższy poziom aktywnego metabolitu klopidogrelu w osoczu w porównaniu z osobami o normalnym genotypie. U nosicieli deficytowych allele wykazano ponadto o 9% niższą aktywność przeciwplatekowaną klopidogrelu. Z kolei w grupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym zaobserwowano o 53% większe ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz 3-krotnie większe ryzyko powstania zakrzepicy w stencie wśród nosicieli allele deficytowych [16].

Znaczenie polimorfizmu w genie CYP2C19 potwierdzili także Lee i wsp. Badanie przeprowadzono u 450 pacjentów po przeszłokórnej interwencji wieńcowej leczonych standardową terapią skojarzoną: kwas acetylosalicylowy + klopidogrel (225 osób) lub klopidogrel + kwas acetylosalicylowy + cilostazol (225 osób). Badano polimorfizm dla siedmiu genów: cyklooksygenazy 2, CYP1A1, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5, CYP2C19*2 oraz CYP2C19*3. Oporność na klopidogrel stwierdzono u 112 pacjentów. W grupie pacjentów opornych zaobserwowano istotnie statystycznie większą częstość występowania allele deficytowego CYP2C19*3A, co wskazywało na rolę tego polimorfizmu jako niezależnego czynnika ryzyka [17].

Również w badaniu PAPI potwierdzono rolę polimorfizmu w genie CYP2C19. Badanie przeprowadzono w grupie 429 zdrowych osób, którym przez 7 dni podawano klopidogrel w dawce 75 mg/dobę, a następnie oceniano odpowiedź na leczenie przez pomiar *ex vivo* agregometrii płytek. W przeprowadzonych badaniach asocjacyjnych wykazano istnienie statystycznie istotnego związku pomiędzy 13 polimorfizmami pojedynczego nukleotydu (SNP) na chromosomie 10 w lokalizacji 10q24 a obniżoną odpowiedzią na klopidogrel. Jeden z tych polimorfizmów (rs12777823) był silnie sprzężony z allelem deficytowym CYP2C19*2 i odpowiadał za 12% zróżnicowania w odpowiedzi na leczenie. W grupie 227 pacjentów po przeszłokórnej interwencji wieńcowej wykazano ponadto 2-krotnie większe ryzyko wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych u osób będących nosicielami tego polimorfizmu (20,9% w porównaniu z 10,0% u osób z normalnym genotypem) w ciągu rocznej obserwacji po zabiegu [18].

Harmsze i wsp. badali polimorfizm sześciu genów związanych z wchłanianiem (ABCB1), aktywacją (CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5) oraz działaniem klopidogrelu (P2Y1). Badanie przeprowadzono u 428 pacjentów ze stentami implantowanymi do naczyń wieńcowych. Pacjentów podzielono na dwie grupy: otrzymujących dawkę podtrzymującą leku (75 mg/dobę, ≥ 5 dni przed przeszłokórną interwencją wieńcową – 297 osób) lub wysycającą (300 mg/dobę, 1–5 dni przed przeszłokórną interwencją wieńcową – 131 osób). W obu grupach pacjentów allel deficytowy CYP2C19*2 był statystycznie istotnie powiązany z wyższą aktywnością płytek i gorszą odpowiedzią na leczenie. W grupie osób otrzymujących dawkę wysycającą wykryto

ponadto silne, statystycznie istotne powiązanie pomiędzy obecnością allele CYP2C19*3 a zmniejszoną odpowiedzią na lek [19].

Rolę czynników genetycznych w powstawaniu oporności na klopidogrel potwierdzili także Simon i wsp. Grupę badaną stanowiło 2208 pacjentów po ostrym zawale mięśnia sercowego. Oceniano związek pomiędzy wariantami allelicznymi genów związanych z absorpcją (ABCB1), aktywacją metaboliczną (CYP3A5, CYP2C19) oraz aktywnością biologiczną klopidogrelu (P2RY12, ITGB3) a ryzykiem zgonu, apopleksji lub zawału mięśnia sercowego podczas rocznej obserwacji pacjenta. Podczas badania 225 pacjentów zmarło, natomiast u 94 wystąpił udar mózgu lub zawał mięśnia sercowego. Większą częstość występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych (15,5% w porównaniu z 10,7%) stwierdzono u pacjentów będących nosicielami deficytowego allele genu ABCB1 (homozygoty TT w pozycji 3435 sekwencji genu) w porównaniu z osobami mającymi allele normalnie funkcjonujące (homozygoty CC). U osób będących nosicielami dwóch jakichkolwiek deficytowych allele CYP2C19 (*2, *3, *4, *5) stwierdzono ponadto większą częstość występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych niż u pacjentów z normalnym genotypem (21,5% oraz 13,3%). Wśród 1535 osób po przeszłokórnej interwencji wieńcowej częstość występowania zdarzeń sercowo-naczyniowych była 3,58 razy większa, jeśli pacjent miał 2 deficytowe allele CYP2C19 [20].

Przeprowadzono także badania porównujące wpływ czynników genetycznych na efekty stosowania różnych leków przeciwzakrzepowych z grupy pochodnych tienopirydynowych. Varenhorst i wsp. przebadali 98 osób z chorobą wieńcową leczonych klopidogrelem (dawka wysycająca 600 mg, dawka podtrzymująca 75 mg) lub prasugrelem (60 mg, 10 mg). Analizowano geny CYP2C19, CYP2B6, CYP2C9, CYP3A5, CYP3A4, CYP1A2. Na podstawie genotypów pacjentów podzielono na dwie grupy: szybko metabolizujący (enzymy funkcjonujące normalnie) oraz wolno metabolizujący (enzymy o zredukowanej funkcji). Wykazano istotnie statystycznie niższy poziom aktywnego metabolitu klopidogrelu u pacjentów będących nosicielami allele deficytowych w genie CYP2C19 w porównaniu z pacjentami z normalnym genotypem. Podobnej zależności nie wykryto dla prasugrelu [21].

Interesujące wnioski na temat roli enzymu CYP1A2 w aktywności klopidogrelu wynikają z pracy Desai i wsp. (badanie CLARITY-TIMI). CYP1A2 jest jednym z istotnych enzymów metabolizujących klopidogrel do jego aktywnej postaci. Enzym ten jest dodatkowo indukowany podczas palenia papierosów. Grupę 3429 pacjentów po zawale serca z uniesieniem odcinka ST podzielono na grupę niepalących (1732 osoby), palących 1–9 papierosów dziennie (206 osób), 10–19 papierosów dziennie (354 osoby), 20–29 papierosów dziennie (715 osób) i palących ponad 30 papierosów dziennie (422 osoby). Wykazano wyższą skuteczność działania klopidogrelu u osób palących co najmniej 10 papierosów dziennie (iloraz szans 0,49, 95-procentowy przedział ufności 0,37–0,66; $p < 0,0001$) w porównaniu

z osobami niepalącymi (iloraz szans 0,72, 95-procentowy przedział ufności 0,57–0,91; $p = 0,006$) [22].

Podsumowanie

Czynniki genetyczne w istotny sposób wpływają na działanie wielu leków, w tym klopidogrelu. Liczne przeprowadzone dotąd badania wskazują, że największe znaczenie może mieć polimorfizm genów ABCB1 oraz CYP2C19. Ustalenie genotypu dla tych dwóch *loci* u pacjentów leczonych klopidogrelem może być pomocne w wyodrębnieniu chorych narażonych na mniej skuteczne działanie leku oraz w doborze skutecznej dawki, a tym samym w poprawie skuteczności i bezpieczeństwa terapii.

Piśmiennictwo

- Kośmicki MA. Choroba niedokrwienna serca w Polsce i na świecie – nierozwiązany w pełni problem. *Kardiologia Praktyczna* 2010; 1: 35-48.
- Kotwa KR, Bachórzewska-Gajewska H, Dobrzycki S. Terapia przeciwplateletowa po zabiegach angioplastyki wieńcowej w praktyce lekarza rodzinnego. *Przebieg Kardiologiczny* 2008; 3: 38-43.
- Krötz F, Sohn HY, Klauss V. Antiplatelet drugs in cardiological practice: established strategies and new developments. *Vasc Health Risk Manag* 2008; 4: 637-645.
- Cohen M. Oral antiplatelet therapy for acute and chronic management of NSTEMI/ACS: residual ischemic risk and opportunities for improvement. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009; 23: 489-499.
- Myers RI. The variability of platelet response to aspirin and clopidogrel: revisiting the Caprie, Cure, Credo, and Match trials. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2005; 18: 331-336.
- Savi P, Zacharyus JL, Delesque-Touchard N i wsp. The active metabolite of Clopidogrel disrupts P2Y12 receptor oligomers and partitions them out of lipid rafts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 11069-11074.
- Ancrenaz V, Daali Y, Fontana P i wsp. Impact of genetic polymorphisms and drug-drug interactions on clopidogrel and prasugrel response variability. *Curr Drug Metab* 2010; 11: 667-677.
- A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348: 1329-1339.
- Yusuf S, Zhao F, Mehta SR i wsp. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001; 345: 494-502.
- Beinart SC, Kolm P, Veledar E i wsp. Long-term cost effectiveness of early and sustained dual oral antiplatelet therapy with clopidogrel given for up to one year after percutaneous coronary intervention results: from the Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation (CREDO) trial. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 761-769.
- Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM i wsp. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005; 352: 1179-1189.
- Chen ZM, Jiang LX, Chen YP i wsp. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1607-1621.
- Sharma RK, Reddy HK, Singh VN i wsp. Aspirin and clopidogrel hyporesponsiveness and nonresponsiveness in patients with coronary artery stenting. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5: 965-972.
- Ferguson AD, Dokainish H, Lakkis N. Aspirin and clopidogrel response variability: review of the published literature. *Tex Heart Inst J* 2008; 35: 313-320.
- Suh JW, Koo BK, Zhang SY i wsp. Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ* 2006; 174: 1715-1722.
- Mega JL, Close SL, Wiviott SD i wsp. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 354-362.
- Lee JM, Park S, Shin DJ i wsp. Relation of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 gene with clopidogrel resistance after drug-eluting stent implantation in Koreans. *Am J Cardiol* 2009; 104: 46-51.
- Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP i wsp. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009; 302: 849-857.
- Harmsze A, van Werkum JW, Bouman HJ i wsp. Besides CYP2C19*2, the variant allele CYP2C9*3 is associated with higher on-clopidogrel platelet reactivity in patients on dual antiplatelet therapy undergoing elective coronary stent implantation. *Pharmacogenet Genomics* 2010; 20: 18-25.
- Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M i wsp. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; 360: 363-375.
- Varenhorst C, James S, Erlinge D i wsp. Genetic variation of CYP2C19 affects both pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel but not prasugrel in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2009; 30: 1744-1752.
- Desai NR, Mega JL, Jiang S i wsp. Interaction between cigarette smoking and clinical benefit of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 1273-1278.