

Pharmakogenetik der oralen Antikoagulation mit Cumarinen

Cumarinderivate (z. B. Marcumar, Warfarin oder Acenocoumarol) werden seit 1950 weltweit als orale Antikoagulanzen zur Prophylaxe und Therapie venöser und arterieller thrombembolischer Erkrankungen eingesetzt und gehören weltweit zu den am häufigsten verschriebenen Medikamenten. Obwohl die Cumarine als oral verabreichte Substanzen für die Patienten in Bezug auf Anwendung und Kosten günstig sind, wird die Therapie durch das enge therapeutische Fenster und das damit verbundene Risiko für Blutungen und Rethrombosen kompliziert. So liegt die Inzidenz für tödliche Blutungskomplikationen bei 0,25% pro Behandlungsjahr [9]. Allein für Deutschland wird von etwa 2000 blutungsbedingten Todesfällen ausgegangen.

Hauptverantwortlich für die Komplikationen ist die breite inter- und intraindividuelle Variation in der Dosierung, die abhängig ist von einer Reihe erworbener und hereditärer Faktoren. Übliche Kenngrößen für die empirische Berechnung der initialen Dosis sind seit jeher Alter, Geschlecht und Körpergröße. Zusätzlich erfolgt ein häufigeres Monitoring in der Eindosierungsphase, um Dosisadjustierungen vorzunehmen und eine übermäßige Antikoagulation zu vermeiden. Unter- und Überantikoagulation haben wichtige medizinische und ökonomische Konse-

quenzen. Patienten, die mit der INR¹ („international normalised ratio“) außerhalb der gewünschten Antikoagulationsintensität liegen, müssen innerhalb kurzer Zeit wieder neu eingestellt werden und benötigen oft einen Dosiswechsel. Dies führt zu zusätzlichen klinischen Visiten und Blutuntersuchungen. Die Beendigung der oralen Antikoagulation bei instabil antikoagulierten Patienten mit exzessiv fluktuierenden INR-Werten bedeutet entweder eine Umstellung auf subkutan verabreichte niedrigmolekulare Heparine oder den Verlust des präventiven Nutzens der Therapie, mit konsekutiv erhöhter Morbidität und Mortalität. Vor diesem Hintergrund vermag eine verbesserte Prädiktion der Erhaltungsdosis die Sicherheit und Effektivität der Cumarintherapie zu erhöhen und damit Morbidität und Mortalität sowie assoziierte Kosten zu reduzieren.

Die kürzlich identifizierten Haplotypen der Vitamin-K-Epoxid-Reduktase (VKORC1) sind für den Großteil der beobachteten interindividuellen und interethnischen Unterschiede in der Cumarindosis verantwortlich [3, 10]. VKORC1, der molekulare Zielort für Cumarine, recycelt das bei der γ -Carboxylierung von Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren kontinuierlich entstehende Vitamin-K-

Epoxid zu Vitamin-K-Hydrochinon, welches dann wiederum für die Carboxylierung weiterer Gerinnungsfaktoren zur Verfügung steht. Der verbreitete Haplotyp VKORC1*2, welcher mit einer um 50% gegenüber dem Wildtyp verminderten Transkriptionsrate einhergeht, konnte weltweit in allen untersuchten Kollektiven als maßgeblich für die individuelle Cumarindosis identifiziert werden [10, 15]. Darüber hinaus konnten einige seltene Aminosäuremutationen im VKORC1-Protein bestimmt werden, die zu einer partiellen bis vollständigen Cumarinresistenz führen [11].

Die Kombination dieser neu entdeckten pharmakogenetischen Marker (einschließlich der schon länger bekannten CYP2C9-Genotypen, die v. a. für die Dosisvariation mit Warfarin und Acenocoumarol verantwortlich sind, **Tab. 1**) mit Umwelteinflüssen und patientenspezifischen Merkmalen (wie Alter, Geschlecht, Komedikation, Leberfunktion, nutritiver Vitamin-K-Status) erlaubt es, bisherige Dosisalgorithmen zu optimieren.

Klonierung der VKORC1

Ausgehend von zwei vollkommen unterschiedlichen klinischen Phänotypen gelang es uns 2004, das Gen der VKORC1 zu klonieren. Bei den Patienten handelte es sich um zwei Familien mit hereditärer Verminderung aller Vitamin-K-abhängigen Gerinnungsfaktoren (VKCFD2, MIM 607473) sowie um Patienten mit einer ausgeprägten bis totalen Warfarinresistenz (WR, MIM 122700). Mittels Kopp-

¹ Die INR ist ein standardisierter Wert für die Gerinnungszeit des Blutes, mit dem die Effektivität einer Antikoagulationstherapie bestimmt werden kann. Während der Normalwert definitionsgemäß bei 1,0 liegt, sollte durch die Cumarinbehandlung eine Verzögerung der Gerinnung angestrebt werden, die bei einem INR=2,0–3,0 erreicht wird.

lun­gs­ana­ly­se konn­te im Jahr 2000 der Lo­cus für *VKCFD2* mit einem Multipoint-LOD („logarithm of the odds“)-Score von 2,78 auf eine 3 cM große perizentrische Region des Chromosoms 16 (16p11-p12 bis 16q11-q21) eingegrenzt werden [2]. Die Annahme, dass es sich bei *VKCFD2* und *WR* um allelische Mutationen im gleichen Gen handelt, half uns, die Kandidatenregion weiter einzugrenzen. Zuvor war bei Mäusen das Gen für den *WR*-Phänotyp auf Chromosom 7 und bei Ratten auf Chromosom 1 kartiert worden, so dass durch Vergleich der syntänen Regionen des humanen *VKCFD2*-Locus und der *WR*-Loci von Nagetieren die Position des gesuchten Gens auf die Region 16p11-p12 eingegrenzt werden konnte. Mittels systematischer Mutationssuche in den 129 Genen in der nunmehr 4 MB großen Kandidatenregion gelang es schließlich, bei allen Patienten mit *VKCFD2* eine homozygote Missense-Mutation im 3. Exon eines Gens unbekannter Funktion zu identifizieren. Zusätzlich konnten wir in Übereinstimmung mit der Hypothese eines autosomal-dominanten Erbgangs in allen Patienten mit *WR* heterozygote Mutationen im gleichen Gen identifizieren. Dies deutete darauf hin, dass es sich bei dem von diesem Gen kodierten Protein um die gesuchte aktive Komponente des Vitamin-K-Epoxid-Reduktase-Komplexes handelt, so dass wir das Gen *VKORC1* („vitamin K epoxid reductase complex subunit 1“) nannten. Durch rekombinante Expression der Mutationen und Untersuchung der spezifischen Eigenschaften der resultierenden Enzymvarianten konnten wir sowohl die Kausalität für den Phänotyp bestätigen als auch *VKORC1* als der molekulare Zielort für Coumarine und die aktive Komponente des *VKOR*-Komplexes identifizieren [11]. Mittlerweile scheint sich abzuzeichnen, dass dieses relativ kleine Gen (489 bp, 163 AA) nicht in einem großen Komplex vorliegt, sondern möglicherweise allein oder mit nur wenigen Komplexpartnern den kompletten Vitamin-K-Zyklus ausführt.

Pharmakodynamik und -kinetik der coumarinbasierten oralen Antikoagulanzen

Die Klasse der Coumarine umfasst heute im Wesentlichen drei zugelassene Wirkstoffe: Warfarin, Phenprocoumon und Acenocoumarol. Ihre Wirkung als Vitamin-K-Antagonisten entfalten sie, indem sie direkt an die Vitamin-K-Epoxid-Reduktase (*VKORC1*) binden und so die Reduktion von Vitamin-K-Epoxid zu Vitamin-K-Chinon und weiter zu Vitamin-K-Hydrochinon inhibieren (■ **Abb. 1**; [6, 7, 8, 11]). Vitamin-K-Hydrochinon stellt einen essenziellen Kofaktor für die posttranslationale Modifikation der Vitamin-K-abhängigen Proteine dar. In Leberzellen werden Glutamatreste in den GLA-Domänen der Gerinnungsfaktoren II, VII, IX, X, Protein C und Protein S durch die γ -Glutamyl-Carboxylase unter Einsatz von CO_2 , O_2 und Vitamin-K-Hydrochinon in γ -Carboxy-Glutamat-Reste überführt. Erst durch diese Modifikation sind diese Faktoren in der Lage, Ca^{2+} zu chelatisieren und so an Phospholipidoberflächen und Thrombozyten zu binden. Da Vitamin K nur in begrenzter Menge mit der Nahrung zugeführt wird und keine größeren körpereigenen Speicher existieren, ist zur Aufrechterhaltung einer ausreichenden Carboxylierung der Vitamin-K-abhängigen Proteine ein effektives Recycling des anfallenden Vitamin-K-Epoxids durch die *VKORC1* notwendig. Wird dieser Recyclingmechanismus durch Coumarine inhibiert, hat dies einen Aktivitätsabfall der Vitamin-K-abhängigen Faktoren zur Folge.

Pharmakokinetik der Coumarine

Bei allen therapeutisch angewendeten Coumarinen handelt es sich um 3'-substituierte Derivate des 4-Hydroxy-2H-1-Benzopyran-2-ons. Ihnen gemeinsam sind das Coumarin­grundgerüst, ihre Lipophilie, die gute Resorbierbarkeit, eine Bioverfügbarkeit von mehr als 95% sowie die hohe Plasmaeiweißbindung. Da die Coumarine nicht stereoselektiv synthetisiert werden, liegen sie aufgrund des Stereozentrums in der Seitenkette als racemisches Gemisch der jeweiligen S- und R-Enantiomere vor. Wie bei vielen anderen Substanzen haben

medgen 2008 · 20:230–235
DOI 10.1007/s11825-008-0095-x
© Springer Medizin Verlag 2008

J. Oldenburg · S. Rost · H. Seidel ·
M. Watzka · C.R. Müller-Reible

Pharmakogenetik der oralen Antikoagulation mit Coumarinen

Zusammenfassung

Die Klonierung des *VKORC1*-Gens hat maßgeblich zu einem besseren Verständnis des Vitamin-K-Zyklus beigetragen. Das *VKORC1*-Protein konnte als der molekulare Zielort (Target) der Coumarine identifiziert werden. Mutationen und SNP innerhalb der translatierten und nichttranslatierten Regionen des *VKORC1*-Gens verursachen eine partielle bis totale Coumarinresistenz oder -sensitivität. Die Verfügbarkeit einer molekulargenetischen Diagnostik (*VKORC1*, *CYP2C9*) und einer Laboranalytik mittels HPLC (zur Bestimmung des Coumarin-, Vitamin-K- und Vitamin-K-Epoxid-Spiegels) ist hilfreich in der Detektion hereditärer und erworbener Einflussgrößen der Coumarintherapie und könnte zukünftig für eine individualisierte, risikoärmere orale Antikoagulationstherapie zum Einsatz kommen.

Schlüsselwörter

Coumarine · Coumarintherapie ·
Coumarinresistenz · Vitamin-K-Zyklus ·
Antikoagulationstherapie

Pharmacogenetics of oral anticoagulation therapy with coumarins

Abstract

The recent identification of *VKORC1* has made important contributions to our understanding of the vitamin K cycle. The *VKORC1* enzyme was shown to be the molecular target of coumarin drugs. Mutations and polymorphisms in coding and noncoding regions of the *VKORC1* gene have been shown to cause both a partial to total coumarin resistance and coumarin sensitivity. Availability of molecular diagnostics (*VKORC1*, *CYP2C9*) and drug monitoring by HPLC (determination of coumarin, vitamin K, and vitamin K epoxide levels) is helpful for detecting hereditary and acquired factors influencing coumarin therapy. In the future, these tools may be instrumental in designing individualized oral anticoagulation therapy regimens.

Keywords

Coumarin drugs · Coumarin therapy ·
Coumarin resistance · Vitamin K cycle ·
Oral anticoagulation therapy regimens

Tab. 1 Pharmakogenetik der cumarinbasierten Antikoagulation						
Gen	Position	Protein	Art der Variation (Allel)	Sequenzänderung	Einfluss auf die Cumarindosis	Allelfrequenz bei Kaukasiern
VKORC1	16p11.2	Vitamin-K-Epoxid-Reduktase-Untereinheit 1	Promotor-SNP (VKORC1*2)	rs9923231 c.-1639G>A	Stark	Bis zu 40%
CYP2C9	10q24.1	Cytochrom P450 2C9	Kodierender SNP (CYP2C9*2)	rs1799853 c.430C>T p.Cys144Arg	Mittel (Warfarin und Acenocoumarol)	Bis zu 20%
			(CYP2C9*3)	rs1057910 c.1075A>C p.Leu359Ile	Stark (Warfarin und Acenocoumarol)	Bis zu 10%
GGCX	2p12	Vitamin-K-abhängige γ -Carboxylase	Kodierender SNP	rs699664 c.974G>A p.Arg325Glu	Mittel	Bis zu 40%
PROC	2q13–q14	Protein C	Unklar	Unklar	Mittel	Bis zu 40%
APOE	19q13.2	Apolipoprotein ϵ 4	Kodierender SNP (ApoE4)	rs429358 c.388T>C p.Cys130Arg	Gering	Bis zu 15%
EPHX1	1q42.1	Mikrosomale Epoxidhydrilase 1	Kodierender SNP	rs1051740 c.337T>C p.Tyr113His	Gering	Bis zu 35%
				rs2234922 c.416G>A p.His139Arg		Bis zu 20%
CALU	7q32	Calumenin	Kodierender SNP	rs2290228 c.11G>A p.Arg4Glu	Gering	Bis zu 20%

Infobox 1: Internetlinks

- <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c9.htm>: Homepage des Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee
- <http://www.warfarindosing.org>: webbasiertes Rechner

die beiden Enantiomere der Cumarine eine ungleiche Wirkung und werden unterschiedlich verstoffwechselt. So weist das S-Enantiomer gegenüber dem R-Enantiomer eine bis zu 5-fach höhere antikoagulatorische Wirksamkeit auf [1].

Umgekehrt verhält sich v. a. bei Warfarin und Acenocoumarol der enantiomerspezifische Metabolismus. Während die S-Enantiomere hauptsächlich über das hepatische CYP2C9 abgebaut werden, erfolgt dies für das R-Enantiomer durch eine Vielzahl von Enzymen der Cytochrom-P450-Familie, wie CYP1A2, CYP2C8, CYP3A4 oder CYP3A5. Durch die verschiedene Struktur von Warfarin und Acenocoumarol sowie die voneinander abweichende Effektivität der metabolischen Abbauege sind die einzelnen Enantiomere durch unterschiedliche Halbwertszeit charakterisiert. So wurde für S-Warfarin eine Halbwertszeit von 24–33 h,

für R-Warfarin hingegen von 35–58 h festgestellt [14]. S- und R-Acenocoumarol besitzen mit 1,8 bzw. 6,6 h deutlich kürzere Halbwertszeiten [14]. Dieser erhebliche Unterschied in den Halbwertszeiten der Enantiomere führt dazu, dass das pharmakokinetische Profil von racemischem Warfarin durch einen Peak des antikoagulatorisch stärkeren S-Enantiomers mit einem nachfolgend längeren Plateau des weniger wirksamen R-Warfarins gekennzeichnet ist. Bei Acenocoumarol ist dieser Effekt durch die Halbwertszeit von 1,8 h für das S-Enantiomer noch ausgeprägter, so dass hier schon nach kurzer Zeit die Hauptlast der Antikoagulation auf dem schwächer wirksamen R-Acenocoumarol liegt.

Da sowohl S-Warfarin als auch S-Acenocoumarol hauptsächlich über den CYP2C9-Stoffwechselweg abgebaut werden, führen Mutationen in diesem Enzym zu schwerwiegenden Änderungen des pharmakokinetischen Profils. Neben dem Wildtypallel CYP2C9*1 wurden bisher 29 weitere Allele des CYP2C9 klassifiziert [*2–*30; s. Homepage des Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee; **Infobox 1**;

Stand 08.02.2008], von denen einige eine eingeschränkte Funktionalität aufweisen. Bei Kaukasiern sind insbesondere die Allele CYP2C9*2 und CYP2C9*3 von Bedeutung. CYP2C9*2 unterscheidet sich durch eine Missense-Mutation in Exon 3 vom Wildtyp (rs1799853, c.430C>T, p.Arg144Cys) und weist eine Restaktivität bezüglich Warfarin von 12% auf. Die Frequenz in kaukasischen Populationen ist mit bis zu 20% relativ hoch. Das Allel CYP2C9*3 (Mutation in Exon7; rs1057910, c.1075A>C, p.Ile359Leu) hat eine geringere Frequenz (bis zu 10% bei Kaukasiern), allerdings ist die Restaktivität bezüglich Warfarin mit 5% deutlich geringer. Infolgedessen akkumulieren sich die höherpotenten S-Enantiomere von Warfarin und Acenocoumarol bei Patienten mit heterozygoten, kombiniert heterozygoten oder homozygoten CYP2C9-hypofunktionalen Allelen schnell zu suprathérapeutischen Konzentrationen, so dass eine Überantikoagulation mit nachfolgend erhöhtem Blutungsrisiko die Folge ist.

Das in Deutschland überwiegend verschriebene Cumarinderivat Phenprocoumon nimmt eine Sonderstellung ein, da es zu einem Großteil unmetabolisiert über

die Niere ausgeschieden wird und die metabolische Modifikation durch Hydroxylierung für beide Enantiomere von denselben Enzymen ausgeführt wird. Im Gegensatz zu Warfarin und insbesondere Acenocoumarol sind die Halbwertszeiten von S- und R-Phenprocoumon mit 110–130 bzw. 110–125 h verhältnismäßig lang und annähernd gleich [14]. Da beim Metabolismus von Phenprocoumon CYP2C9 nur eine begrenzte Rolle spielt, sind die oben beschriebenen Allelvarianten hier von untergeordneter Bedeutung [14].

Pharmakodynamik der Cumarine

Auch wenn durch die hypofunktionalen Allele des CYP2C9 und individuelle Faktoren wie Alter, Geschlecht und Gewicht ein Teil der Cumarindosis im Rahmen der oralen Antikoagulation erklärt werden konnte, blieb der Großteil der interindividuellen Dosisvariation lange Zeit einem rationalen Ansatz verschlossen. Dies änderte sich mit der Klonierung der VKORC1 [4, 11]. Als molekularer Zielort für Cumarine wurde sie schnell das Ziel von Genotyp-Phänotyp-Untersuchungen. Zuerst war es ein einzelner Polymorphismus, welcher mit einer verringerten Cumarindosis assoziiert werden konnte; später stellte sich heraus, dass dieser Polymorphismus Teil eines komplexen Haplotyps ist. In diesem Haplotyp konnte ein weiterer Polymorphismus der VKORC1 als Ursache für die verringerte Cumarindosis identifiziert werden [3, 10]. Es handelt sich um einen Polymorphismus in der Promotorregion (rs9923231), der die Konsensussequenz einer E-Box-Transkriptionsfaktoren-Bindungsstelle dergestalt ändert, dass die Transkriptionsrate der VKORC1-mRNA im Vergleich zur Wildtypsequenz um 30–50% sinkt [10, 15]. Dies wiederum hat zur Folge, dass sowohl die Menge an translatiertem VKORC1-Protein als auch die VKORC1-Aktivität im selben Maß vermindert sind. Da Cumarine direkt 1:1 an das TYA-Warfarin-Bindungsmotiv der VKORC1 binden, kann über den Haplotyp VKORC1*2 ein Großteil der beobachteten interindividuellen Dosisvariation erklärt werden. Durch den molekularen Mechanismus der Cumarinhemmung bedingt ist der Dosisseffekt des Haplotyps VKORC1*2 nahezu linear. Verglichen mit

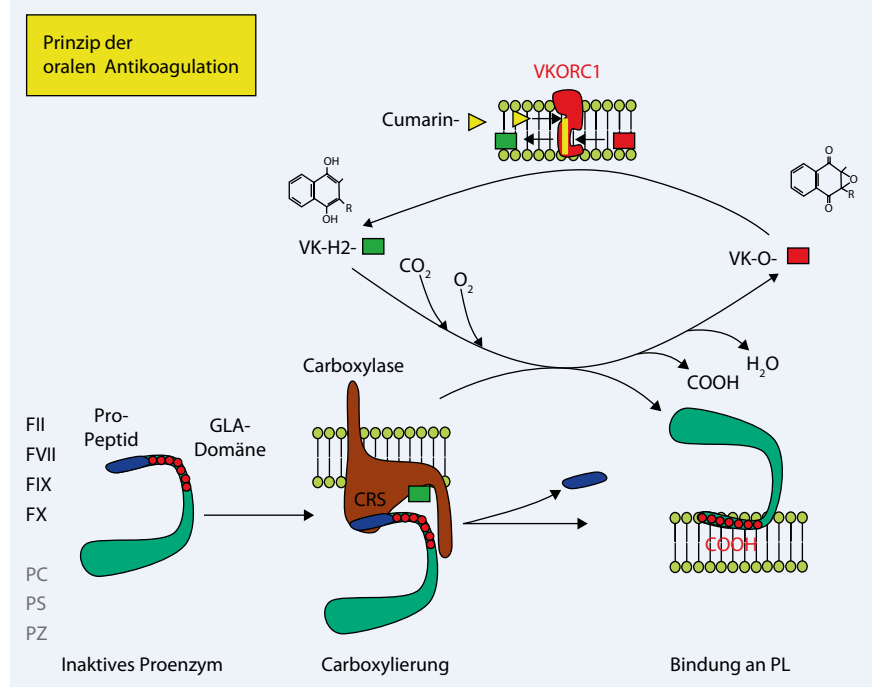


Abb. 1 ▲ Vitamin-K-Zyklus, unterer Teil γ -Carboxylierung, oberer Teil Recycling von Vitamin K durch die Vitamin-K-Epoxid-Reduktase (VKORC1), Inhibition der VKORC1 durch Cumarinderivate wie Warfarin verhindert Bereitstellung des Kofaktors Vitamin-K-Hydrochinon für die GGCCX (γ -Glutamyl-Carboxylase), dadurch verringerte Anzahl aktiver Vitamin-K-abhängiger Gerinnungsfaktoren und damit antikoagulatorischer Effekt, VK-H2- Vitamin-K-Hydrochinon, VK-O Vitamin-K-Chinon, GLA γ -Carboxy-Glutamat, FII Gerinnungsfaktor II, FVII Gerinnungsfaktor VII, FIX Gerinnungsfaktor IX, FX Gerinnungsfaktor X, PC Protein C, PL Phospholipid, PS Protein S, PZ Protein Z

dem homozygoten Wildtyp haben Patienten mit heterozygotem VKORC1*2-Haplotyp einen um etwa 20–25% verringerten Cumarinbedarf, während eine homozygote VKORC1*2-Haplotypen-Konstellation zu einer durchschnittlich um 50% verringerten Dosis führt [6, 7, 8].

Ein weiterer, vom Metabolismus und der direkten Bindung von Cumarinen unabhängiger Faktor ist Protein C (MIM 176860, NM_000312). Aufgrund seiner antikoagulatorischen Wirkung scheinen verschiedene Polymorphismen im Protein-C-Gen mit einer bis zu 10% erhöhten bzw. erniedrigten Warfarindosis einherzugehen (rs2069919, rs2069921, rs973760). Der exakte Mechanismus dieser Einflüsse ist bisher noch nicht geklärt. Weitere 2–4% der Variabilität sind durch Varianten der γ -Carboxylase bedingt, welche zu einer erhöhten Aktivität führen.

Neben diesen Haupteinflussfaktoren konnten in letzter Zeit noch einige weitere genetische Determinanten für einen höheren bzw. niedrigeren Cumarinbedarf charakterisiert werden. Zu diesen gehört der ApoE-4-Genotyp (MIM107741, NM_000041), welcher mit einer erhöhten er-

forderlichen Cumarindosis assoziiert ist. Dies wird auf eine verstärkte hepatische Chylomikronenresorption und dadurch erhöhte Vitamin-K-Konzentration in der Leber zurückgeführt. Ebenso werden Polymorphismen in der mikrosomalen Epoxidhydrolase (EPHX1, MIM 132810, NM_000120), im Orosomucoid-1-Gen (ORM1, MIM 138600, NM_000607) sowie im Calumeningen (CALU, MIM 603420, NM_001219) mit einem gesteigerten Cumarinbedarf assoziiert. Allerdings sind die durch Varianten dieser Gene verursachten Dosisseffekte gering und liegen addiert im niedrigen Prozentbereich.

Cumarinsensitivität

Der Begriff Cumarinsensitivität beschreibt einen klinischen Phänotyp, der sich durch eine gute antikoagulatorische Wirkung von Cumarinen bei deutlich gegenüber dem Durchschnitt reduzierter Dosis auszeichnet. Er wird im Allgemeinen durch einen homozygoten VKORC1*2-Haplotyp hervorgerufen und tritt in kaukasischen Kollektiven mit einer Frequenz von 16%, in afrikanischen mit einer Frequenz von

2,5% auf. In asiatischen Populationen hingegen stellt dieser Phänotyp durch die hohe Frequenz des *VKORC1**2-Allels (bis zu 95%) den Normalzustand dar, so dass diese Gruppe durch eine allgemein niedrige Cumarindosis charakterisiert ist [3, 10, 13].

Unabhängig von den Varianten der *VKORC1* sind die Allele des *CYP2C9*, insbesondere *CYP2C9**3 durch den eingeschränkten Metabolismus von Warfarin und Acenocoumarol verantwortlich für niedrige bis sehr niedrige Cumarindosen sowie für ein erhöhtes Risiko für Überantikoagulation und Blutungszwischenfälle. Bei homozygoten Kombinationen des *VKORC1**2- und *CYP2C9**3-Genotyps wurden übereinstimmend Warfarindosen von 0,5–1,0 mg/Tag und weniger beobachtet.

Cumarinresistenz

Der klinische Phänotyp der Cumarinresistenz kann in zwei Gruppen mit unterschiedlichen genetischen Ursachen unterteilt werden. Die erste Gruppe von Patienten ist partiell resistent und zeichnet sich durch das homozygote Vorliegen von Nicht-*VKORC1**2- und *wt-CYP2C9*-Allelen aus. Eine ausreichende und stabile orale Antikoagulation lässt sich bei diesen Patienten mit erhöhten Cumarindosen erreichen, welche im Rahmen des 1,5- bis 2-Fachen der durchschnittlichen Dosis liegen. Die Kombination dieser *wt*-Allele macht in kaukasischen Populationen etwa 20% aus und entspricht sowohl im Anteil als auch der Höhe der Dosierung dem oberen Viertel der üblichen Spanne der Cumarindosierung [3, 10].

Die zweite Gruppe von Patienten zeichnet sich durch deutlich erhöhte Cumarindosen aus, auch konnte in Einzelfällen eine totale Resistenz beobachtet werden. Bedingt wird dieser Phänotyp durch vornehmlich seltene, heterozygote Mutationen im *VKORC1*-Gen. Bisher wurden 15 Patienten mit 7 verschiedenen Mutationen beschrieben, welche mit einer Ausnahme individuelle Sequenzvariationen ohne weite Verbreitung sind. Die Mutation p.Asp36Tyr (c.106G>T) hingegen konnte in jüdischen Gruppen äthiopischer und osteuropäischer Herkunft mit einer Frequenz von 15% bzw. 4% beobach-

tet werden. Sie ist mit dem vornehmlich in Afrika anzutreffenden ursprünglichen *wt*-Allel *VKORC1**1 assoziiert und spielt in anderen Populationen bisher keine Rolle.

Die Mutationen in der *VKORC1* clustern in zwei Regionen. Bei der ersten handelt es sich um die 3. transmembranäre α -Helix, welche sowohl das aktive Zentrum mit dem CIVC-Motiv [Aminosäuren (AS) 132–135] als auch das TYA-Warfarin Bindungsmotiv (AS 138–140) enthält [6, 7, 8]. Die zweite Region umfasst eine große extramembranäre Schleife, welche zwischen der 1. und 2. α -Helix liegt. Obwohl diese Schleife weit entfernt vom aktiven Zentrum und dem Warfarinbindungsmotiv lokalisiert zu sein scheint, konnten mehrere hochkonservierte Aminosäuren als essenziell für die *VKORC1*-Aktivität und Sequenzänderungen als ursächlich für eine Cumarinresistenz charakterisiert werden. Dies mag an einer möglichen direkten oder indirekten Interaktion dieser Schleife mit der 3. transmembranären Domäne liegen, exakte mechanistische Aussagen können aber erst getroffen werden, wenn die räumliche Struktur des Enzyms geklärt ist.

Neue Dosisalgorithmen

In den letzten Jahren wurden bereits einige Studien zur genotypadaptierten Cumarindosis durchgeführt und neue Dosisalgorithmen entwickelt, die neben den bekannten Faktoren wie Alter, Geschlecht und Körpergewicht auch die *VKORC1*- und *CYP2C9*-Genotypen berücksichtigen. In allen Studien wird übereinstimmend den *VKORC1*-Genotypen der größte prädiktive Einfluss beigemessen, während die Bedeutung der *CYP2C9*-Genotypen eine untergeordnete Rolle spielt. Da gezeigt werden konnte, dass bestimmte *VKORC1*- und *CYP2C9*-Haplotypkombinationen mit einem erhöhten Blutungsrisiko einhergehen, verspricht die genotypabhängige Dosierung als bedarfsgerechte, individualisierte Adaptation eine signifikante Reduktion von Komplikationen, besonders in der Initialphase der Cumarintherapie.

Eine Neueinstellung auf Cumarine erfolgt häufig unter stationären Bedingungen, die meist ambulant durch den Hausarzt weitergeführt wird. Die (in der

Regel mit der Gabe von Heparinen überlappende) Initialphase ist jedoch besonders kritisch im Bezug auf eine überschießende Cumarinwirkung, was ein engmaschiges Monitoring erfordert. Als Folge des zunehmenden Kostendrucks im stationären Bereich mit verkürzten Liegedauern besteht die Gefahr eines unzureichenden Monitorings. Für eine bessere Einschätzung des prospektiven Cumarinbedarfs in der Eindosierungsphase bis zum Erreichen einer stabilen Antikoagulation wäre daher ein kosteneffektives Screening äußerst wünschenswert. Zudem könnten Patienten mit einem erhöhten Blutungsrisiko identifiziert werden, was die Sicherheit der Therapie mit oralen Antikoagulanzen erhöhen könnte. Jedoch sind weitere randomisierte klinische Studien notwendig, um den Nutzen der noch nicht ausreichend validierten pharmakogenetisch adaptierten Dosisalgorithmen gegenüber dem Standardprozedere zu belegen. Eine weitere Limitation der gegenwärtigen Dosisalgorithmen besteht in der praktischen Anwendung, die einfach und schnell verfügbar sein sollte. Mittels Desktopcomputern und mobiler Geräte bestünde jedoch die Möglichkeit eines raschen Zugriffs auf entsprechende Rechenhilfen (webbasierter Rechner, Infobox 1). Derartige Plattformen bieten zudem die Möglichkeit, mittels Eingabe der tatsächlichen Cumarindosis die Entwicklung der jeweiligen Dosismodelle voranzutreiben.

Ausblick

Ein bedeutendes Prinzip einer risikoreduzierten oralen Antikoagulation ist die Ausschaltung variabler Einflüsse. Neben den oben dargestellten pharmakogenetischen und -kinetischen Faktoren stellt die Aufnahme von Vitamin K mit der Nahrung eine wesentliche Einflussgröße auf die Intensität und Stabilität der Therapie dar. In den westlichen Industriestaaten besteht durch die Lebens- und Ernährungsgewohnheiten eine latente Vitamin-K-Unterversorgung, die unter normalen Umständen nicht zum Tragen kommt. Unter oraler Antikoagulation zeigt sich jedoch ein deutlicher Einfluss der Ernährungsweise auf die Stabilität der INR: Es konnte gezeigt werden, dass warfarinisierte Patienten mit instabilem INR-Verlauf weniger

Vitamin K mit der Nahrung aufnehmen (unterhalb der WHO-Empfehlung) als Patienten mit stabilem INR ($29 \pm 17 \mu\text{g}$ vs. $76 \pm 40 \mu\text{g}$; [12]). Diese Beobachtung führte zu der Hypothese, dass eine stabile Antikoagulation nur bei einer ausreichenden täglichen Vitamin-K-Versorgung in niedriger Dosis gewährleistet ist, während eine Unterversorgung zu einer instabilen Antikoagulation führen kann [5]. Die gleichzeitige Gabe eines Agonisten und Antagonisten mag zunächst widersprüchlich erscheinen, bei näherer Betrachtung verspricht dieses neue Prinzip jedoch eine rationale Strategie für die orale Antikoagulation zu werden. Die schwierige Steuerbarkeit der Cumarintherapie kann mehrere Ursachen haben:

- die variable Aufnahme von Vitamin K mit der Nahrung,
- nicht ausreichende Speicherreserven von Vitamin K im Körper,
- die Abhängigkeit der Aktivität der γ -Carboxylase von der Vitamin-K-Konzentration und
- die Rolle von *VKORC1* als geschwindigkeitsbestimmender Schritt bei der Carboxylierung.

Einige Studien haben bereits eine Rationale für diesen Ansatz geschaffen: Bei gesunden, stabil antikoagulierten Probanden konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Vitamin-K-Gabe von $150 \mu\text{g}$ für Frauen oder $200 \mu\text{g}$ für Männer nicht zu einem signifikanten, klinisch relevanten Abfall der INR unter oraler Antikoagulation führt. In einzelnen Studien mit instabil mit Warfarin antikoagulierten Patienten (zwischen 70 und 200 Patienten) zeigten sich in den mit täglich zwischen 100 und $150 \mu\text{g}$ Vitamin K supplementierten Gruppen übereinstimmend ein signifikanter Abfall der Standardabweichung des INR-Werts bzw. eine signifikante Zunahme der prozentualen Zeit, in der der INR innerhalb des therapeutischen Bereichs lag. Auch wenn eine Reihe von Daten für eine stabilere Antikoagulation durch dieses neue Prinzip sprechen, werden die Studien durch die geringen Fallzahlen und folglich das fehlende Erreichen des primären Endpunkts von Blutungsereignissen limitiert.

Angesichts der Häufigkeit von 0,25% für tödliche Blutungskomplikationen

und der weltweiten Verbreitung der Cumarine als Antikoagulanzen erscheint es sinnvoll, dieses neue Therapiekonzept in einer multizentrischen prospektiven doppelblind randomisierten Fallkontrollstudie zu untersuchen. Eine derartige Studie wird gegenwärtig von der Universitätsklinik Bonn initiiert und könnte im Herbst 2008 beginnen. Die dabei gewählte tägliche Dosierung von $80 \mu\text{g}$ Vitamin K liegt unter der in den oben angeführten Publikationen genannten (100 – $200 \mu\text{g}$) und entspricht der üblicherweise empfohlenen Vitamin-K-Mindest-Tagesmenge [$80 \mu\text{g}$ DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung), 2001 bzw. FDA (Food and Drug Administration), 1998].

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. J. Oldenburg
 Institut für Experimentelle Hämatologie
 und Transfusionsmedizin,
 Universitätsklinik Bonn,
 Sigmund-Freud-Straße 25, 53127 Bonn
 johannes.oldenburg@ukb.uni-bonn.de

Literatur

1. Chan E, McLachlan A, O'Reilly R et al. (1994) Stereochemical aspects of warfarin drug interactions: use of a combined pharmacokinetic-pharmacodynamic model. *Clin Pharmacol Ther* 56: 286–294
2. Fregin A, Rost S, Wolz W et al. (2002) Homozygotie mapping of a second gene locus for hereditary combined deficiency of vitamin K-dependent clotting factors to the centromeric region of chromosome 16. *Blood* 100: 3229–3232
3. Geisen C, Watzka M, Sittlinger K et al. (2005) *VKORC1* haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost* 94: 773–779
4. Li T, Chang CY, Jin DY et al. (2004) Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 427: 541–544
5. Oldenburg J (2005) Vitamin K intake and stability of oral anticoagulant treatment. *Thromb Haemost* 93: 799–800
6. Oldenburg J, Bevans CG, Müller CR et al. (2006) Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*): the key protein of the vitamin K cycle. *Antioxid Redox Signal* 8: 347–353
7. Oldenburg J, Bevans CG, Fregin A et al. (2007) Current pharmacogenetic developments in oral anticoagulation therapy: the influence of variant *VKORC1* and *CYP2C9* alleles. *Thromb Haemost* 98: 570–578
8. Oldenburg J, Watzka M, Rost S et al. (2007) *VKORC1*: molecular target of coumarins. *J Thromb Haemost [Suppl 1]* 5: 1–6
9. Palareti G, Leali N, Coccheri S et al. (1996) Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study (ISCOAT). Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy. *Lancet* 348: 432–438
10. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF et al. (2005) Effect of *VKORC1* haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 352: 2285–2293
11. Rost S, Fregin A, Ivaskievicius V et al. (2004) Mutations in *VKORC1* cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 427: 537–541
12. Sconce E, Khan T, Mason J et al. (2005) Patients with unstable control have a poorer dietary intake of vitamin K compared to patients with stable control of anticoagulation. *Thromb Haemost* 93: 872–875
13. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA et al. (2005) The impact of *CYP2C9* and *VKORC1* genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood* 106:2329–2333
14. Ufer M (2005) Comparative pharmacokinetics of vitamin K antagonists: warfarin, phenprocoumon and acenocoumarol. *Clin Pharmacokinet* 44: 1227–1246
15. Yuan HY, Chen JJ, Lee MT et al. (2005) A novel functional *VKORC1* promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet* 14:1745–1751