

นิพนธ์ต้นฉบับ

ความถี่ของยีน VKORC1 ในผู้บริจาคเลือดชาวไทยและผู้ป่วยที่ได้รับยา warfarin

สุมลมาลย์ คล้าชื่น, อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์, พันธุ์เทพ อังชัยสุขศิริ* และ วีระศักดิ์ ศาสนกุล

ภาควิชากุมารเวชศาสตร์, *ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ : ยา warfarin เป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือดที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย การใช้อย่างไม่เหมาะสมในการปรับยาให้ได้ขนาดที่เหมาะสม มีการศึกษาพบว่าปัจจัยทางพันธุกรรม เพศ อายุ น้ำหนัก มีผลต่อการตอบสนองของยา warfarin ในผู้ป่วยแต่ละคน คณะผู้วิจัยได้ศึกษาความถี่และความสัมพันธ์ของยีน vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) ที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ vitamin K epoxide reductase กับขนาดของยา warfarin ในผู้บริจาคเลือด 319 ราย และผู้ป่วยที่ได้รับยา warfarin 106 ราย ผลการศึกษาพบว่าความถี่ของยีน VKORC1 ที่ตำแหน่ง -1639 ชนิด AA (ในผู้บริจาคเลือดย้อยละ 61.1, ผู้ป่วย 63.2) ชนิด GA (ในผู้บริจาคเลือดย้อยละ 33.6, ผู้ป่วย 31.1) ชนิด GG (ในผู้บริจาคเลือดย้อยละ 5.3, ผู้ป่วย 5.7) ความถี่ของยีน VKORC1 ชนิด AA มีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับเท่ากับ 24.0 ± 10.2 มก./สัปดาห์ต่ำกว่าชนิด GG (39.5 ± 21.3 มก./สัปดาห์) และชนิด GA (37.6 ± 13.0 มก./สัปดาห์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ส่วนปัจจัยทางด้านน้ำหนักและส่วนสูงนั้น พบว่าเมื่อพื้นที่พิกายที่มากขึ้นมีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$) และอายุที่มากขึ้นมีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยทั้งหมดกับความต้องการยา warfarin พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับมากที่สุดคือ polymorphisms ของ VKORC1 gene โดยชนิด AA ซึ่งพบบ่อยในคนไทยมีความต้องการยาน้อยกว่าชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Key Words : ● Warfarin ● VKORC1 ● Single nucleotide polymorphism ● Thai

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2551;18:307-13.

ปัจจุบันภาวะลิ่มเลือดอุดตันเมื่ออุบัติการณ์เพิ่มมากขึ้นในคนไทย เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมและสิ่งแวดล้อมในคนไทย รวมทั้งมีการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพิ่มมากขึ้น ยาที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการรักษา ได้แก่ warfarin เป็นยาชนิดรับประทานที่ใช้ได้สะดวก ยาจะออกฤทธิ์ต้านวิตามินเค โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ vitamin K epoxide reductase ทำให้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่อาศัยวิตามินเคไม่สามารถเปลี่ยนเป็น active form ได้ จึงทำให้เลือดแข็งตัวลดลง

ปัญหาที่พบจากการใช้ยา warfarin คือข้อแทรกซ้อนที่มีภาวะเลือดออกง่ายซึ่งเป็นภาวะแทรกซ้อนที่รุนแรง¹ พบปัญหาการปรับขนาดยาเนื่องจากผู้ป่วยแต่ละคนมีการตอบสนองของยาแตกต่างกัน

กัน มีการศึกษาพบว่า เพศ อายุ น้ำหนักตัว ยาบางชนิดที่รับประทานและปัจจัยทางด้านพันธุกรรม มีผลต่อการตอบสนองต่อยา warfarin ของผู้ป่วย²⁴

ปัจจัยทางพันธุกรรมมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน ได้แก่ ความแตกต่างของ polymorphisms ของยีนที่ควบคุม cytochrome P450 (CYP2C9) โดยพบว่า cytochrome P450 มีความสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของยาหลายชนิด รวมทั้งยา warfarin CYP2C9 เปลี่ยน S-warfarin ซึ่งเป็น isomer หลักของ warfarin เป็น 6- and 7- hydroxywarfarin ซึ่งเป็น warfarin ที่ไม่ออกฤทธิ์ โดยพบว่า polymorphisms ชนิด *2 และ *3 มีผลทำให้การขับยาลดลง ส่งผลให้ระดับของยาในเลือดสูงขึ้นเสี่ยงต่อการมีภาวะเลือดออก^{5,6} การศึกษาของแพทย์หญิงสร้อยบุญ นุชกร เรืองรัตน์ และคณะ⁷ ที่คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี เมื่อ พ.ศ. 2549 พบว่า ผู้บริจาคโลหิตชาวไทยและผู้ป่วยมี polymorphism ของ CYP2C9 ใกล้เคียงกัน พบชนิด *1/*1 หรือ

ได้รับต้นฉบับ 13 พฤศจิกายน 2551 ให้ลงตีพิมพ์ 25 พฤศจิกายน 2551
ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ : พญ. อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ถนนพระราม 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400 e-mail : raajs@mahidol.ac.th

wild type ร้อยละ 91.4, *1/*3 ร้อยละ 8.6 และพบว่าผู้ป่วยที่มี polymorphism ชนิด 1/*3 มีแนวโน้มต้องการยา warfarin ในขนาดที่ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มี polymorphism ชนิด *1/*1 แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

นอกจากนี้มีการศึกษาถึงปัจจัยทางพันธุกรรมอื่นๆ ที่มีผลต่อขนาดของ warfarin พบว่า polymorphisms ของ vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 gene (VKORC1) ที่ควบคุมการสร้าง vitamin K epoxide reductase ทำให้มีการตอบสนองของยา warfarin ที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละคน^{8,13} และ การศึกษาของ Yaun และคณะ¹⁴ ในปี พ.ศ. 2548 พบว่า polymorphisms ที่พบบ่อยของยีน VKORC1 ได้แก่ -1639 (G>A) และ 1173 (C>T) และชาวเอเชียพบ polymorphism ในตำแหน่ง -1639 เป็น adenine ได้บ่อย ผู้ป่วยที่มี polymorphism ในตำแหน่งนี้เป็น homozygous ชนิด AA มีการตอบสนองของยา warfarin มากกว่า polymorphism ชนิดอื่นและมีความต้องการยา warfarin ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาของ Osman และคณะ¹⁵ ในปี พ.ศ. 2550 พบว่าระดับยา warfarin ในเลือดของผู้ป่วยมีความสัมพันธ์กับ polymorphisms ของ ยีน VKORC1 แต่ระดับยาในเลือดไม่มีความสัมพันธ์กับ polymorphisms ของ CYP2C9 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับความถี่ของ polymorphisms ของยีน VKORC1 และความสัมพันธ์ของ polymorphisms ของยีน VKORC1 กับขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับ การศึกษานี้จึงเป็นการศึกษาความถี่ของยีน VKORC1 และความสัมพันธ์ดังกล่าวซึ่งน่าจะมีประโยชน์ในการคาดคะเนขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยควรได้รับเพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อนโดยเฉพาะปัญหาเลือดออกซึ่งมีความรุนแรงอาจทำให้เกิดอันตรายแก่ผู้ป่วยได้

วิธีการศึกษา

ประชากร

กลุ่มที่ 1 ผู้บริจาคเลือดประจำที่มีคุณสมบัติตามเกณฑ์มาตรฐานของ American Association of Blood Bank ไม่ได้ใช้ยาใดๆ จำนวน 319 คน

กลุ่มที่ 2 ผู้ป่วยที่มีข้อบ่งชี้ในการได้รับยา warfarin ที่ได้รับการรักษาที่ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดีตั้งแต่เดือนกันยายน พ.ศ. 2546 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2550 จำนวน 106 คน โดยมีเกณฑ์การคัดออกคือผู้ป่วยที่มีภาวะการทำงานของตับและไตบกพร่อง ผู้ป่วยที่ได้รับยาที่มีผล

ต่อเมตาบอลิซึมของยา warfarin และผู้ป่วยที่มีข้อห้ามไม่ครบถ้วน

การเก็บข้อมูล

- เก็บข้อมูลพื้นฐานของผู้ป่วย เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง โรคประจำตัว อาหารที่ได้รับ ยาอื่นที่ได้รับ ประวัติการสูบบุหรี่ ขนาดของยา warfarin ที่ได้รับและผลตรวจทางห้องปฏิบัติการค่า prothrombin time แสดงด้วย INR 2.0-3.0 โดยที่ขนาดของยา warfarin และค่า INR มีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าร้อยละ 15 ในระยะเวลา 4 สัปดาห์

การเก็บตัวอย่างเลือด

- เจาะเลือดปริมาณ 10 มล. จากผู้ป่วยหลังได้รับยา warfarin 16 ชั่วโมง โดยแยกพลาสมาส่งตรวจ prothrombin time และเก็บชิ้นเม็ดเลือดขาวเพื่อนำมาสกัด DNA

วิธีการวิเคราะห์หา polymorphisms ของยีน VKORC1

1. ออกแบบ primer โดยการใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ "Gene runner" ได้แก่ forward primer: 5'-ACA GAC GCC AGA GGA AGA GA-3' และ reverse primer: 5'-CTC AAG TGA TCC ACC CAC CT-3'

2. สกัด DNA ทำการสกัด DNA ด้วยวิธี salt-precipitation

3. ขั้นตอนการทำ PCR โดยการใช้ DNA 25 ng จำนวน 1 μ L, forward & reverse primer 10 ng/ μ L จำนวน 2 μ L, 10 x PCR buffer (10 X NEB buffer) จำนวน 2.5 μ L, dNTP 10 mM จำนวน 0.5 μ L, $MgCl_2$ 25 mM จำนวน 1 μ L, Taq polymerase (Invitrogen®) 0.1 unit และเติมน้ำกลั่น ให้ครบ 25 μ L และใช้ DNA Thermal cycler (Biometra®, T-gradient) โดยมี

- Initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C. เป็นเวลา 1 นาที

- Amplification ประกอบด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94°C. เป็นเวลา 1 นาที, annealing ที่อุณหภูมิ 60°C. เป็นเวลา 30 วินาที, extension ที่อุณหภูมิ 72°C. เป็นเวลา 20 วินาที และ final extension ที่อุณหภูมิ 72°C. เป็นเวลา 5 นาที

- ตรวจสอบ PCR product ที่ได้ซึ่งมีความยาว 165 bp

4. Restriction enzyme digestion ได้คัดเลือกเอนไซม์ Msc I ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะย่อยนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่ง CCA ต่อกับ GGT ซึ่งจำเพาะต่อ polymorphisms ของ VKORC1 ตำแหน่ง -1639 G>A โดยใช้ PCR product 15 μ L, 10 x NEB buffer 3 μ L, Msc I enzyme 0.5 μ L และเติมน้ำกลั่น 11.5 μ L แล้วนำส่วนผสมดังกล่าวบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C. นาน 4 ชั่วโมง

นำ digested product มาทำ electrophoresis ใช้ 8% Polyacrylamide gel ใน 1 x TBE ใช้เวลาประมาณ 15 นาที แล้วนำ gel มาย้อมด้วย ethidium bromide ใน 1 x TBE เป็นเวลา 10 นาที แล้วส่องดูด้วย transilluminator ดังแสดงในรูปที่ 1

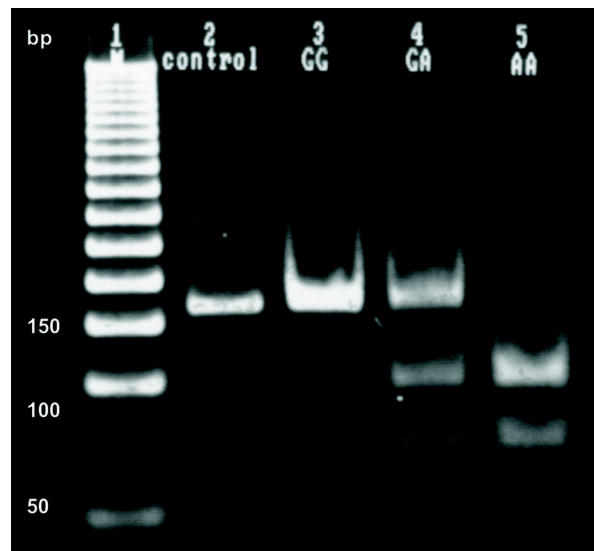
สถิติ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยแบบตัดขวาง (Cross-sectional study) เพื่อศึกษาจำนวน ร้อยละของยีน VKORC1 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของขนาดของยาที่ได้รับ ทดสอบความแตกต่างของขนาดยาที่ได้รับระหว่างชนิดของยีนโดยใช้สถิติ analysis of variance และทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่ด้วยวิธี Bonferroni adjustment และหาความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อขนาดของยาโดยใช้สถิติ correlation coefficient

ผลการศึกษา

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดที่มีสุขภาพแข็งแรงไม่มีภาวะลิ่มเลือดอุดตันจำนวน 319 คน อายุเฉลี่ย 39.1 ปี และกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับยา warfarin เพื่อป้องกันภาวะลิ่มเลือดอุดตันด้วยข้อบ่งชี้ ดังแสดงในตารางที่ 1 จำนวน 106 คน เป็นเพศชาย 37 คน เพศหญิง 69 คน อายุเฉลี่ย 49.4 ปี พบว่าทั้ง 2 กลุ่มมีความถี่ของ polymorphism ของยีน VKORC1 และ CYP2C9 คล้ายคลึงกัน ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของ polymorphisms ของยีน VKORC1 กับขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับ คิดเป็น มก./สัปดาห์ ดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่า polymorphism ของ VKORC1 ชนิด AA มีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับเท่ากับ 24.0 ± 10.2 มก./สัปดาห์ต่ำกว่าชนิด GG (39.5 ± 21.3 มก./สัปดาห์) และชนิด GA (37.6 ± 13.0 มก./สัปดาห์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$)



รูปที่ 1 แสดง polymorphisms ของยีน VKORC1 ที่ย่อยด้วย Msc I โดย Lane ที่ 1 แสดง 50 bp DNA marker, Lane ที่ 2 เป็น undigested product 165 bp, Lane ที่ 3 เป็น digested product ที่มี 1 band คือขนาด 165 bp ซึ่งไม่สามารถตัดด้วยเอนไซม์ Msc I แสดงว่า polymorphism ที่ตำแหน่ง -1639 คือ GG, Lane ที่ 4 เป็น digested product ที่มี 3 band คือขนาด 165 bp, 98 bp และ 67 bp โดยยีนข้างหนึ่งตัดด้วยเอนไซม์ MscI แสดงถึง polymorphism ที่ตำแหน่ง -1639 คือ GA, Lane ที่ 5 เป็น digested product ที่มี 2 band คือขนาด 98 bp และ 67 bp ซึ่งตัดด้วยเอนไซม์ Msc I แสดงว่า polymorphism ที่ตำแหน่ง -1639 คือ AA

นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาความสัมพันธ์ของเพศกับขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับ ปรากฏว่า ชาย 37 คน ต้องการ warfarin 31.8 ± 14.2 มก./สัปดาห์ สูงกว่าเพศหญิง 69 คน ซึ่งเท่ากับ 27.9 ± 13.0 มก./สัปดาห์ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.053$) ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับน้ำหนักตัว ส่วนสูงและอายุกับขนาดของยา warfarin ผู้ป่วยได้รับด้วยวิธี correlation coefficient พบว่าเมื่อนำน้ำหนักตัว ส่วน

ตารางที่ 1 ข้อบ่งชี้ของการได้รับยา warfarin ของผู้ป่วยจำนวน 106 ราย

ข้อบ่งชี้	จำนวน	(ร้อยละ)
Deep vein thrombosis of lower extremities	82	(77.4)
Other sites of venous thrombosis	13	(12.3)
Antiphospholipid syndrome	5	(4.7)
Atrial fibrillation	3	(2.8)
Valvular heart disease	3	(2.8)
รวม	106	(100.0)

ตารางที่ 2 แสดงความถี่ของ polymorphisms ของยีน VKORC1 ในผู้ป่วยโรคเลือด และผู้ป่วย

	จำนวน (ร้อยละ)	
	ผู้ป่วยโรคเลือด	ผู้ป่วย
VKORC1	(n=319)*	(n=106)
GG	17 (5.3)	6 (5.7)
GA	107 (33.6)	33 (31.1)
AA	195 (61.1)	67 (63.2)
CYP2C9	(n =325)*	(n=106)
*1 / *1	298 (91.4)	98 (92.5)
*1 / *3	27 (8.6)	8 (7.5)

*จำนวนที่เข้าร่วมโครงการตรวจ polymorphisms ของยีน CYP2C9 ของผู้ป่วยโรคเลือดในเบื้องต้น มีจำนวน 325 ราย ต่อมาเมื่อมี DNA ที่เหลือสามารถตรวจได้ในโครงการตรวจ polymorphisms ของยีน VKORC1 จำนวน 319 คน

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ของ polymorphisms ของยีน VKORC 1 กับขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับคิดเป็น มก./สัปดาห์

Polymorphism ของยีน VKORC1 ที่ตำแหน่ง -1639 (n=106)	ขนาดยา warfarin (มก./สัปดาห์)
GG	39.5±21.3
GA	37.6±13.0
AA	24.0±10.2*

* $p<0.001$

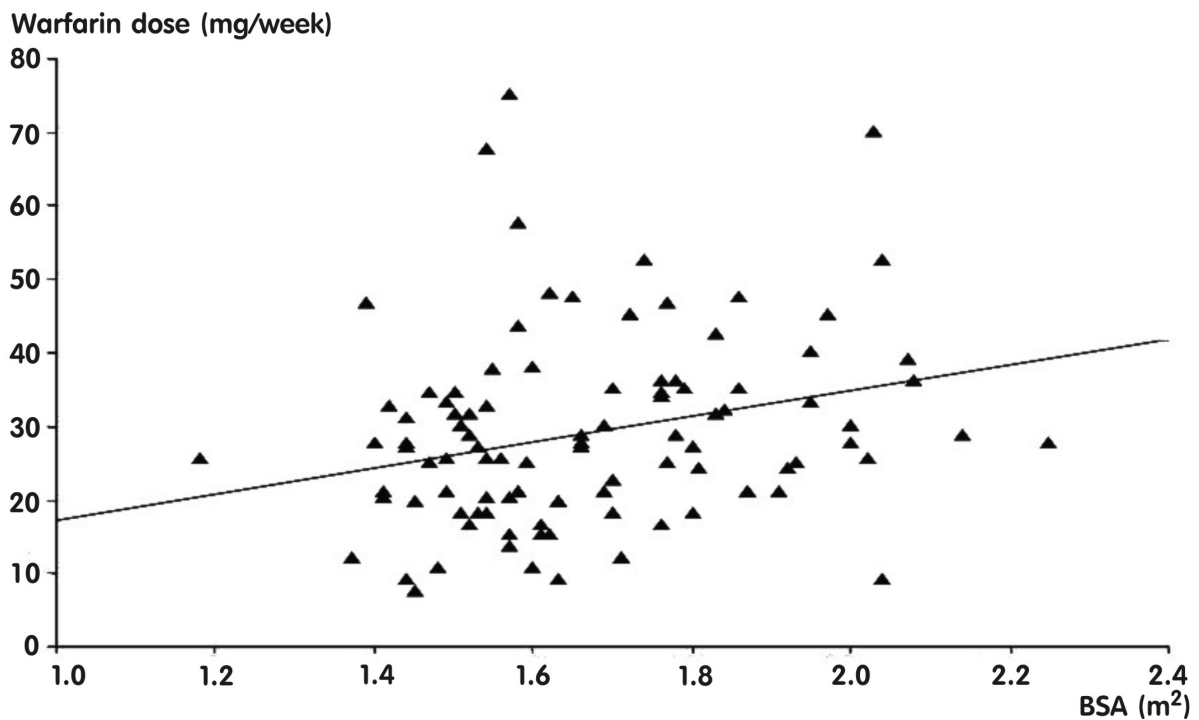
สูงที่มากขึ้นในที่นี้แสดงเป็นพื้นที่พักกายมีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.006$) (รูปที่ 2) และอายุที่มากขึ้นมีค่าเฉลี่ยของขนาดของยาที่ได้รับต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) (รูปที่ 3) ส่วนปัจจัยการสูบบุหรี่ โรคประจำตัวของผู้ป่วยพบว่าไม่มีผลต่อขนาดของยาที่ผู้ป่วยได้รับ ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบปัจจัยทั้งหมดกับความต้องการยา warfarin จึงพบว่าปัจจัยที่มีผลต่อขนาดของยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับคือ polymorphisms ของ VKORC1 gene โดยชนิด AA ซึ่งพบบ่อยในคนไทยมีความต้องการยาน้อยกว่าชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ร่วมกับปัจจัยทางด้านอายุและพื้นที่พักกาย

วิจารณ์

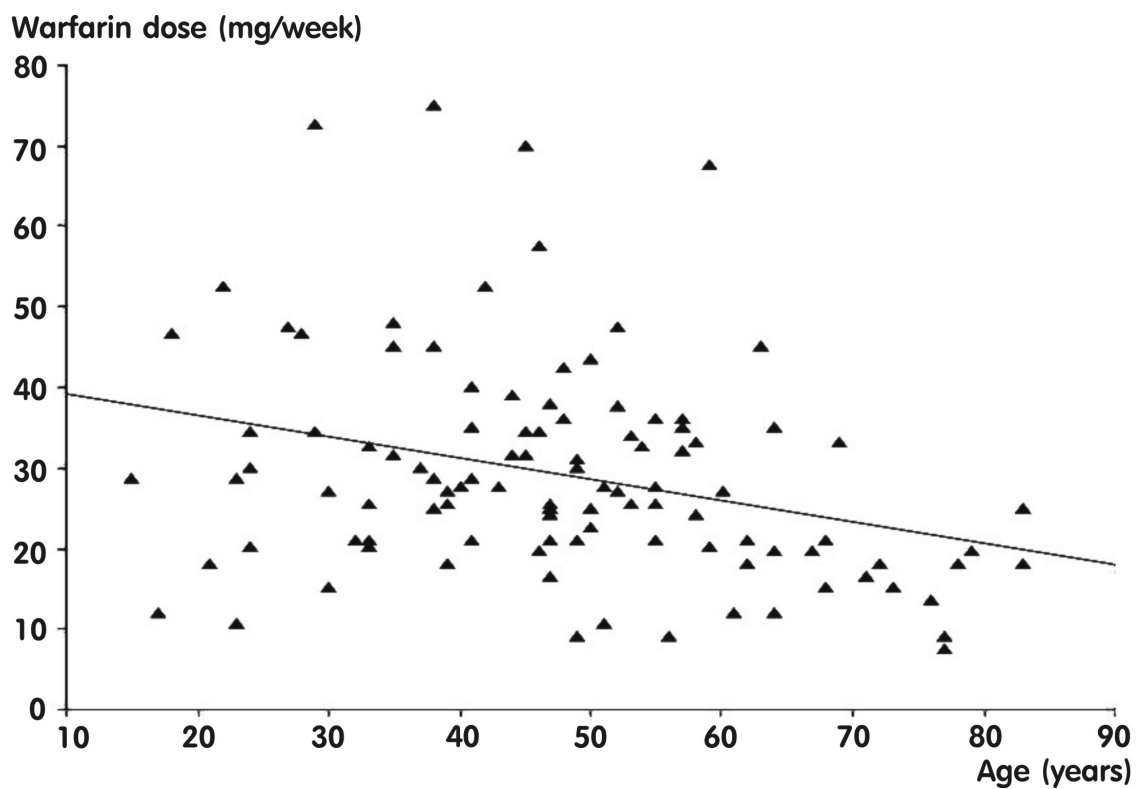
Warfarin เป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือดที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย จากการศึกษที่ผ่านมาพบว่าการตอบสนองของยา warfarin ที่แตกต่างกันในแต่ละคนขึ้นกับหลายปัจจัย และปัจจัยทางพันธุกรรมที่มีการศึกษามีความเกี่ยวข้องกับขบวนการเมตาบอลิซึม คือ polymorphisms ของ CYP2C9 ที่แตกต่างกัน ทำให้ผู้ป่วยมีความกำจัดยาออกจากร่างกายได้แตกต่างกัน โดยพบว่า CYP2C9*1*1 หรือ wild type มีแนวโน้มของการใช้ยาใน

ขนาดที่มากกว่า polymorphisms ชนิดอื่นๆ และ VKORC1 polymorphisms เป็นปัจจัยทางพันธุกรรมที่สำคัญที่มีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน โดยการศึกษาของ Yaun และคณะ ในปี พ.ศ. 2548 พบว่า polymorphism ของประชากรจีนที่พบบ่อยคือตำแหน่ง -1639 นิวคลีโอไทด์ G เปลี่ยนเป็น A ต้องการยา warfarin ในขนาดที่ต่ำกว่า polymorphisms ชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ¹⁴

การศึกษานี้พบว่า ความถี่ของ polymorphism ของยีน VKORC1 ที่ตำแหน่ง -1639 ในประชากรไทยส่วนใหญ่เป็นชนิด AA ซึ่งพบว่าไม่แตกต่างจากชาวเอเชียในประเทศอื่น แต่แตกต่างจากชาวตะวันตก และเมื่อศึกษาความสัมพันธ์ของขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับกับชนิด polymorphisms ของ VKORC1 พบว่า polymorphism ชนิด AA ซึ่งพบเป็นส่วนใหญ่ในคนไทยมีความต้องการขนาดยาน้อยกว่าชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่า polymorphisms ของยีน VKORC1 มีความสำคัญต่อเมตาบอลิซึมของยา warfarin มากกว่า CYP2C9 นอกจากนี้ยังพบว่าผู้ป่วยที่มีอายุน้อย มีแนวโน้มต้องการยา warfarin ต่ำกว่าผู้ป่วยที่มีอายุมาก ซึ่งอธิบายได้จากปริมาณอัลบูมินในพลาสมาที่ลดลงในผู้ป่วยอายุมาก ทำให้ปริมาณอัลบูมินที่จะจับกับ warfarin ลดลง จึงเหลือยา warfarin ที่ไม่จับกับโปรตีน



รูปที่ 2 ความสัมพันธ์ของขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับคิดเป็น มก./ สัปดาห์ เทียบกับพื้นที่พิกกายพบว่าพื้นที่พิกกายที่เพิ่มขึ้นมีความต้องการยาในขนาดมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.006$, $R = 0.267$)



รูปที่ 3 ความสัมพันธ์ของขนาดยา warfarin ที่ผู้ป่วยได้รับคิดเป็น มก./ สัปดาห์ เทียบกับอายุพบว่าอายุที่เพิ่มขึ้นมีความต้องการยาในขนาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$, $R = 0.307$)

มีปริมาณมากขึ้น ยาจึงออกฤทธิ์ได้มากขึ้น ส่งผลให้มีความไวในการตอบสนองต่อยาเพิ่มมากขึ้น

ดังนั้นผู้ป่วยที่ต้องการใช้ยา warfarin ควรได้รับการตรวจสอบพันธุกรรมของ polymorphism ของยีน VKORC 1 ตำแหน่ง -1639 เป็นตำแหน่งแรกและอาจตรวจ polymorphism ของยีน CYP2C9 เพิ่มเติม เป็นข้อมูลพื้นฐานรายบุคคลในการปรับขนาดยา warfarin เพื่อลดภาวะแทรกซ้อนจากการใช้ยา warfarin

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศาสตราจารย์พิมพรรณ กิจพ้อคำ หัวหน้าคลังเลือด ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างเลือดจากผู้บริจาคเลือด คุณอุมาพร อุดมทรัพย์ากร นักสถิติ แพทย์ พยาบาล บุคลากรทางการแพทย์ในคณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ให้การดูแลผู้ป่วย และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยแห่งชาติ ในส่วนเมธีวิจัยอาวุโส ศาสตราจารย์แพทย์หญิงอำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ ประจำปี พ.ศ. 2549

เอกสารอ้างอิง

- Landefeld CS, Beyth RJ. Anticoagulant-related bleeding: clinical epidemiology, prediction, and prevention. *Am J Med* 1993;95:315-28.
- Gan GG, Teh A, Goh KY, Chong HT, Pang KW. Racial background is a determinant factor in the maintenance dosage of warfarin. *Int J Hematol* 2003;78:84-6.
- Dang MT, Hambleton J, Kayser SR. The influence of ethnicity on warfarin dosage requirement. *Ann Pharmacother* 2005;39:1008-12.
- Kamali F. Genetic influences on the response to warfarin. *Curr Opin Hematol* 2006;13:357-61.
- Aithal GP, Day CP, Kesteven PIL, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 (CYP) 2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding. *Lancet* 1999;353:717-9.
- Freeman BD, Zehnbauser BA, MaGrath S, Borecki I, Buchman TG. Cytochrome P450 polymorphisms are associated with reduced warfarin dose. *Surgery* 2000;128:281-5.
- Busakornrungrat S, Chaunsumrit A, Angchaisuksiri P, Sasanakul W, Kadekasem P. Frequencies of Polymorphism Associated with Cytochrome P450 2C9 in Thais. *Thai J Hematol Transf Med* 2006;16:213-20.
- D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P, et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an inter-individual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood* 2005;105:645-9.
- Geisen C, Waltzka M, Sittlinger K, et al. VKORC1 haplotype and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost.* 2005;94:773-9.
- Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A, Stafford DW. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 2004;427:541-4.
- Veenstra DL, You JH, Rieder MJ, et al. Association of vitamin K epoxide reductase complex 1 (VKORC1) variant with warfarin dose in a Hong Kong Chinese patient population. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:687-91.
- Loebstein R, Dvoskin I, Halkin H, et al. A coding VKORC1 Asp36Tyr polymorphism predispose to warfarin resistance. *Blood* 2007;109:2477-80.
- Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005;352:2285-93.
- Yaun HY, Chen JJ, Lee MT, et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphisms associated with inter-individual and inter-ethnic difference in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1745-51.
- Osman A, Enstrom C, Tomas L. Plasma S/R ratio of warfarin co-varies with VKORC1 haplotype. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007;18:293-6.

Frequency of Polymorphisms Associated with VKORC1 Gene in Thai Blood Donors and Patients Receiving Warfarin

Sumonmaln Klamchuen, Ampaiwan Chuansumrit, Pantep Angchaisuksiri* and Werasak Sasanakul

Departments of Pediatrics; *Departments of Medicine, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand.

Abstract : Warfarin, an oral anticoagulant, is commonly complicated by the unpredictable dose response. Genetic predisposing factors, gender, age and weight affect the patient's response individually. This study aimed at determining the frequency of polymorphisms of vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (VKORC1) among 319 Thai blood donors and 106 patients receiving warfarin, and functional effects of VKORC 1 polymorphisms in responsible for warfarin dosage. The results revealed that the frequencies of polymorphisms at -1639 of VKORC 1 among blood donors and patients were similar: AA (61.1% vs. 63.2%), GA (33.6% vs. 31.1%) and GG (5.3% vs. 5.7%). Patients with homozygous AA required significantly lower warfarin doses (24.0 ± 10.2 mg/week) compared to those with GG (39.5 ± 21.3 mg/week) and GA (37.6 ± 13.0 mg/week) with the p values of <0.001 . The body surface area was proportional to the warfarin dose with a p value of 0.006 while the increasing age was inversely associated with the warfarin dose with a p value of <0.001 . Comparison among various factors to the warfarin dose revealed that polymorphisms of VKORC1 had the strongest effect on the warfarin dose requirement. Patients with AA polymorphisms commonly found in Thai population required lowest warfarin doses.

Key Words : ● Warfarin ● VKORC1 ● Single nucleotide polymorphism ● Thai

J Hematol Transf Med 2008;18:307-13.

