

**А. И. Шевела, Г. И. Лифшиц, Я. В. Новикова, К. С. Севостьянова**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
просп. Академика Лаврентьева, 8, Новосибирск, 630090, Россия

Центр новых медицинских технологий в Академгородке  
ул. Пирогова, 25/4, Новосибирск, 630090, Россия  
E-mail: yandoc@mail.ru

## **АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ: МОЖНО ЛИ ИЗБЕЖАТЬ КАТАСТРОФЫ?**

Прием непрямых антикоагулянтов зачастую осложняется геморрагическими проявлениями, вплоть до фатальных. Именно поэтому клиницисты стараются избегать назначения препаратов этой группы, несмотря на их неоспоримую эффективность. В работе проведено исследование генов, ответственных за метаболизм лекарственных препаратов. Доказано, что применение антикоагулянтной терапии позволяет значительно снизить риск кровотечений, индивидуализировать подбор дозы варфарина и оптимизировать процесс лечения пациентов с венозными тромбозами и тромбоемболиями.

*Ключевые слова:* антикоагулянтная терапия, полиморфизм генов, варфарин.

Медицина сегодня переходит от состояния, основой целью которого являлась борьба с развившимся патологическим процессом, осложнениями лекарственной терапии, к превентивной, профилактической практике. В этих условиях проблема безопасности и максимальной эффективности, персонализированного медикаментозного воздействия становится актуальной [1; 2]. Уже сейчас необходимость подобного подхода востребована при проведении антикоагулянтной терапии у пациентов с венозными тромбозами, последствиями венозных и артериальных тромбоемболий. Геморрагические осложнения, развивающиеся на фоне приема непрямых антикоагулянтов, являются одной из наиболее серьезных причин, по которым представители этой группы лекарственных средств, в первую очередь варфарин, не нашли широкого применения в России. Ситуация усугубляется необходимостью длительного, иногда пожизненного применения этих средств.

Неудивительно что, несмотря на стремление клиницистов учесть все внешние факторы, влияющие на метаболизм этих препаратов, осложнения антикоагулянтной терапии, прежде всего кровотечения разной степени выраженности, развиваются в 10–16 % случаев. Показано, что фатальные геморрагии отмечаются у 2 % пациентов,

принимавших варфарин [3].

Для снижения риска развития осложненной антикоагулянтной терапии необходимо максимально индивидуализировать подходы к дозированию препарата и длительности его приема. Рекомендации, которые существуют на сегодняшний день, учитывают возраст, массу тела, характер патологического процесса, сопутствующие заболевания, прием дополнительных препаратов, оставляя без внимания особенности метаболизма медикамента как химического соединения в конкретной биологической системе, которой является организм человека [4]. Характер метаболизма лекарственных средств, особенности фармакокинетики и фармакодинамики в конкретном организме являются генетически детерминированными. Исследуя гены, кодирующие звенья, составляющие путь биотрансформации препарата, можно определить возможность применения медикамента, его дозировку, длительность приема, сочетаемость с другими лекарственными средствами [5; 6].

Варфарин имеет несколько направлений биотрансформации, что связано с его неоднородной химической структурой. Он представляет собой соединение двух энантиомеров: S- и R-варфарина. S-варфарин в 3–5 раз более активен; именно он обуславливает 60–70 % всей антикоагулянтной активно-

сти препарата [5]. Основными ферментами, участвующими в процессе метаболизма варфарина, являются печеночные микросомальные цитохромы системы P450 (CYP), а именно CYP2C9 – для S-варфарина, и CYP2C19, CYP3A4 и CYP1A2 – для правовращающего изомера препарата [5–8]. Кроме того, индивидуальная чувствительность к варфарину зависит и от витамин К-эпоксидредуктазного комплекса (VKORC1), представляющего собой небольшой трансмембранный белок, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов. Витамин К, в свою очередь, является кофактором карбоксилирования витамин К-зависимых белков (факторы свертывания II, VII, IX и X), в результате чего происходит их активация. Непрямые антикоагулянты реализуют свой основной фармакологический эффект посредством нарушения цикла превращения витамина К, результатом чего становится продукция печени частично карбоксилированных и декарбоксилированных белков со сниженной прокоагулянтной активностью, так называемые PIVKA-факторы (Proteins in Vitamin K Absence) [9–11].

Генетические изменения, характеризующие состояние рассматриваемых ферментов, сводятся к структурному полиморфизму генов, т. е. к замене одного нуклеотида на другой в аминокислотных последовательностях. В настоящее время известно 6 полиморфных вариантов генов, кодирующих CYP2C9. Наиболее распространенным в популяции является так называемый «дикий» тип, первый аллельный вариант CYP2C9\*1. При таком генотипе скорость метаболизма варфарина стандартна. Обладателей подобного генотипа принято называть «распространенными» метаболиторами.

В отличие от них носители других вариантов полиморфизмов, по второму и третьему аллелю – R144C (CYP2C9\*2) и I359L (CYP2C9\*3), являются «медленными» метаболиторами. Это связано со снижением активности цитохрома, при гомозиготных вариантах до 90 %, что приводит к замедлению элиминации варфарина из организма, повышению его концентрации в плазме крови. Именно у носителей такого генотипа риск развития геморрагических осложне-

ний, связанных с приемом непрямых антикоагулянтов, наиболее велик [5; 6; 9; 12; 13].

Структурные изменения гена VKORC1 разнообразны: известно 10 полиморфных вариантов. Чаще всего проводят изучение изменений на участке, расположенном в промотерной зоне гена, в положении +1173 С/Т. При этом гомозиготный вариант С/С является «диким» типом. При наличии гетерозиготного варианта С/Т, а тем более гомозиготного варианта Т/Т, происходит снижение экспрессии гена, что проявляется уменьшением содержания VKORC1 в гепатоцитах, что также требует корреляционного изменения дозы варфарина в сторону уменьшения [5; 7; 10; 11].

В Институте химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН начато проведение исследования по выявлению частоты встречаемости полиморфных вариантов генов метаболизма варфарина у жителей Западной Сибири на примере г. Новосибирска с целью разработки персонализированных рекомендаций по проведению антикоагулянтной терапии.

### Материал и методы

В работе проведено молекулярно-генетическое определение аллельных вариантов генов CYP2C9 и VKORC1 на основе полимеразной цепной реакции и рестрикционного анализа – ПЦР/ПДРФ.

Обследован 121 пациент с различными видами патологии вен нижних конечностей. Женщин было 79, мужчин – 42 человека. Средний возраст составил 47,7 лет. В качестве материала для исследования использовалась цельная венозная кровь.

### Результаты исследования и обсуждение

Частота встречаемости различных полиморфных вариантов цитохрома 2C9 была распределена у обследованных пациентов следующим образом. Полиморфный вариант С/С в CYP2C9\*2 (R144C) выявлен у 76 (63 %) пациентов. Гетерозиготный вариант CYP2C9\*2 С/Т определен у 45 (37 %) человек.

Что касается третьего аллеля, то большая (98,4 %) часть пациентов имела генотип

CYP2C9\*3 (I359L) A / A. Только два пациента (1,6 %) были носителями гетерозиготного полиморфизма CYP2C9\*3 A / C. Гомозиготных носителей CYP2C9\*2 T / T и CYP2C9\*3 C / C среди обследованных пациентов не выявлено.

Иная картина установлена в характере распределения полиморфных вариантов гена витамин К-эпоксид редуктазного комплекса. Чаще всего выявлялся гетерозиготный вариант гена VKORC1 (+1173 C / T) C / T: у 60 пациентов (49,6 %). Носителями гомозиготного варианта VKORC1 T / T были 15 лиц (12,4 %), «дикий» тип диагностирован только у 46 человек (38,0 %).

Таким образом, наиболее часто встречаемые варианты генотипа у жителей г. Новосибирска следующие: CYP2C9\*2 (R144C) – C / C, CYP2C9\*3 (I359L) – A / A, VKORC1 (+1173 C / T) – C / T. Полученные результаты соответствуют данным исследователей из Университета штата Юта, США [14]. В этой работе было показано, что вариант CYP2C9\*2/\*3 CC / AA («дикий тип») обнаруживался в 71,4 % случаев, CT / AA – в 18,3, CC / AC – в 9,4, CT / AC – в 1 %. Различные варианты VKORC1 были распределены следующим образом: C / C («дикий тип») – у 36,6, гетерозиготный вариант полиморфизма C / T – у 50,7 и гомозиготный T / T – у 12,7 % человек.

Результаты европейских исследований, а также сведения по Юго-Восточной Азии отличаются от представленных данных [14]. Результат европейских генетиков выглядит следующим образом: гетерозиготный вариант VKORC1 C / T обнаружен у 42 % белых европейцев, в 95 % случаев у китайцев, проживающих в Германии, и у 14 % афроамериканцев, проживающих в Европе. «Медленные» полиморфные варианты CYP2C9 в европейской популяции наблюдались примерно в 1 %, у представителей африканской и в азиатской популяций – менее 0,1 % случаев [6; 8; 15].

Российских исследований по частоте встречаемости полиморфных вариантов витамин К-эпоксид редуктазного комплекса в доступной литературе обнаружить не удалось. Распространенность мутантных аллелей CYP2C9 (на примере жителей Северо-Западного региона России) представлена таким образом: CYP2C9\*1, «дикий тип» –

у 82,66, CYP2C9\*2 – у 11,11, CYP2C9\*3 – у 6,32 % лиц, что соответствует частотам аллельных вариантов цитохрома 2C9 в европейских популяциях [12; 13].

Таким образом, учитывая частую встречаемость VKORC1 C / T и CYP2C9\*2 C / T, «медленных» полиморфных вариантов генов метаболизма варфарина в новосибирской популяции, необходимо снижение стандартных дозировок уже в период индукции, т. е. во время подбора дозы препарата. Кроме того, принимая во внимание высокую вероятность сочетания нескольких полиморфизмов в гене цитохрома 2C9 и VKORC1, следует констатировать реальный риск развития геморрагических осложнений на фоне антикоагулянтной терапии у жителей Новосибирска.

### Заключение

Генетическое исследование является простым и эффективным методом для выявления индивидуальных особенностей метаболизма лекарственных препаратов, в частности непрямым антикоагулянтов. В популяции Новосибирска носители «медленных» полиморфных вариантов генов метаболизма варфарина встречаются почти в половине случаев, что может свидетельствовать о высоком риске кровотечений на фоне антикоагулянтной терапии. Проведение генотипирования перед началом лечения варфарином поможет ускорить время подбора дозы, снизить количество геморрагических осложнений.

### Список литературы

1. *Jorgensen J. T.* From blockbuster medicine to personalized medicine // *Personalized Medicine*. 2008. Vol. 5, № 1. P. 55–63.
2. *Yoediono Z., Snyderman R.* Proposal for a new health record to support personalized, predictive, preventative and participatory medicine // *Personalized Medicine*. 2008. Vol. 5, № 1. P. 47–54.
3. *Wysowski D. K. et al.* Bleeding complications with warfarin use: a prevalent adverse effect resulting in regulatory action / D. K. Wysowski, P. Nourjah, L. Swartz // *Arch. Intern. Med*. 2007. Vol. 167. P. 1414–1419.

4. Сычев Д. А. Лечить не болезнь, а больного, или фармакогенетика в действии // Вестник Московского городского научного общества терапевтов. 2007. № 14. С. 15–21.
5. Gardiner S. J., Begg E. J. Pharmacogenetics, drug-metabolizing enzymes and clinical practice // *Pharmacol. Rev.* 2006. Vol. 58. P. 521–590.
6. Lorient M.-A., Beaune P. Pharmacogenetics of oral anticoagulants: the opportunity for individualized drug treatment of greater safety // *Personalized Medicine*. 2007. Vol. 4, № 4. P. 413–421.
7. *Individualizing warfarin therapy* / K. K. Reynolds, R. Valdes, B. R. Hartung et al. // *Personalized Medicine*. 2007. Vol. 4, № 1. P. 11–31.
8. Vadelius M. et al. Association of warfarin dose with genes involved in its action and metabolism / M. Vadelius, L. Y. Chen, N. Ericson // *Hum. Genet.* 2007. Vol. 121. P. 23–34.
9. Krynetskyi E., McDonnell P. Building individualized medicine: prevention of adverse reactions to warfarin therapy // *JPET*. 2007. № 5. P. 117–121.
10. Crawford D. C. et al. Identifying the genotype behind the phenotype: a role model found in VKORC1 and its association with warfarin dosing / D. C. Crawford, M. D. Ritchie, M. J. Rieder // *Summary Pharmacogenomics*. 2007. Vol. 8, № 5. P. 487–496.
11. *A polymorphism in the VKORC1 gene associated with interindividual variability in the dose anticoagulant effect of warfarin* / G. D'Andrea, R. L. D'Ambrosio, P. Di Perna et al. // *Blood*. 2005. Vol. 105. P. 645–649.
12. Аллельные варианты CYP2C9\*2 и CYP2C9\*3 гена цитохрома CYP2C9 в популяции Санкт-Петербурга и их клиническое значение при антикоагулянтной терапии варфарином / О. В. Сироткина, А. С. Улитина, А. Е. Тараскина и др. // *Рос. кардиол. журн.* 2004. № 6. С. 24–31.
13. *Определение индивидуальной чувствительности к варфарину методом молекулярно-генетического анализа гена цитохрома P450 2C9* / О. В. Сироткина, Т. В. Вавилова, М. И. Кадинская и др. СПб., 2006.
14. *Genotypes of the cytochrome P450 isoform, CYP2C9 and the vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 conjointly determine stable warfarin dose: a prospective study* / J. F. Carquist, B. D. Horne, J. B. Muhlstein et al. // *J. Thromb. Trombolysis*. 2006. Vol. 22, № 3. P. 458–462.
15. *VKORC1 haplotypes and their impact on the inter-individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation* / C. Geisen, M. Watzka, K. Sittlinger et al. // *Thromb. Haemost.* 2005. Vol. 94, № 4. P. 773–779.

Материал поступил в редколлегию 25.02.2008

**A. I. Shevela, G. I. Lifshits, Ya. V. Novikova, K. S. Sevostyanova**

#### **Anticoagulant Therapy: Is it Avoided the Disaster?**

Intake of indirect anticoagulant drugs often causes bleedings, sometimes grave ones. Therefore the doctors do not prescribe medications of this group, in spite on the fact that they are very effective. Examination of drugs metabolism genes allow to decrease risk of the haemorrhage, personalize the selection of the warfarin dose and optimize the treatment of venous thrombosis.

*Keywords:* polymorphism, warfarin, cytochrom P450, vitamin K epoxide reductase complex.