

УДК 616.151.511-056.7

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ В ПРОФИЛАКТИКЕ ПОВТОРНЫХ ТРОМБОЗОВ

¹Цветовская Г.А., ¹Чикова Е.Д., ²Кох Н.В., ¹Лифшиц Г.И.,
¹Морозов В.В., ²Новикова Я.В.

¹*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН;*
²*АНО «Центр новых медицинских технологий», Новосибирск, e-mail: cvetgalina@mail.ru*

В последние годы отмечается большая распространенность тромботических заболеваний – ишемических нарушений мозгового и коронарного кровообращения, тромботических заболеваний венозной системы. Актуальными для современной медицины являются вопросы, связанные с профилактикой, диагностикой, лечением тромботических состояний. С целью разработки тактики дифференцированного подхода к антикоагулянтной терапии пациентов с тромбозами различной локализации, проживающих в Западно-Сибирском регионе, изучалась распространенность генетического полиморфизма изофермента цитохрома Р-450 2С9 (СYP2С9), а также генов VKORC1, СYP4F2 у пациентов с тромбозами различной локализации, проживающих в этом регионе. Использование данных фармакогенетического тестирования позволяло определить тактику дозирования варфарина, поскольку давало возможность выявлять пациентов с различным типом метаболизма – «медленных метаболизёров», т.е. тех, кому для эффективного действия препарата и достижения рекомендуемого показателя МНО требуется доза ниже средней или, напротив, «быстрых метаболизёров», тех кому доза варфарина должна быть увеличена. Показана значимость фармакогенетического тестирования при разработке тактики дифференцированного подхода к антикоагулянтной терапии пациентов, поскольку такой подход значительно сокращал время подбора дозы антикоагулянта – варфарина и снижал риск развития геморрагических осложнений.

Ключевые слова: тромбозы, фармакогенетическое тестирование, подбор дозы АНД варфарина

MODERN METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS IN PREVENTION OF RECURRENT THROMBOSIS

¹Tsvetovskajay G.A., ¹Chikova E.D., ²Kokh N.V., ¹Lifshits G.I.,
¹Morozov V.V., ²Novikova Y.V.

¹*Institute of chemical biology and fundamental medicine, Novosibirsk;*
²*Center of new medical technology, Novosibirsk, e-mail: cvetgalina@mail.ru*

In recent years big prevalence of thromboticheskyy diseases – ischemic violations of brain and coronary blood circulation, thromboticheskyy diseases of venous system is noted. For modern medicine the questions connected with prevention, diagnostics, treatment of thromboticheskyy conditions are actual. For the purpose of development of tactics of the differentiated approach to antikoagulyantny therapy of patients with thromboses of the various localization, living in the West Siberian region prevalence of genetic polymorphism of an isoenzyme of R-450 cytochrome 2C9 (CYP2C9), and also genes of VKORC1, CYP4F2 at patients of c by thromboses of the various localization, living in this region was studied. Use of data of farmakogeneticheskyy testing allowed to define dispensing tactics варфарина as gave the chance to reveal patients with various type of a metabolism – «slow», i.e. that who for effective action of a preparation and achievement of a recommended indicator of MNO needs a dose below average or, on the contrary, «fast» that to whom the dose варфарина should be increased. The importance of farmakogeneticheskyy testing is shown when developing tactics of the differentiated approach to antikoagulyantny therapy of patients as such approach considerably reduced time of selection of a dose of anticoagulant – варфарина and reduced risk of development of hemorrhagic complications.

Keywords: thrombosis, pharmacogenetic testing, warfarin dosing

Одной из самых распространенных причин заболеваемости и смертности в развитых странах является развитие тромбозов различной природы и локализации. В течение года после первого эпизода болезни достаточно велик риск повторения тромбоза, поэтому с учетом различных факторов пациентам назначают прием антикоагулянтов непрямого действия (АНД) на срок от 2 до 12 месяцев, а в ряде случаев и пожизненно. На сегодняшний день как в России, так и за рубежом с этой целью в большинстве случаев используется АНД – варфарин. Основным препятствием для достижения эффективности и безопасности терапии

варфарином в сегодняшней практике является низкое качество управления дозой препарата. В 50% случаев вариабельность терапевтической дозы варфарина зависит от генетически детерминированной чувствительности к препарату – от полиморфного варианта генов, кодирующих ферменты, которые участвуют в метаболизме варфарина в печени [1, 2, 3, 6].

Цель работы – показать значимость данных генетического тестирования в разработке тактики дифференцированного подхода к антикоагулянтной терапии пациентов с тромбозами различной локализации, проживающих в Западно-Сибирском регионе.

Материал и методы исследования

Для анализа молекулярно-генетических факторов, влияющих на индивидуальную чувствительность к варфарину, нами обследованы 127 пациентов в возрасте от 21 года до 65 лет с тромбозами различной локализации, наблюдавшихся в клиническом отделе Центра новых медицинских технологий ИХБФМ СО РАН. Из общего числа наблюдавшихся 17 человек перенесли ишемический инсульт (13%) и у 4-х из них инсульт диагностирован повторно. С ТЭЛА наблюдалось 11 больных и трое из них с повторными эпизодами эмболии. Всем пациентам был показан прием АНД – варфарина. Больным проводилось генотипирование локусов C + 1173T VKORC1, CYP2C9*2 CYP2C9*3. Диагностика полиморфного локуса в гене CYP4F2 выполнена для 87 пациентов. ДНК выделяли из венозной крови фенол-хлороформной экстракцией. Полиморфные варианты генов VKORC1, CYP4F2 и CYP2C9 определяли методом ПЦР-ПДРФ (полимеразной цепной реакции с последующим изучением полиморфизма длин рестрикционных фрагментов).

С целью поддержания необходимого уровня гипокоагуляции больным неоднократно выполнялся контроль показателя международного нормализованного отношения (МНО) и протромбинового времени с использованием диагностических наборов Tromborel S (Германия).

15 пациентам начальную индивидуальную дозу варфарина в соответствии с результатами фармакогенетического тестирования и клиническими данными рассчитывали с помощью модуля «Фармакогенетика» российской программы «PharmSuite» (программа на сайте <http://pharmsuite.ru>). Остальной дозу подбирали стандартным методом. Подобранной считалась

терапевтическая доза, при которой МНО находилось в пределах от 2 до 3.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Результаты исследования и их обсуждение

Получены достоверные различия средних ежедневных доз варфарина в зависимости от генотипа VKORC1. Для пациентов с генотипом C/C средняя доза препарата составила $7,1 \pm 2,3$ мг, при этом частота встречаемости C/C составила 43% от общего числа обследованных, частота C/T выявлена в 46,6% случаев, и средняя доза при этом генотипе составила $4,8 \pm 0,9$ мг ($p_{(C/C-C/T)} = 5 \cdot 10^{-6}$). Генотип T/T для VKORC1 + 1173T(rs 9934438) обнаружен у 11% обследованных, средняя рекомендуемая доза для пациентов с данным генотипом – $2,9 \pm 0,7$ мг ($p_{(C/T-T/T)} = 0,005$, $p_{(C/C-T/T)} = 10^{-6}$). Значительно влиять на чувствительность пациента к варфарину может изменение в активности цитохрома CYP2C9 – основного катализатора метаболизма оральных антикоагулянтов (варфарина, аценокумарола) [4, 7]. В нашем исследовании вариант гена CYP2C9*1/*1 был обнаружен у 74% пациентов, CYP2C9*1/2* – у 18%, CYP2C9*2/2* – в 1% и генотип CYP2C9*1/3* – в 7% случаев. Пациенты с генотипами CYP2C9*2/3* и CYP2C9*3/3* в нашем исследовании не выявлены.

Частоты встречаемости аллелей и генотипов исследуемых полиморфных локусов в выборке жителей Западно-Сибирского региона

Полиморфный локус	Аллели, n (%)		Генотипы, n (%)			Соответствие равновесию Харди-Вайнберга, p^*
	C(*1)	T(*2)	C/C	C/T	T/T	
CYP2C9*2	229 (90)	25 (10)	103 (81)	23 (18)	1 (1)	0.82
CYP2C9*3	245 (96)	9 (4)	118 (93)	9 (7)	0	0.68
VKORC1 rs9934438	C	T	C/C	C/T	T/T	0.82
	168 (66)	72 (34)	55 (43)	58 (46)	14 (11)	
CYP 4F2 rs2108622	G	A	G/G	G/A	A/A	0.69
	135 (67)	39 (33)	53 (61)	29 (33)	5 (6)	

Примечание. * – критерий согласия χ^2 Пирсона.

Нами не было получено достоверных различий подобранной дозы варфарина в зависимости от генотипа CYP2C9. В то же время с учетом генотипа VKORC1 при носительстве аллелей CYP2C9*2 и CYP2C9*3 наблюдалась тенденция к уменьшению средней суточной дозы. Как правило, для подбора дозы варфарина у пациентов с данными генетического тестирования требовалось 5 дней. В группе пациентов, которым начальную индивидуальную дозу варфарина подобрали в соответствии с результа-

тами фармакогенетического тестирования, осложнений не выявлено (наблюдали от 6 мес. до года).

Определенные трудности при подборе дозы варфарина были отмечены у двух пациентов, лечение которых проводилось стандартными дозами (5 мг) антикоагулянта и поступивших для обследования после развития геморрагических осложнений. Оба пациента имели алкогольную зависимость и характеризовались медленным типом метаболизма варфарина, обуслов-

ленным носительством варианта *1/*3 гена CYP2C9 и VKORC1 – генотип C/C. Скорость метаболизма варфарина у таких пациентов, как правило, снижена, что в сочетании с алкоголем, который усиливает действие антикоагулянта, повышает риск кровотечений. Для оптимального терапевтического эффекта этим пациентам были даны рекомендации снизить дозы варфарина до 3,75 мг и во избежание геморрагических осложнений осуществлять более частый контроль МНО.

Заключение

Использование данных фармакогенетического тестирования позволяют врачу определить тактику дозирования варфарина, поскольку выявляют пациентов с различным типом метаболизма – «медленных метаболизёров», т.е. тех, кому для эффективного действия препарата и достижения рекомендуемого показателя МНО требуется доза ниже средней или, напротив, «быстрых метаболизёров», тех, кому доза варфарина должна быть увеличена. Такой подход в сочетании с регулярным определением величины МНО давал возможность значительно ускорить подбор адекватной дозы варфарина и избежать возможных геморрагических осложнений. Получение данных о структурных изменениях в генах, кодирующих различные звенья сложной системы гемостаза (тромбоцитарное, сосудистое, плазменное, фибринолиз), а также фолатного цикла в сочетании с фармакогенетическим тестированием дает возможность выявлять пациентов высокого риска тромбозов и определять сроки длительности лечения АНД, что является значимой составляющей предупреждения тромбозов и купирования повторных эпизодов заболевания.

Работа выполнена в рамках Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН №91 и Федеральной целевой программы 16.512.11.2073.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (ГК16.512.11.2099).

Список литературы

1. Выявление генетических факторов риска развития сердечно-сосудистой патологии в Северо-Западном регионе России / С.Н. Пчелина, О.В. Сироткина, А.М. Шейдина, А.Л. Шварцман // Медицинская генетика. – 2005. – Т. 4. – №6. – С. 256.

2. Клиническая фармакология / Д.А. Сычёв, И.В. Игнатьева, Г.В. Раменская, В.Г. Кукес; под ред. В.Г. Кукеса, Н.П. Бочкова. – М.: GEOTAR-MEDIA, 2007. – 248 с.

3. Brockmoller J. et al. Pharmacogenetic diagnosis of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment // Pharmacogenetics. – 2000. – № 1. – P. 125–51.

4. Gage B.F., Eby C., Johnson J.A., et al, Use of Pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin // Clin Pharmacol Ther. – 2008. – Vol. 84. – P. 362–331

5. Garcia D., Regan S., Crowther M. et al. Warfarin Maintenance Dosing Patterns in Clinical Practice. Implications for Safer Anticoagulation in the Elderly Population // Chest, 2005. – Vol. 127. – P. 2049–2056.

6. King B.P., Khan T.I., Aithal G.P., Kamali F., Daly A.K. Upstream and coding region CYP2C9 polymorphisms: correlation with warfarin dose and metabolism // Pharmacogenetics. – 2004 Dec. – № 14(12). – P. 813–22.

7. Peyvandi F., Spreafico M., Siboni S.M., Moia M. and Mannucci P.M. Cyp2C9 genotypes and dose requirements during the induction phase of oral anticoagulation therapy // Clinical Pharmacology and Therapeutics. – 2004. – № 75(3). – P. 198–203.

References

1. Pchelina S.N., Sirotkina O.V., Sheydina A.M., Shvarzman A.L. Viyavlenie geneticheskikh faktorov riska razvitiya serdечно-sosudistoy patologii v Severo-Zapadnom regione Rossii // Medecinskaya genetika. 2005. T.4. no. 6. pp. 256.

2. Sychev D.A., Ignatieva I.V., Ramenskaja G.V., Kukes V.G. Klinicheskaja Pharmacologia // Pod red. V.G. Kukes, N.P. Bochkova. M.: GEOTAR-MEDIA, 2007. 248p.

3. Brockmoller J/ et al. Pharmacogenetic diagnosis of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment // Pharmacogenetics. 2000:1:125–51.

4. Gage B.F., Eby C., Johnson JA., et al, Use of Pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin.// Clin Pharmacol Ther. 2008. Vol. 84. pp. 362–331

5. Garcia D., Regan S., Crowther M. et al. Warfarin Maintenance Dosing Patterns in Clinical Practice. Implications for Safer Anticoagulation in the Elderly Population // Chest, 2005. Vol. 127. pp. 2049–2056.

6. King B.P., Khan T.I., Aithal G.P., Kamali F., Daly A.K. Upstream and coding region CYP2C9 polymorphisms: correlation with warfarin dose and metabolism // Pharmacogenetics. 2004 Dec; 14(12):813–22.

7. Peyvandi F, Spreafico M, Siboni SM, Moia M and Mannucci PM. Cyp2C9 genotypes and dose requirements during the induction phase of oral anticoagulation therapy // Clinical Pharmacology and Therapeutics 2004; 75(3):198–203.

Рецензенты:

Ломиворотов В.В., д.м.н., профессор, заведующий отделом анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина», г. Новосибирск;

Солдатова Г.С., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней медицинского факультета Новосибирского государственного университета, г. Новосибирск.

Работа поступила в редакцию 10.10.2012.