

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К НЕПРЯМЫМ АНТИКОАГУЛЯНТАМ: ФОКУС НА ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ VKORC1¹ И APOE²

Сычев Д.А., Игнатьев И.В., Кукес В.Г.

Институт клинической фармакологии ФГУ НЦ ЭСМП, Москва

В 20-е годы XX века крупный рогатый скот Англии был поражен неизвестной болезнью, которая проявлялась серьезными кровотечениями после банальных манипуляций (подпилка рогов и кастрация). Оказалось, что причиной этого феномена был корм, в состав которого входил медовый клевер (донник, *Melilotus officinalis*), пораженный плесенью. Кумарины, выделенные из этого корма, обладали выраженным антикоагулянтным действием. Позднее они были получены синтетическим путем, в 60-е годы XX века внедрены в клиническую практику и получили название непрямых антикоагулянтов [9]. В настоящее время непрямые антикоагулянты (варфарин, аценокумарол) зарекомендовали себя как высокоэффективные лекарственные средства (ЛС) для профилактики тромбоэмболических осложнений у больных мерцательной аритмией, у пациентов, перенесших операцию протезирования клапанов сердца, а также как средства вторичной профилактики сердечно-сосудистых эпизодов у больных, перенесших острый коронарный синдром. Все это доказано в многочисленных мультицентровых контролируемых исследованиях [1, 2]. В связи с этим, наметилась тенденция к более широкому применению этой группы ЛС в клинической практике.

Однако, при применении непрямых антикоагулянтов врачи сталкиваются с проблемами. Во-первых, это нежелательные лекарственные реакции (НЛР), чаще всего в виде различных кровотечений, наиболее опасными из которых являются желудочно-кишечные кровотечения и кровоизлияния в мозг. Частота кровотечений при применении непрямых антикоагулянтов составляет, по данным разных авторов, от 10 до 25%. Выявлено множество предрасполагающих факторов к развитию кровотечений, в том числе и генетическая предрасположенность – полиморфизм гена CYP2C9, кодирующего основной фермент биотрансформации непрямых антикоагулянтов (CYP2C9). Детальное изучение этого явления приве-

ло к разработке режимов дозирования непрямых антикоагулянтов в зависимости от генотипа CYP2C9. Применение подобного подхода позволяет снизить частоту кровотечений при применении непрямых антикоагулянтов и является экономически выгодным [3].

Второй проблемой, возникающей при применении непрямых антикоагулянтов, является кумаринорезистентность, т.е. отсутствие антикоагулянтного эффекта при их применении даже в высоких дозах. Впервые это явление было описано в 1968 году [10]. В 1983 году Holt RJ и Freytes CO впервые выдвинули гипотезу о генетической природе кумаринорезистентности [7]. С этого времени кумаринорезистентность рассматривается как один из классических фармакогенетических феноменов [9]. Однако долгое время оставался без ответа вопрос: изменения в каком гене (или генах) приводят к кумаринорезистентности? И только исследования последних двух лет позволили пролить свет на эту проблему.

В настоящее время невосприимчивость к терапии непрямыми антикоагулянтами (или кумаринорезистентность) связывают с полиморфизмом генов, кодирующих компоненты витамин К-эпоксидредуктазного комплекса (VKOR). Изначально были найдены различные аллельные варианты гена *vkor* у крыс, которые обуславливали резистентность этих животных к различным ядам, являющимися производными кумарина (т.н. крысиным ядам – бромодиолону, дифацинону и хлорофацинону). [11] Предполагают, что у человека к возникновению кумаринорезистентности привела мутация гена, кодирующего субъединицу 1 этого комплекса (VKORC1)1 [13].

Harrington et al.(2005) наблюдали 820 пациентов, принимающих варфарин, у 4 из них подобранная суточная доза варфарина составляла 25 мг и более. У 3 пациентов равновесная концентрация варфарина в плазме крови была в пределах терапевтического диапазона (0,7-2,3 мг/л). Один пациент оказался гетеро-

¹ VKORC1 представляет собой небольшой трансмембранный белок, локализованный в эндоплазматическом ретикулуме гепатоцитов, являющийся «мишенью» для непрямых антикоагулянтов.

² APOE- ген, кодирующий аполиipoprotein E (APO-E), локализованный на мембране гепатоцитов и осуществляющий «захват» ими витамина К.

зиготным носителем замены G196>A. Кроме того, у данного пациента выявлена высокая равновесная концентрация варфарина (5,7 мг/л). Эта замена была также выявлена у 2 членов его семьи, которым не назначался данный препарат (авторы не уточняют степень родства). У других пациентов, принимавших варфарин, данная замена найдена не была. Полиморфный маркер G196A представлен заменой в нуклеотидной последовательности гена, кодирующего VKORC1, гуанина на аденин в положении 196, в результате чего происходит замена в аминокислотной последовательности VKORC1 валина на метионин в положении 66 (Val66Met). Авторы предполагают, что у носителей варианта 196A должна наблюдаться высокая активность витамин К-эпоксидредуктазного комплекса, приводящая к кумаринорезистентности [6]. Очевидно, что выявление одного пациента с кумаринорезистентностью, несущего замену G196>A в гене VKORC1, еще не доказывает наличие ассоциации. Поэтому необходимо проведение клинических исследований с участием большего числа больных с кумаринорезистентностью и с изучением фармакокинетики варфарина у этих пациентов.

Однако изменения в гене VKORC1 могут приводить не только к повышению подобранных доз варфарина, но и к понижению их. D'Andrea et al. (2005) изучали влияние более распространенного полиморфного маркера C1173T гена VKORC1 на режим дозирования варфарина у 147 пациентов. Полиморфный маркер C1173T представлен заменой в нуклеотидной последовательности гена VKORC1 цитозина на тимин в положении 1173 в (интрон 1), что приводит к снижению экспрессии. Оказалось, что у пациентов с генотипом CC подобранная доза варфарина составляла 6,2 мг/сутки, у пациентов с СТ генотипом – 4,8 мг/сутки, у пациентов с ТТ генотипом – 3,5 мг/сутки. При этом различия оказались статистически достоверными [4]. Vodin L. et al. (2005) у 222 здоровых добровольцев изучали снижение активности VII фактора свертывания и изменение международного нормализованного отношения (МНО) после однократного приема аценокумарола. Оказалось, что носительство полиморфного маркера -G1639A гена VKORC1, который, как оказалось, всегда ассоциирован с уже упоминавшимся полиморфным маркером C1173T, приводило к более выраженному снижению активности VII фактора свертывания (на 37% и более) и увеличению значения МНО (на 30% и более) после однократного приема аценокумарола [5]. Yuan HY и соавт. (2005) подтвердили наличие ассоциации между носительством полиморфного маркера –

G1639A гена VKORC1 и чувствительности к варфарину пациентов из китайской этнической группы. При этом, было показано, что частота генотипа AA (гомозиготы по полиморфному маркеру -G1639A) у китайцев достоверно выше по сравнению с европейцами (79,7 vs 14,0, $p < 0.0001$). Именно этим обстоятельством авторы объясняют большую чувствительность китайцев к непрямые антикоагулянтам по сравнению с европейцами [14].

Rieder MJ et al. (2005) из 10 замен в промоторной зоне гена VKORC1 выделили 5 главных гаплотипов, которые определяли подобранную дозу варфарина. Авторы разделили эти гаплотипы на две группы: группа низких доз варфарина (группа А, включающая гаплотипы H1 и H2) и группа высоких доз варфарина (группа В, включающая гаплотипы H7, H8 и H9). Так, у пациентов с генотипом AA подобранная доза варфарина составила $2,7 \pm 0,2$ мг/сутки, у пациентов с генотипом АВ – $4,9 \pm 0,2$ мг/сутки, у пациентов с генотипом ВВ – $6,2 \pm 0,3$ мг/сутки ($p < 0.001$). Авторы показали, что у пациентов с генотипом AA наблюдается снижение экспрессии гена VKORC1. При этом происходит снижение содержания VKORC1 в гепатоцитах, что может объяснить более низкие дозы варфарина, необходимые для данной категории пациентов. У пациентов с генотипом ВВ наблюдается обратная ситуация: повышение экспрессии гена VKORC1 приводит к более высокому содержанию VKORC1 в гепатоцитах и, следовательно, этим пациентам необходима более высокая доза варфарина [12].

Следует отметить, что полиморфизм гена VKORC1 является не единственной генетической основой кумаринорезистентности. Полиморфизм гена APOE1 также может определять дозу варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции. Так, Kohnke H. et al. (2005) показали, что у носителей аллеля APOE*E4 наблюдается более интенсивный захват гепатоцитами витамина К, поэтому не удивительно, что таким пациентам требовалась большая доза варфарина для достижения терапевтического уровня гипокоагуляции [8].

Таким образом, изучение полиморфных маркеров генов, изменения в которых могут приводить к кумаринорезистентности (VKORC1 и APOE), а также генов, изменения в которых обуславливают повышенную чувствительность к непрямые антикоагулянтам (те же VKORC1 и APOE, а также CYP2C9) является перспективным подходом, позволяющим индивидуализировать терапию непрямые антикоагулянтами. Это приведет к повышению ее эффективности и безопасности.

Литература

1. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых средств. –М. 2002.
2. Панченко Е.П. Венозные тромбозы в терапевтической клинике. Факторы риска и возможности профилактики//Сердце. 2002, т.1, №4 (4): 177-179.
3. Сычев Д.А., Игнатьев И.В., Стасяк Е.В. и др. Полиморфизм гена CYP2C9: клинико-фармакологические аспекты//Медицинская генетика. 2005, №3: 98-102.
4. D'Andrea G, D'Ambrosio RL, Di Perna P et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin// Blood. 2005 Jan 15;105(2):645-9.
5. Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA et al. Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity//Blood. 2005 Jul 1;106(1):135-40.
6. Harrington DJ, Underwood S et al. Pharmacodynamic resistance to warfarin associated with a Val66Met substitution in vitamin K epoxide reductase complex subunit 1//Thromb. Haemost. 2005 Jan;93(1):23-6.
7. Holt RJ, Freytes CO. Familial warfarin resistance//Drug Intell. Clin. Pharm. 1983 Apr;17(4):281-3.
8. Kohnke H, Sorlin K, Granath G et al. Warfarin dose related to apolipoprotein E (APOE) genotype//Eur. J. Clin. Pharmacol. 2005 Jun 11.
9. Laurence DR, Bennet PN. Clinical pharmacology. Churchill, Edinburg. 1987, p. 506-532.
10. O'Reilly RA, Pool JG et al. Hereditary resistance to coumarin anticoagulant drugs in man and rat//Ann. N. Y. Acad. Sci. 1968 Jul 31;151(2):913-31.
11. Pelz HJ, Rost S, Huenerberg M et al. The genetic basis of resistance to anticoagulants in rodents// Genetics. 2005 May 6.
12. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose// N. Engl. J. Med. 2005 Jun 2;352(22):2285-93.
13. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2// Nature. 2004 Feb 5;427(6974):537-41.
14. Yuan HY, Chen JJ, Lee MT et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity // Hum Mol Genet. 2005 Jul 1;14(13):1745-51.

Поступила 18/08-2005