

АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ГЕНОТИПОВ ПО ДАННЫМ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

Барышева В.О., Кетова Г.Г.

ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Челябинск, e-mail:valeriya.bar@mail.ru

В статье проведен анализ результатов 4 видов фармакогенетического тестирования (ФГТ). Получены результаты: ФГТ на резистентность к клопидогрелу и для подбора дозы ингибиторов протонной помпы: ABCB1(MDR1): CC – 26,7 %, CT – 41,1 %, TT – 32,2 %. CYP2C19*2: GG – 79,0 %, GA – 19,0 %, AA – 2,0 %. CYP2C19*3: GG – 100 %. Аллельные варианты: *1/*1 – 40,0%, *1/*2 – 14,0%, *2/*17 – 6,0 %. Вариант *2/*2 встречался с частотой 2,0 %, вариант *1/*17 – 35,0%, а *17/*17 – 3,0%. По данным ФГТ для определения чувствительности к варфарину: по VKORC1: AA 20,6 %, GA – 44,4 %, GG – 35,0 %. CYP2C9*2: CC – 77,8 %, CT – 20,6 %, TT 1,6 %. CYP2C9*3: AA – 84,1 %, AC – 15,9 %. CYP4F2: CC – 57,2 %, CT – 33,3 %, TT – 9,5 %. Аллельные варианты: *1/*1 – 65,1 %, *1/*2 – 19,0 %, *1/*3 – 12,7 %, *2/*3 – 3,2 %. ФГТ для оценки безопасности статинов по SLCO1B1: CC – 10 %, TT – 90 %. Выводы: 1. Распространенность генотипов, связанных с резистентностью к клопидогрелу, составила 22,0 %. 2. Распространенность генотипов, ассоциированных с быстрой биотрансформацией ингибиторов протонной помпы, составила 38,0 %. 3. Распространенность высокого риска миопатии при приеме статинов составила 10 %.

Ключевые слова: фармакогенетическое тестирование; клопидогрел; варфарин; ингибиторы протонной помпы, статины.

ANALYSIS OF THE PREVALENCE OF GENOTYPES ACCORDING TO PHARMACOGENETIC TESTING

Barysheva V.O., Ketova G.G.

South Ural State Medical University, Chelyabinsk, e-mail:valeriya.bar@mail.ru

We have done the analysis of the results of 4 types of pharmacogenetic testing (PhGT). The results of PhGT on resistance to clopidogrel and for the selection of doses of proton pump inhibitors: ABCB1(MDR1): variant CC was detected in 26.7 %, CT in 41.1 %, TT in 32.2 %. CYP2C19*2: GG – 79.0 %, GA – 19.0 %, AA – 2.0 %. CYP2C19*3: GG – 100 %. Allelic variants: *1/*1 – 40.0 %, *1/*2 – 14.0 %, *2/*17 – 6.0 %. Variant *2/*2 was detected in 2.0% of cases, *1/*17 in 35.0% and *17/*17 in 3.0 %. According to the PhGT to determine the sensitivity to warfarin: VKORC1: AA 20.6 %, GA – 44.4 %, GG – 35.0 %. CYP2C9*2: CC – 77.8 %, CT – 20.6 %, TT – 1.6 %. CYP2C9*3: AA – 84.1 %, AC – 15.9 %. CYP4F2: CC – 57.2 %, CT – 33.3 %, TT – 9.5 %. Allelic variants: *1/*1 – 65.1 %, *1/*2 – 19.0 %, *1/*3 – 12.7 %, *2/*3 – 3.2 %. PhGT to determine the safety of statins on SLCO1B1: CC – 10 %, TT – 90 %. Conclusions: 1. The prevalence of genotypes associated with resistance to clopidogrel is 22.0 %. 2. The prevalence of genotypes associated with rapid biotransformation of proton pump inhibitors is 38.0 %. 3. The prevalence of the high risk of myopathy associated with statins is 10 %.

Keywords: pharmacogenetic testing, clopidogrel, warfarin, proton pump inhibitors, statins.

Несмотря на развитие медицинской науки, высокая частота случаев недостаточной эффективности лекарственных средств и нежелательных лекарственных реакций остается актуальной проблемой терапии. Фармакогенетическое тестирование (ФГТ) является перспективным инструментом персонализации медикаментозного лечения больных.

Закономерности, выявляемые фармакогенетикой, позволяют врачу индивидуально подходить к выбору как самих ЛС, так и их доз у каждого конкретного пациента, обеспечивая максимально эффективную и безопасную фармакотерапию.

Варфарин является часто применяемым лекарственным препаратом (ЛП), и его высокая эффективность в профилактике тромботических осложнений установлена во множестве исследований [3]. Однако при всех положительных эффектах данный антикоагулянт обладает малой шириной терапевтического действия, что связано с большим риском развития кровотечений. Для некоторых пациентов титрация дозы варфарина может проводиться длительное время и сопровождаться развитием нежелательных побочных эффектов. Такие различия в дозировке варфарина объясняются сочетанием ряда факторов, среди которых ведущая роль принадлежит генетическим особенностям, в частности, различным вариантам генов VKORC1 и CYP2C9 [6].

Исследования показали, что носительство двух «медленных» аллельных вариантов гена CYP2C9 (*2, *3) значительно влияет на выраженность антикоагулянтного эффекта варфарина. У пациентов с генотипами CYP2C9 *1/*2, *1/*3, *2/*2, *2/*3 и *3/*3 снижается активность изофермента CYP2C9, что приводит к замедлению метаболизма варфарина и повышению концентрации S-варфарина [10]. Это может привести к гипокоагуляции и значительному повышению риска развития кровотечений, соответственно для таких пациентов необходима меньшая поддерживающая доза варфарина (до 5 мг/сутки) [3].

В связи с особенностями применения варфарина подбор фармакотерапии должен быть персонализированным для достижения максимальной безопасности и эффективности. На современном этапе этой цели можно достигнуть путем применения ФГТ, в основе которого лежит определение генетических полиморфизмов генов, ответственных за особенности фармакокинетики или фармакодинамики определенных ЛП.

Наиболее часто для расчета необходимой дозировки варфарина используется алгоритм Gage, который включает в себя персональные характеристики пациентов и генетические варианты. По данным авторов данного алгоритма среднее различие фактических и прогнозируемых дозировок оказалось менее 1 мг/сутки. Рассчитать дозу варфарина можно онлайн [11].

Другим лекарственным препаратом, для которого актуально использование фармакогенетического тестирования, является клопидогрел. Данный антиагрегант относится к пролекарствам, и для оказания терапевтического эффекта ему необходима активация с помощью системы цитохрома P450 ферментом CYP2C19.

В зависимости от этнической принадлежности, до 25 % больных имеют мутации в гене CYP2C19, в результате чего образуется менее активный или неактивный фермент CYP2C19, что потенциально ведет к снижению лекарственного ответа. Пациенты со сниженной скоростью метаболизма препарата имеют в 1,5–3 раза больший риск развития инсульта или смерти по сравнению с пациентами, которые нормально метаболизируют его.

Мега и соавторы предположили, что у больных, принимающих клопидогрел, которые также были носителями полиморфизмов цитохрома P450, существует повышенный риск развития ишемических событий [14]. Эти авторы оценили влияние функциональных полиморфизмов генов, кодирующих цитохромы, на клопидогрел – опосредованное ингибирование тромбоцитов на небольшой группе здоровых испытуемых.

Мета-анализ исследований фармакогенетики клопидогрела, проведенных в нашей стране (Чернов А.А. и соавт., 2015), показал, что наличие CYP2C19*2 достоверно повышает риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых исходов.

Для выявления типа метаболизма клопидогрела необходимо определить полиморфизмы следующих генов:

ABCB1(MDR1) – ген, ответственный за всасывание клопидогрела. Полиморфизмы этого гена влияют на биодоступность клопидогрела и эффективность его применения. Исследование, проведенное более чем на 1400 пациентов, принимавших клопидогрел после чрескожного коронарного вмешательства, выявило, что для носителей аллельного варианта TT риск смерти от сердечно-сосудистых событий выше на 72 %, чем у носителей CC [17].

Различные варианты гена CYP2C19*2 также вносят вклад в формирование чувствительности к клопидогрелу. Например, для CYP2C19*3 выявлена связь с резистентностью к клопидогрелу. По данному аллелю резистентность наиболее часто отмечается среди азиатов (5 % населения), а среди европейцев частота встречаемости составляет менее 0,5 % [20].

Аллель CYP2C19*17 (-806 C>T) влияет на метаболизм клопидогрела ингибиторов протонной помпы (ИПП). Если пациент относится к ультрабыстрым метаболизаторам, либо метаболизаторам средней активности, то для достижения необходимого снижения кислотности желудочного сока стандартных доз ИПП будет недостаточно [23].

Для оценки фармакогенетики ингибиторов протонной помпы используются те же точки, что и для оценки фармакогенетики клопидогрела. Поэтому в Клинике ГБОУ ВПО ЮУГМУ МЗ РФ существует совмещенный тест для оценки ЛП из двух групп.

Статины характеризуются высокой безопасностью, однако при применении данных ЛП могут развиваться миопатия и рабдомиолиз, который примерно в 30 % случаев заканчивается смертью. Причиной развития миопатии, индуцированной статинами, может являться подавление синтеза коэнзима Q, однако механизм развития этого осложнения мало изучен. С учетом частого применения статинов профилактика неблагоприятных побочных реакций от их применения представляет актуальную проблему [3].

ФГТ, определяющее полиморфизм генотипа SLCO1B1, позволяет определить индивидуальную максимальную безопасную дозу статинов и прогнозировать риск развития

миопатии. Исследования показали, что носительство аллельного варианта SLCO1B1*5 связано со значительным увеличением риска развития миалгии и миопатий, отмеченных у 60 % пациентов с данным генотипом при лечении высокими дозами статинов [25].

По данным зарубежных авторов, распространенность медленного аллеля SLCO1B1*5 в европейской популяции составляет от 15,0 % до 21,6 %. Исследования показали, что носительство одного медленного аллеля увеличивает вероятность развития статин-индуцированной миопатии в 4,5 раза, а гомозиготное носительство больше чем в 16 раз [27]. Сычев Д.А. и соавторы в 2013 году провели исследование, которое определило частоту различных генотипов SLCO1B1*5 в России (ТТ – 61,0 %, ТС – 32,5 %, СС – 6,5 %) [29]. При этом генотипы СС и СТ ассоциированы с увеличением частоты развития статин-индуцированной миопатии, а значит, для данной категории пациентов необходим индивидуальный режим дозирования статинов [25].

Цель работы: оценить распространенность генотипов, ассоциированных с метаболизмом клопидогрела, варфарина, ингибиторов протонной помпы и статинов.

Материалы и методы

На базе Клиники ГБОУ ВПО ЮУГМУМЗ РФ (г. Челябинск) в практике применяются несколько видов ФГТ. В данной работе мы рассмотрим 4 из них: на чувствительность к варфарину, на наличие резистентности к клопидогрелу, для подбора дозы ингибиторов протонной помпы и для оценки применения статинов. В качестве источника ДНК использовалась кровь. Расшифровка результатов проводилась при помощи комплектов реагентов для определения генетических полиморфизмов методом ПЦР в режиме реального времени (производитель «ДНК-технологии»).

Результаты и их обсуждение

На базе Клиники ГБОУ ВПО ЮУГМУ МЗ РФ фармакогенетическое тестирование для определения резистентности к клопидогрелу и подбора дозы ИПП проводится с 2013 года. За это время было обследовано 100 пациентов. Средний возраст обследованных составил $56,98 \pm 12,9$ лет, среди них 59,0 % пациентов мужского пола и 41,0 % – женского.

По ABCB1(MDR1) среди обследованной популяции вариант генотипа СС встречался с частотой 26,7 %, СТ – 41,1%, а ТТ с частотой 32,2 %. Для 10 пациентов данная точка не была определена в связи с отсутствием реактивов.

Носительство аллели CYP2C19*1 ассоциировано с нормальной активностью клопидогрела [17], в то время как при выявлении аллелей *2 или *3, ассоциированных со снижением метаболизма клопидогрела, отмечается недостаточный антиагрегантный эффект и повышение риска возникновения неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, вплоть до летального исхода [20].

Среди обследованных пациентов вариант CYP2C19*2 GG встречался в 79,0 % случаев, вариант GA – в 19,0 % и вариант AA у 2,0 % пациентов.

Следующим геном, вариабельность которого вносит вклад в формирование резистентности к клопидогрелу, является CYP2C19*3. Аллель «дикого» типа GG ассоциирован с нормальным функционированием данного фермента. Все обследованные пациенты являлись носителями данного типа.

Генетические различия оказывают влияние на разницу в лекарственном ответе у пациентов с сердечно - сосудистыми заболеваниями во время лечения клопидогрелом: аллельный вариант *1/*1 связан с нормальным метаболизмом препарата клопидогрел и нормальным антиагрегантным эффектом, носительство *1/*2 и *1/*3 ассоциировано с небольшими метаболическими отклонениями, а варианты *2/*2, *2/*3, *3/*3 – со значительными нарушениями в метаболизме данного лекарственного препарата [14].

Для носителей генотипов *1/*2, *1/*3, *2/*17 отмечен меньший антиагрегантный эффект и более высокая частота возникновения кардиоваскулярных событий. Таким пациентам рекомендуется замена клопидогрела на альтернативный препарат (тикагрелор или прасугрел) при отсутствии противопоказаний. При выявлении носительства *2/*2, *2/*3, *3/*3 антиагрегантный эффект снижен значительно, вплоть до его полного отсутствия, и также возрастает риск развития неблагоприятных кардиоваскулярных событий (таких, как инфаркт, инсульт, транзиторная ишемическая атака и т.д.). Для данной категории пациентов строго рекомендовано проведение альтернативной антиагрегантной терапии.

Если пациенты относятся к вариантам *1/*17 и *17/*17, то для них характерно усиление антиагрегантной активности, что может быть связано с риском возникновения кровотечений. В данном случае рекомендовано проведение антиагрегантной терапии клопидогрелом по инструкции [23].

При анализе собственных результатов, частота выявления варианта *1/*1 составила 40,0 %, *1/*2 – 14,0 %, *2/*17 – 6,0 %. Вариант *2/*2 встречался с частотой 2,0 %, вариант *1/*17 встречался в 35,0 % случаев, а *17/*17 – в 3,0 %.

В соответствии с рекомендациями Европейского кардиологического сообщества, при определении резистентности к клопидогрелу необходима его замена на тикагрелор или прасугрел, либо увеличение дозы клопидогрела (однако данная рекомендация не регламентирована инструкцией). Соответственно, 78,0 % пациентов могут принимать клопидогрел в стандартной дозировке, а 22,0 % пациентов резистентны к клопидогрелу и требуют альтернативной антиагрегантной терапии.

Также среди обследованных 38,0 % пациентов характеризовались быстрой биотрансформацией ИПП, что означает необходимость индивидуального подбора лекарственных препаратов данной группы для обеспечения должного эффекта.

Фармакогенетическое тестирование для определения чувствительности к варфарину проводится с 2013 года. За это время было обследовано 63 пациента.

Средний возраст обследованных пациентов составил $61,0 \pm 12,7$ лет. Среди них 42,9 % мужского пола и 57,1 % женского. Все пациенты являлись представителями европеоидной расы. Показаниями для назначения варфарина являлись: фибрилляция предсердий (73,0 %), протезирование сердечного клапана (14,4 %), сочетание фибрилляции предсердий и протезированного клапана (6,3 %) и тромбозы различной локализации (6,3 %).

Были оценены ряд показателей, способных повлиять на определение чувствительности к варфарину: серьезные поражения печени отмечались у 7,9 % пациентов; 4,8 % пациентов принимали амиодарон по 600 мг в сутки, а в дозировках 50, 200, 400 и 1200 мг в сутки прием амиодарона осуществляли по 1,6 % всех обследованных пациентов. Среди обследованных пациентов курили 20,6 %. Еще одной важной характеристикой при расчете необходимой дозы варфарина является прием статинов: 12,7 % пациентов принимали розувастатин, 23,8 % симвастатин и аторвастатин – 27,0 %. Последними значимыми характеристиками являются применение сульфаниламидов и противогрибковых препаратов, ни один из обследованных пациентов не принимал подобных препаратов.

Носительство гомозиготного варианта AA по VKORC1 ассоциировано с высокой чувствительностью к варфарину и требует назначения дозировок ниже, чем для носителей других генотипов. Для обследованных пациентов выявлена частота встречаемости варианта AA – 20,6 %, GA – 44,4 % и частота встречаемости гомозиготного варианта GG – 35,0 %.

Ген CYP2C9 также влияет на метаболизм и выведение варфарина в клетках печени [10]. Самые часто встречаемые мутации в данном гене *2 и *3 ассоциированы с более низкими дозами исследуемого препарата. Носительство даже одной мутантной аллели связано с «медленным» типом метаболизма варфарина и, соответственно, большей чувствительностью к данному лекарственному препарату [20]. К тому же, отмечается увеличение риска передозировки варфарина.

В исследуемой популяции аллельный вариант CC по CYP2C9*2 выявлялся с частотой 77,8 %, CT с частотой 20,6 %, а частота встречаемости варианта TT составила 1,6 %.

Вариант CYP2C9*3 AA был выявлен в 84,1 % случаев, для остальных 15,9 % был характерен вариант AC.

Среди обследованных пациентов частота встречаемости вариантов CYP4F2 составила 57,2 % для CC, 33,3 % для CT, а вариант TT встречался в 9,5 % случаев.

Влияние генотипа пациента на начальную дозу варфарина показали многие исследования [3, 6, 10]: для сравнения с аллелями «дикого типа» *1/*1, выявление генотипа *1/*2 характеризовалось снижением дозы в среднем на 13–22 %, при выявлении варианта *2/*2 – на 18–40 %, варианта *1/*3 на 21–49 %, при варианте *2/*3 – на 18–73 %, а при выявлении варианта *3/*3 требовалась доза ниже обычной более чем на 71 %.

Среди обследованных пациентов частота встречаемости аллельного варианта *1/*1 была выявлена у 65,1 %, *1/*2 определялась у 19,0 % пациентов. Аллельный вариант *1/*3 был выявлен у 12,7 % пациентов, а *2/*3 – у 3,2 %.

Благодаря проведению ФГТ был проведен персонализированный подбор дозы варфарина для всех обследованных пациентов. Наименьшая дозировка составила 0,7 мг, наибольшая – 9,8 мг.

Оценка безопасности статинов была начата в 2015 году. На данный момент данное ФГТ проведено для 10 пациентов, среди которых 50 % мужского пола и 50 % женского. Среди всех обследованных пациентов вариант ТТ определялся у 90 %, вариант СС у 10 %.

Выводы:

1. Распространенность генотипов, связанных с резистентностью к клопидогрелу, среди обследованной популяции составляет 22,0 %. Соответственно, для данной категории пациентов необходимо проведение альтернативной антиагрегантной терапии во избежание увеличения числа неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

2. Распространенность генотипов, ассоциированных с быстрой биотрансформацией ингибиторов протонной помпы, в исследованной популяции составляет 38,0 %. Для данной категории пациентов необходим индивидуальный подход к дозированию лекарственных препаратов группы ингибиторов протонной помпы.

3. Персонализированный подход к подбору дозы варфарина позволяет достигнуть дополнительных преимуществ при проведении антикоагулянтной терапии и подобрать индивидуальную дозу.

4. Частота встречаемости варианта СС по SLCO1B1 среди обследованных пациентов составила 10 %, однако требуется дальнейшее проведение исследования для увеличения объема выборки.

Список литературы

1. Кох, Н.В. Значение фармакогенетических исследований для персонализированного подхода фармакотерапии статинами / Н.В. Кох, Г.И. Лифшиц // Бюллетень ВСЕНЦ СО РАМН. – 2103. – Т.93, № 5. – С.176-180.

2. Румянцев, Н.А. Перспективы индивидуализации применения и дозирования пероральных антикоагулянтов и статинов у пациентов в рутинной клинической практике / Н.А. Румянцев, Д.А. Сычев, В.Г. Кукес // Клиническая фармакология и терапия. – 2015. – Т. 24, № 4. – С.70–74.
3. Сычев, Д.А. Прикладные аспекты применения фармакогенетического тестирования по SLC6B1 для прогнозирования развития статин-индуцированной миопатии и персонализации применения статинов / Д.А. Сычев, Г.Н. Шуев, А.Б. Прокофьев А.Б. // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2013. – Т.9, № 6. – С.698-700.
4. Carlquist, J.F. Using pharmacogenetics in real time to guide warfarin initiation: a clinician update / J.F. Carlquist, J.L. Anderson // Circulation. – 2011. – Vol. 124, № 23. – P. 2554-2559
5. Herman D. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose/ Herman D, Locatelli I, Grabnar I.[et al]. // J Pharmacogenomics. – 2005. –Vol.5.- P.193–202
6. Link E, Parish S, Armitage J, et al. SEARCH Collaborative Group. SLC6B1 variants and statin-induced myopathy a genomewide study// N Engl J Med.- 2008.-Vol. 359, Is.8.- P.789-799.
7. Mega, J. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel / J. Mega, S. Close, S. Wiviott [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 360. – P. 354-362.
8. Mega, J.L. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis / J.L. Mega, S.L. Close, S.D. Wiviott [et al.] // Lancet. – 2010. – Vol. 376. – P. 1312-1319.
9. Sychev, D.A. The frequency of CYP2C19 genetic polymorphisms in Russian patients with peptic ulcers treated with proton pump inhibitors / D.A. Sychev, N.P. Denisenko, Z.M. Sizova [et al.] // Pharmgenomics Pers. Med. – 2015. – Vol. 8. – P. 111-114.
10. Xie, H.G. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response / H.G. Xie, R.B. Kim, A.J. Wood [et al.] // Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2001. – Vol. 41. – P. 815-850.
11. WarfarinDosing. – www.warfarindosing.org.