

## ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

УДК 616.13-018.74-06

Н.Ю. Кнауэр <sup>1</sup>, Г.И. Лифшиц <sup>2</sup>

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОПТИМИЗАЦИИ СОВРЕМЕННОЙ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (Новосибирск)<sup>2</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск)

*В обзоре рассмотрены точки приложения антиагрегантной терапии клопидогрелем и факторы, влияющие на ее исход. Особое внимание уделено применению персонализированного подхода для оптимизации терапии клопидогрелем, обсуждены данные клинических исследований.*

**Ключевые слова:** клопидогрель, персонализированная терапия, MDR1, CYP2C19

## MOLECULAR-GENETIC APPROACH FOR OPTIMIZATION OF MODERN ANTIAGGREGANT THERAPY

N.Yu. Knauer <sup>1</sup>, G.I. Lifshits <sup>2</sup><sup>1</sup> Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk<sup>2</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk

*The targets of application of antiaggregant therapy by clopidogrel and the factors that influence its outcome were presented in this review. Special attention was given to the application of personalized approach for the optimization of clopidogrel therapy. The data of clinical investigations were discussed.*

**Key words:** clopidogrel, personalized therapy, MDR1, CYP2C19

Персонализированная медицина в настоящее время является одним из наиболее перспективных направлений современной медицины. Большой интерес к данному направлению обусловлен необходимостью подбора оптимальных доз назначаемых лекарственных средств пациентам с учетом их индивидуальных особенностей всасывания, распределения и биотрансформации препаратов. Такой подход приобретает особую актуальность в терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы — группы заболеваний, вносящей значительный вклад в мировые показатели заболеваемости и смертности. Применение методов персонализированной медицины позволяет достичь лучших клинических исходов при очевидном сокращении временных и финансовых затрат на лечение.

Важным аспектом современной кардиологической практики является профилактика тромбозов и ретромбозов, что особенно актуально для пациентов, перенесших оперативные вмешательства на сосудах и установку стентов. В настоящее время одним из основных препаратов для проведения антитромбоцитарной терапии является клопидогрель, применение которого позволяет снизить частоту тромботических осложнений у кардиологических пациентов. Однако известно, что клинический и лабораторный ответ на клопидогрель у разных пациентов может отличаться от прогнозируемого

как в сторону недостаточной, так и в сторону избыточной реакции, что обуславливает необходимость определения индивидуального типа метаболизма для каждого пациента до назначения препарата. Одним из ключевых инструментов персонализированного подхода является генетическое типирование с определением полиморфных вариантов генов, вносящих наибольший вклад в метаболизм лекарственного средства. В частности показано, что в метаболизме клопидогреля участвуют такие белки, как Р-гликопротеин, белки семейства цитохрома Р450 и некоторые другие белки, осуществляющие его биотрансформацию и опосредующие его биологический эффект. Проведенные ранее исследования указывают на важность применения генетического тестирования для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелем для пациентов с учетом региональных особенностей.

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РАСПРОСТРАНЕННОСТИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В настоящее время сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти во всем мире. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в 2008 году от ССЗ умерло 17,3 млн. человек, что составило 30 % всех случаев смерти в мире. Из этого числа 7,3 млн.

человек умерло от ишемической болезни сердца и 6,2 млн. человек — в результате инсульта. Эта проблема в разной степени затрагивает страны с низким и средним уровнем дохода. Более 80 % случаев смерти от ССЗ происходит в этих странах, почти в равной мере среди мужчин и женщин. В России в 2006 г. летальность от ССЗ достигла 56,9 % от общего количества смертей, что составляет 1 млн 299 тыс. человек. Половина смертности от ССЗ обусловлена ишемической болезнью сердца (26 % от всех случаев смертности), 40 % — цереброваскулярными болезнями (20 % от всех случаев смертности). В США на ССЗ приходится 42 % всех случаев смерти. Из них на ишемическую болезнь сердца приходится 51 %, 27 % — на сердечную недостаточность, 16 % — на ишемический инсульт мозга, 6 % — на другие сердечно-сосудистые заболевания. По прогнозам Всемирной организации здравоохранения, к 2030 году около 23,6 млн. человек умрет от ССЗ, главным образом, от болезней сердца и инсульта, которые останутся единственными основными причинами смерти. Ведущей патологией в группе ССЗ на сегодняшний момент является атеросклеротическое поражение сосудов и связанный с ним атеротромбоз, на который приходится более 28 % всех случаев смерти в мире (включая смерть от всех сердечно-сосудистых заболеваний, кроме ревматических и воспалительных поражений сердца).

#### РЕАКЦИИ СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ И ИХ РОЛЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ АТЕРОТРОМБОЗА

Атеротромбоз определяется как генерализованное и прогрессирующее заболевание крупных артерий, характеризующееся накоплением липидов, воспалительных и гладкомышечных клеток и внеклеточного матрикса в субэндотелиальном пространстве с последующим образованием тромба. Формирование атеросклеротических бляшек в системе венечных артерий может сопровождаться возникновением стабильной стенокардии, в системе артерий нижних конечностей — синдромом перемежающейся хромоты. Разрывы и трещины бляшек, тромбоз сосудов приводят к развитию острого коронарного синдрома, ишемического инсульта и преходящего нарушения мозгового кровообращения, терминальной ишемии нижних конечностей и, в конечном счете, сердечно-сосудистой смерти. Таким образом, важным становится определение ключевых точек патогенетических процессов и воздействие на эти точки методами современной медицины.

Основную роль в формировании атеротромботической патологии играют реакции свертывания крови. В норме эти реакции обеспечивают гемостаз и создают условия для последующего восстановления целостности поврежденного сосуда, но при наличии изменения свойств сосудистой стенки и реологических свойств крови реакции свертывания крови являются ключевым звеном процессов, приводящих к образованию тромботических масс и окклюзии сосудов.

Условно реакции свертывания крови могут быть разделены на гуморальные с участием плазменных факторов свертывания и тромбоцитарные, осуществляющиеся благодаря наличию на поверхности тромбоцитов различных рецепторов.

Тромбоцитарный гемостаз приводит к формированию тромба и условно может быть разделен на несколько этапов:

1. Временный (первичный) спазм сосудов.
2. Адгезия тромбоцитов к субэндотелиальным структурам.
3. Активация тромбоцитов с выбросом медиаторов из гранул хранения.
4. Агрегация тромбоцитов.

Нестимулированные тромбоциты циркулируют в виде гладких дисковидных пластинок, не вступающих в физиологически значимые взаимодействия друг с другом, остальными форменными элементами крови, эндотелиальными клетками. Каскад реакций, приводящих к формированию тромба, развивается лишь тогда, когда поврежден эндотелий и обнажается субэндотелиальный матрикс. В этих реакциях участвуют коллаген и другие белки внеклеточного матрикса, аденозиндифосфат, а также микрофибриллы, фиксирующие большие мультимеры фактора Виллебранда (которые синтезируются и секретируются эндотелиоцитами). Важнейшая роль здесь принадлежит аденозиндифосфату, который связывается с двумя типами рецепторов на поверхности тромбоцита —  $P2Y_1$  и  $P2Y_{12}$ .  $P2Y_1$ -рецептор связан с  $G_q$ -белком, и его связывание с лигандом приводит к активации фосфолипазы C, катализирующей образование диацилглицерола и инозитолтрифосфата. Диацилглицерол активирует протеинкиназу C, что приводит к фосфорилированию киназы легких цепей миозина и выделению содержимого гранул тромбоцита.  $P2Y_{12}$ -рецептор связан с  $G_i$ -белком, и его клеточные сигнальные пути связаны с активацией фосфоинозитид-3-киназы и ингибированием аденилатциклазы. Активация фосфоинозитид-3-киназы приводит к активации рецептора  $GP IIb/IIIa$  путем повышения активности серин-треониновой протеинкиназы B и  $Rap1b$  ГТФ-связывающих белков. Ингибирование аденилатциклазы приводит к снижению концентрации цАМФ, что влияет на активность цАМФ-зависимых протеинкиназ, что ведет к ингибированию фосфорилирования VASP и снижению его инактивирующего действия на рецептор  $GP IIb/IIIa$  [21].

Следующим этапом является адгезия тромбоцитов, в которой важную роль играют два механизма. Первый — это непосредственная адгезия тромбоцитов через рецепторы  $GP Ia - IIa$  и  $GP VI$  к коллагену субэндотелия. Другой механизм, более эффективно удерживающий тромбоциты при высокой скорости кровотока, связан с участием молекулы адгезии — фактора Виллебранда, фибронектина, витронектина, ламинина, тромбоспондина и пр.

Молекулы фактора Виллебранда (vWF) специфически связываются с рецепторами тромбоцитов  $GP Ib-V-IX$  и коллагеном субэндотелия [14]. Это

обеспечивает прочную фиксацию тромбоцитов к субэндотелиальным структурам в тех участках сосудистого русла, где другие механизмы не могут обеспечить надежной фиксации тромбоцитов (мелкие артерии, артериолы, капилляры).

Кроме фактора Виллебранда, важную роль в активации и адгезии тромбоцитов играют такие белки, как фибронектин (связывается с GP Ic – IIa рецепторами тромбоцитов и коллагеном), витронектин (связывается с постоянно функционирующими витронектиновыми рецепторами), ламинин, тромбоспондин (стабилизирующий комплекс фибриноген-GP IIb-IIIa) и другие белки.

Следующим этапом формирования тромба является активация. Реакция тромбоцита на активирующие воздействия одинакова:

1. Тромбоцит меняет форму, формируя филоподии за счет открытой канальцевой системы. Благодаря этому, существенно увеличивается площадь

поверхности тромбоцитарной мембраны. Кроме того, наблюдаются конформационные изменения в GP IIb – IIIa рецепторах тромбоцитов, что способствует связыванию рецепторов с фибриногеном и последующей агрегации.

2. Меняются соотношения фосфолипидов тромбоцитарной мембраны, что приводит к появлению на наружной поверхности мембраны большого числа кислых фосфолипидов с прокоагулянтными свойствами – фактор 3 тромбоцитов (PF3).

3. На мембране экспрессируются или повышают аффинность интегрин.

4. Происходит секреция содержимого гранул тромбоцитов во внешнюю среду.

Процесс агрегации заключается в присоединении активированных тромбоцитов, находящихся в токе крови, друг к другу и к ранее фиксированным в области повреждения тромбоцитам. Основным рецептором агрегации является GP IIb – IIIa (инте-

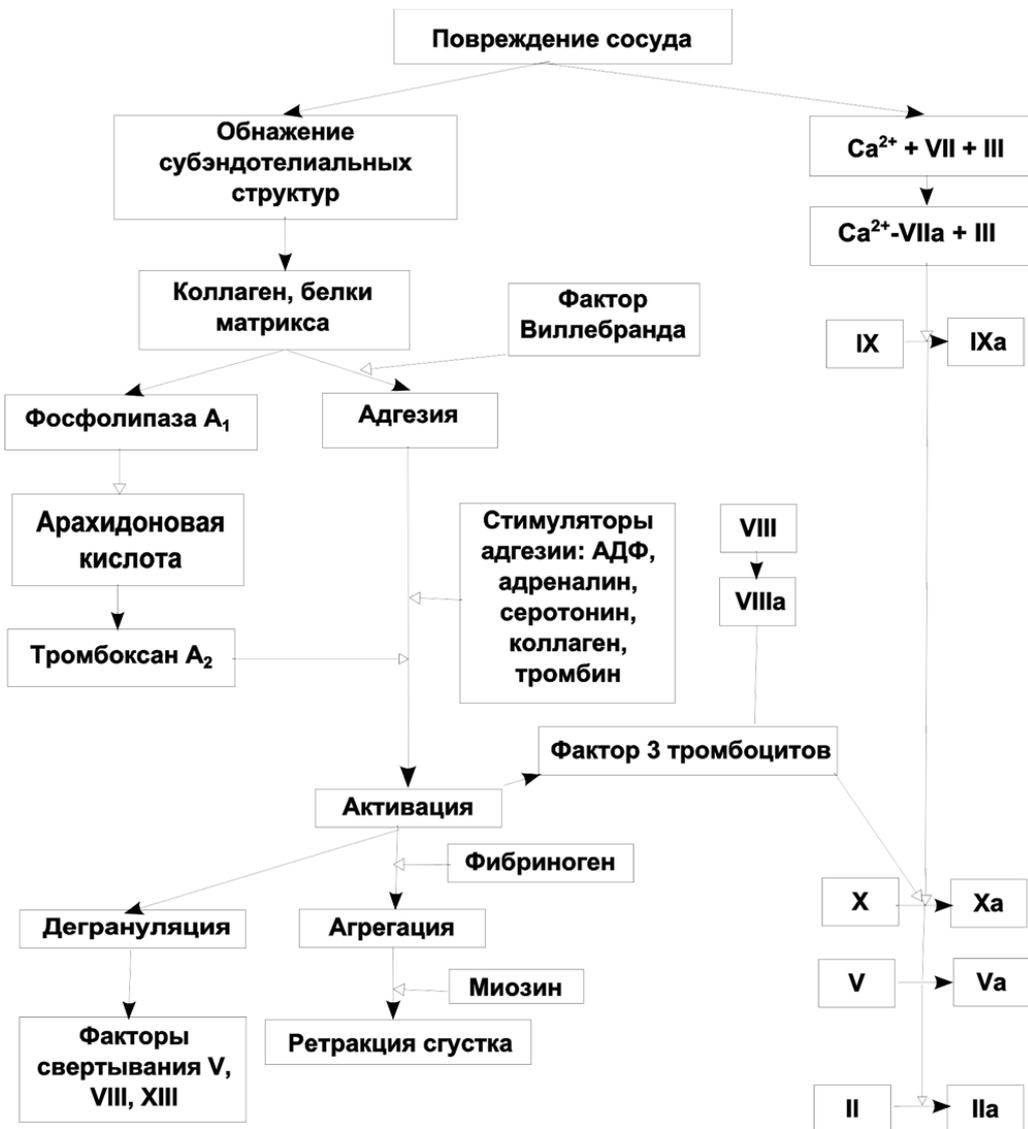


Рис. 1. Каскад реакций свертывания крови: тромбоцитарное и гуморальное звено.

грин  $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ ). После активации тромбоцита данный рецептор значительно повышает свою аффинность к фибриногену и меняет свою антигенную структуру, что говорит об изменении его конформации. После этого происходит соединение тромбоцитов, обусловленное фибриногеном и фактором Виллебранда.

Вследствие распространения активирующего сигнала на тромбоциты, расположенные вдали от места повреждения, образуется толстый слой тромбоцитов, армированный фибрином. По мере удаления от зоны повреждения концентрация агонистов активации и агрегации тромбоцитов снижается и соответственно уменьшается агрегация тромбоцитов. Дистально расположенные частично активированные тромбоциты отрываются от сгустка и возвращаются в кровоток. Таким образом, происходит периферическая дезагрегация, предотвращающая неограниченный рост сгустка.

Последним этапом формирования тромба является ретракция сгустка, способствующая улучшению механических характеристик сгустка и снижению активности системы фибринолиза. Ретракция осуществляется благодаря сократительным свойствам молекул миозина, находящихся в цитоплазме тромбоцитов и фиксированных к мембранному гликопротеину GP IIb – IIIa.

Следует отметить, что имеются данные о связи тромбоцитарного и гуморального звеньев гемостаза. Так, известно, что мегакариоциты синтезируют и депонируют в  $\alpha$ -гранулах факторы свертывания V, VIII, XIII, фактор Виллебранда и фибриноген. Сам фактор Виллебранда в плазме является белком-носителем фактора VIII, защищающим его от действия протеолитической деградации системой «протеин С – протеин S». Фактор 3 тромбоцитов является катализатором при активации фактора X факторами IXa и VIII и образовании протромбиназы за счет взаимодействия между факторами Xa и V. Но в то же время активированные тромбоциты способны и частично ограничивать коагуляционный каскад. Мембрана активированного тромбоцита способна связывать тромбин и тромбомодулин, компонент  $\alpha$ -гранул, которые в свою очередь активируют антикоагуляционный протеин С.  $\alpha$ -гранулы также содержат активатор тканевого плазминогена. Таким образом, системы гуморального и тромбоцитарного гемостаза весьма тесно связаны (рис. 1).

#### СОВРЕМЕННЫЕ АНТИТРОМБОЦИТАРНЫЕ ПРЕПАРАТЫ И ТОЧКИ ИХ ПРИЛОЖЕНИЯ

Очевидно, что различные этапы каскада реакций свертывания могут выступать в качестве «мишеней» для антитромботической терапии. Одним из классических препаратов, используемых с этой целью, стала ацетилсалициловая кислота (аспирин), необратимо ингибирующая циклооксигеназу-1, что, в свою очередь, приводит к блокированию синтеза тромбоксана  $A_2$ . Аспирин и сейчас широко используется в качестве дезагреганта, но наличие серьезных побочных эффектов (таких,

как ulcerогенное действие) и противопоказаний (таких, как, например, бронхиальная астма, индуцированная приемом салицилатов) вынуждает к поиску других антиагрегантных препаратов, лишенных этих недостатков. Такими препаратами стали тиенопиридины. Тиенопиридины являются необратимыми ингибиторами тромбоцитарных  $P2Y_{12}$ -рецепторов и, таким образом, действуют на путь активации тромбоцитов, на который аспирин влияет слабо — ответ на стимуляцию аденозиндифосфатом. Тиклопидин, тиенопиридин первого поколения, показал свою большую эффективность по сравнению с ацетилсалициловой кислотой, но также не был лишен серьезных побочных эффектов — на фоне приема тиклопидина часто описывались случаи развития нейтропении [6]. Следующим препаратом этой группы стал клопидогрель, широко используемый в настоящее время как один из основных препаратов при назначении антитромботической терапии.

#### КЛОПИДОГРЕЛЬ: ОСОБЕННОСТИ ВСАСЫВАНИЯ И БИОТРАНСФОРМАЦИИ

Клопидогрель представляет собой пролекарство. Его всасывание в кишечнике и поступление в кровь связано с Р-гликопротеином, кодируемым геном MDR1 (ABCB1). В дальнейшем 85 % дозы превращаются в неактивное карбоксильное производное за счет действия эстераз плазмы. Оставшиеся 15 % дозы претерпевают двухступенчатое окисление под действием изоформ цитохрома P450, превращаясь сначала в 2-оксо-клопидогрель, а затем — в активное тиольное производное. Оно в свою очередь необратимо ингибирует связывание АДФ с  $P2Y_{12}$ -рецепторами тромбоцитов. В дальнейшем происходит ингибирование связывания фибриногена с рецептором GP IIb/IIIa и снижение агрегации (рис. 2)

В настоящее время клопидогрель используется при лечении следующих групп пациентов:

1. Пациенты, перенесшие острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST, которым не была проведена ангиопластика [10, 17]. Клопидогрель предотвращает последующее нарушение проходимости уже поврежденного сосуда.
2. Пациенты, перенесшие острый коронарный синдром без подъема сегмента ST, включая пациентов, которым было проведено стентирование при чрескожном коронарном вмешательстве. Пациенту назначается по 75 мг/сут. 1 раз, а в первые сутки дается «нагрузочная» доза 300 мг. Перед стентированием больной получает нагрузочную дозу 600 мг (стандартная нагрузочная доза 300 мг + 300 мг непосредственно перед ЧКВ). Клопидогрель используется при наличии непереносимости препаратов ацетилсалициловой кислоты или противопоказаний к их назначению. Но также клопидогрель может применяться в сочетании с аспирином как для длительного лечения, так и кратковременно (1 месяц в связи с ЧКВ со стентированием) [1, 17].
3. Пациенты со стабильной стенокардией в случае невозможности использования аспирина. Дозировка клопидогреля — 75 мг/сут. 1 раз [3]. Кроме

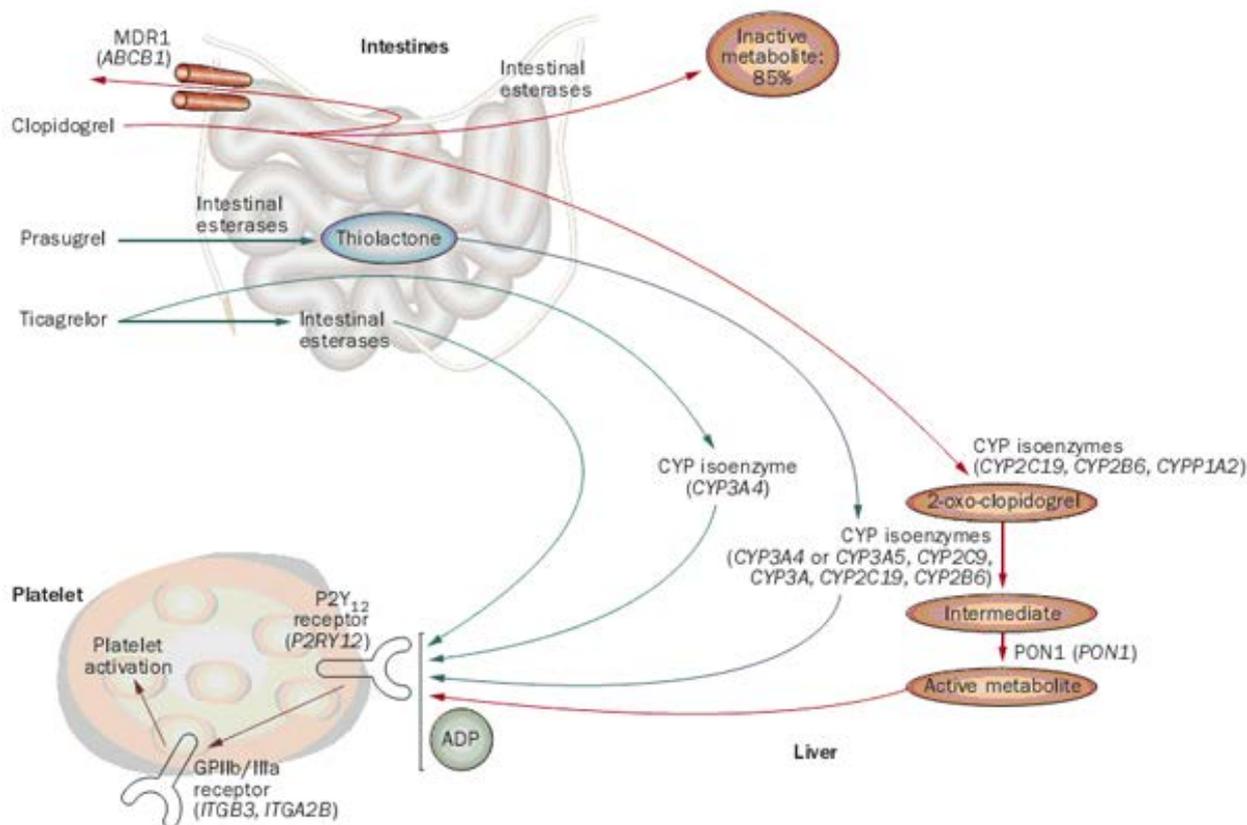


Рис. 2. Биотрансформация клопидогреля и его биологический эффект.

того, в настоящее время обсуждается возможность назначения при фибрилляции предсердий помимо оральных антикоагулянтов препаратов ацетилсалициловой кислоты или клопидогреля. По данным исследования АСТИВА, терапия клопидогрелем в сочетании с аспирином может быть использована у пациентов, которым не подходит терапия антагонистами витамина К [15], но в настоящее время данная тактика недостаточно изучена и может быть связана с повышенным риском кровотечений [2, 8, 20].

Но при назначении клопидогреля следует помнить о множестве факторов. В настоящее время описаны некоторые побочные эффекты клопидогреля.

По сообщению Всемирной организации здравоохранения, геморрагические осложнения возникли в 28 % случаев применения клопидогреля

(130 из 460) [9]. Клопидогрель был единственным назначенным препаратом в 27 % случаев, еще в 27 % случаев клопидогрель назначался с ацетилсалициловой кислотой. В 63 (48 %) случаях пациенты получали клопидогрель с 2 или более другими препаратами, которые могут приводить к кровотечениям (антикоагулянты, тромболитики, ингибиторы агрегации тромбоцитов, нестероидные противовоспалительные препараты). Из 130 случаев 18 закончились летальным исходом (табл. 1).

В рандомизированном слепом исследовании «Клопидогрель против аспирина у пациентов с риском ишемических событий» (CAPRIE) доля кровотечений на фоне приема клопидогреля составила 9,3 % (из них 15 % – тяжелые). Риск развития кровотечений был снижен путем отмены анти-

Таблица 1

Геморрагические осложнения после приема клопидогреля

Назначенные лекарства	Число случаев	Число случаев с летальным исходом
Клопидогрель	27	1
Клопидогрель + ацетилсалициловая кислота	27	1
Клопидогрель + один другой препарат*	25	4
Клопидогрель + два и более других препарата*	63	12
Общее количество геморрагических осложнений	130	18

Примечание: \* – антикоагулянты, тромболитики, ингибиторы агрегации тромбоцитов, нестероидные противовоспалительные препараты.

коагулянтов и антитромбоцитарных препаратов перед исследованием. Дальнейшие исследования показали, что назначение ацетилсалициловой кислоты с клопидогрелем повышает (удваивает) риск развития жизнеугрожающих кровотечений с 1,3 % до 2,6 % ( $p < 0,001$ ). Кроме того, по данным ВОЗ, при совместном назначении более чем 2 препаратов, способных приводить к кровотечениям, увеличивается вероятность летального исхода (19 % случаев при назначении 3 и более препаратов) (табл. 1).

Другим частым побочным эффектом клопидогреля является нарушение кроветворения, такие состояния, как нейтропения, агранулоцитоз, тромбоцитопения, тромбоцитопеническая пурпура, анемия и панцитопения. Нередко возникают и аллергические реакции после приема клопидогреля – зуд, крапивница и т.д.

### ФАКТОРЫ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИЕ ВАРИАбельНОСТЬ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КЛОПИДОГРЕЛЯ

С другой стороны для клопидогреля характерна вариабельность терапевтического ответа, процент «резистентных» пациентов колеблется от 5 % до 40 % в зависимости от популяции, что также следует учитывать при назначении антитромботической терапии (рис. 3).

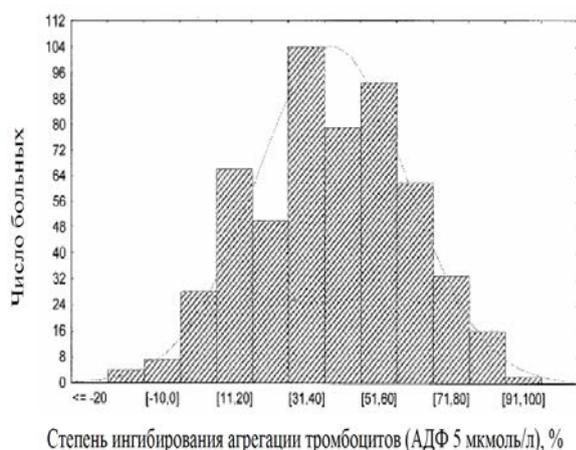


Рис. 3. Индивидуальная изменчивость агрегации тромбоцитов у пациентов, принимающих клопидогрель.

Условно факторы, играющие роль в вариабельности ответа на клопидогрель, могут быть разделены на 3 категории (табл. 2).

Таким образом, важным становится вопрос подбора оптимальной индивидуальной дозы клопидогреля до его назначения. Одним из методов, подходящих для этого, является генетическое тестирование, результаты которого помогут отнести пациента к группе с усиленным, экстенсивным или ослабленным метаболизмом лекарственного препарата, что в дальнейшем будет важным для подбора адекватной дозы клопидогреля.

Для проведения генетического тестирования важной задачей является подбор «генетических точек», которые бы использовались в качестве маркеров. Показано, что наибольший вклад в метаболизм клопидогреля осуществляют полиморфные варианты цитохрома CYP2C19 и белок Р-гликопротеин, кодируемый геном *mdr1* [18].

### ЦИТОХРОМ CYP2C19 И ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНА, ЕГО КОДИРУЮЩЕГО

Цитохром 2С19 является представителем группы ферментов семейства цитохрома Р450 и представляет собой фермент S-мефенитонин гидроксилазу.

Ген, кодирующий цитохром CYP2C19, локализован в 10-й хромосоме, локус 10q24. Данный локус входит в состав большого кластера, содержащего гены CYP2C19- CYP2C18- CYP2C19- CYP2C9- CYP2C8 и связанного со сниженным ответом на клопидогрель (рис. 4).

В настоящее время выявлено 25 полиморфных вариантов гена, кодирующего цитохром CYP2C19. Наибольшее влияние на метаболическую активность оказывают варианты CYP2C19\*2 и CYP2C19\*3 (замены Gly681Ala и Gly636Ala соответственно), более чем в 90 % случаев связанные со сниженной активностью цитохрома. Носительство же полиморфизма CYP2C19\*17 (замена Cys806Thr) связывают с усиленным метаболизмом субстратов (табл. 3, 4) [4].

Таблица 2

#### Механизмы, способствующие вариабельности терапевтического ответа на клопидогрель

Генетические факторы	Клеточные факторы	Клинические факторы
Полиморфные варианты генов: MDR1 Изоформы CYP P2Y <sub>12</sub> GP IIb/IIIa	Ускоренный распад тромбоцитов	Ошибочное назначение
	Усиление действия АДФ	Низкий комплаенс
	Снижение активности цитохромов CYP450	Недостаточная дозировка
	Дополнительные пути регуляции активности рецепторов P2Y <sub>1</sub> , P2Y <sub>12</sub> .	Сниженное всасывание
		Лекарственные взаимодействия
		Курение
		Сахарный диабет/инсулинорезистентность
	Избыточная масса тела	

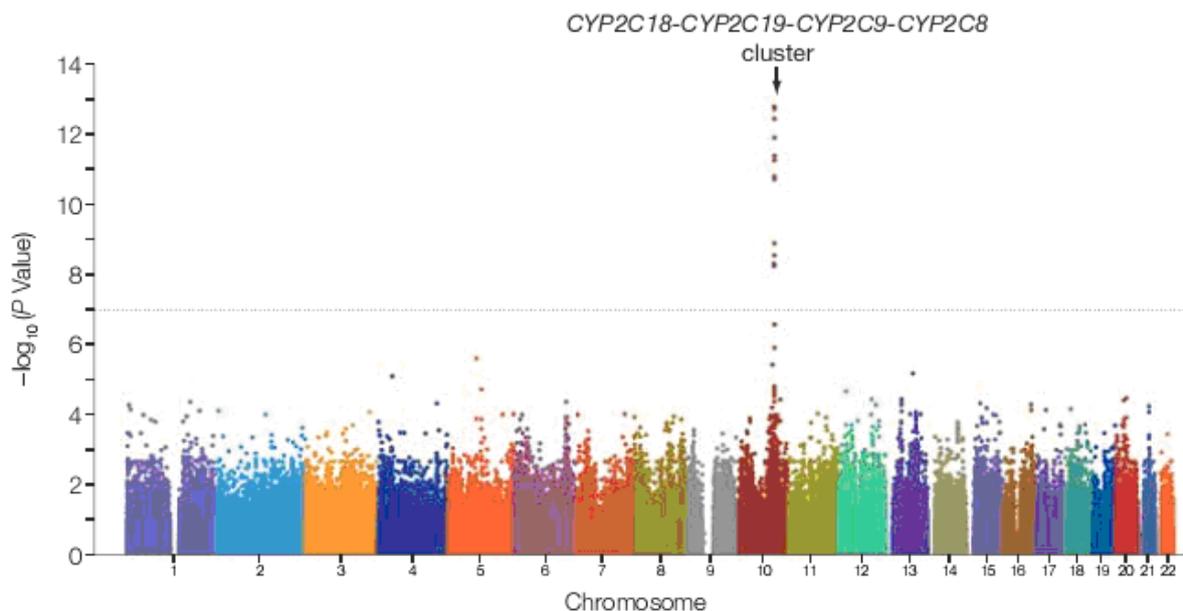


Рис. 4. Всегеномное исследование ассоциаций с реакцией АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на клопидогрель.

Таблица 3

Полиморфные варианты гена CYP2C19 и связанные с ними изменения активности цитохрома CYP2C19

Вариант	Действие	Частота аллелей	Частота носительства
*2 (rs4244285)	Снижение функции (доминантный)	15 %	25 %
*3 (rs4986893)	Снижение функции	< 1 %	< 1 %
*4 (rs28399504)	Снижение функции (рецессивный)	< 1 %	2 %
*17 (rs12248560)	Повышение функции	20 %	35 %

Таблица 4

Типы метаболизма в зависимости от генотипа CYP2C19

Тип метаболизма	Генетические варианты
Ультрабыстрый	*17/*17, *1/*17
Экстенсивный	*1/*1
Промежуточный	*1/*2, *1/*3
Сниженный	*2/*2, *2/*3, *3/*3
Неизвестно	*2/*17, *3/*17

В последние годы проводилось несколько исследований, в которых изучалась связь способствующего снижению функции фермента полиморфизма CYP2C19\*2 с клиническими результатами применения клопидогреля. Так, была попытка определить, связано ли наличие полиморфизма CYP2C19\*2 с высокой остаточной агрегацией тромбоцитов (более 14 %) и влияет ли высокая остаточная агрегация тромбоцитов после приема клопидогреля на клинический исход после плановой имплантации коронарного стента [13]. В результате было показано, что пациенты-носители хотя бы одного аллеля CYP2C19\*2 имеют более высокую реактивность тромбоцитов после приема клопидогреля, что ассоциируется с плохим клиническим исходом после установки коронарного стента.

Низкая активность фермента ассоциирована с риском развития инфаркта миокарда или ишемического инсульта – у пациентов со сниженной активностью фермента отмечалось увеличение риска смерти от сердечно-сосудистых событий на 53 %, что было показано в исследовании TRITON-TIMI 38 [19]. Кроме того, некоторые варианты гена могут быть ассоциированы с риском тромбозов установленных стентов (рис. 5) [12, 19].

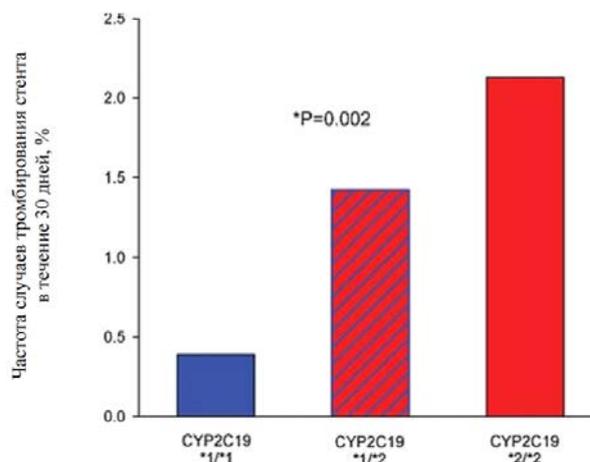


Рис. 5. Полиморфные варианты гена CYP2C19 и частота тромбирования стентов.

В то же время существуют полиморфизмы данного гена, такие, как CYP2C19\*17, приводящие к повышению активности цитохрома CYP2C19, что обуславливает ускоренный обмен субстратов фермента, в том числе и клопидогрела. Это может способствовать увеличению образования активного метаболита препарата и, соответственно, усилению эффекта на принятую дозу [11]. У пациентов в таком случае отмечается увеличение риска кровотечений, особенно у гомозигот по данному аллелю. АДФ-индуцированная агрегация у гомозиготных пациентов наименьшая, а риск кровотечений — максимален (рис. 6). В то же время не отмечалось достоверного влияния CYP2C19\*17 на частоту возникновения тромбозов стентов.

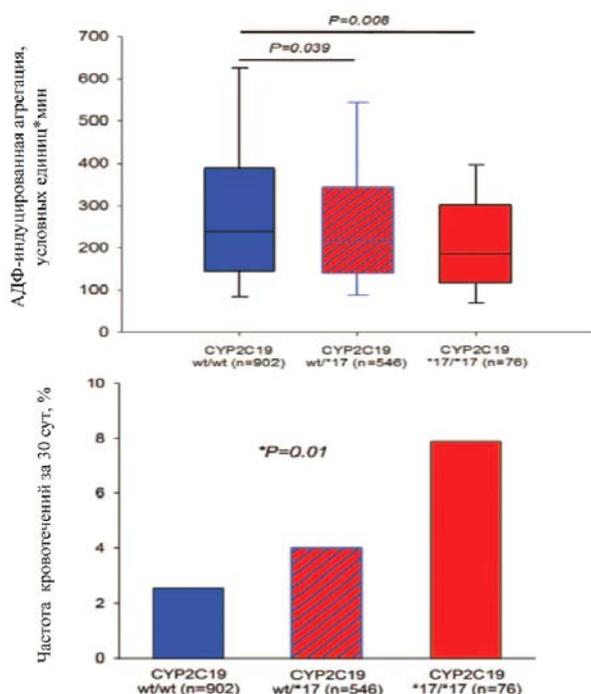


Рис. 6. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и частота кровотечений у носителей разных полиморфных вариантов гена CYP2C19

### Р-ГЛИКОПРОТЕИН, ГЕН MDR1 И ЕГО ПОЛИМОРФИЗМЫ

Другим фактором, оказывающим влияние на метаболизм клопидогрела является активность

Р-гликопротеина. Р-гликопротеин (называемый также ABCB1 или MDR1) представляет собой продукт гена MDR1, локализованного в 7-й хромосоме и содержащего 28 экзонов. В состав белка входят 1280 аминокислотных остатков. Этот гликопротеин является одним из самых хорошо изученных представителей семейства ABC-транспортёров (ATP-binding cassette family). Данная группа белков осуществляет АТФ-зависимый транспорт различных субстратов через цитоплазматическую мембрану.

ABC-транспортёры содержат два блока, представленных полипептидной цепочкой или объединенных в димер. В структуре данных белков имеются нуклеотид-связывающий домен (NBD) и трансмембранный домен, содержащий 6 спиралей. Каждый NBD имеет высококонсервативные А и В мотивы, консервативный С-мотив или линкерный пептид и петли Q, D и H. АТФ-связывающий сайт формируется при взаимодействии участков полипептидной цепи белка. Таким образом, формируется воронка, диаметр которой в самой широкой части достигает 5 нм (50 ангстрем). Центральная часть обладает высоким сродством к субстрату и имеет название «on-site», в то время как самая широкая часть характеризуется низкой аффинностью и носит название «off-site» [5].

Работа Р-гликопротеина в настоящее время рассматривается как механизм, защищающий организм от ксенобиотиков, ограничивая их абсорбцию из желудочно-кишечного тракта и обеспечивая их выделение из клеток в желчь или мочу. Кроме того, Р-гликопротеин обеспечивает защиту мозга, яичек и тканей плода, благодаря экспрессии этого белка в гистогематических барьерах (табл. 5), кроме того MDR1 и PHK были обнаружены в лейкоцитах следующих групп: CD56<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD15<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD14<sup>+</sup>.

Р-гликопротеин имеет широкую субстратную специфичность и способен транспортировать множество структурно несходных веществ. Чаще всего субстраты являются гидрофобными или амфифильными.

В настоящее время обнаружено более 20 SNP в гене MDR1. Большая часть полиморфизмов не приводит к изменению активности белка, но может влиять на синтез мРНК и ее стабильность. Но имеются также и варианты, приводящие к изменению активности данного белка. По имеющимся данным,

Таблица 5

Клеточная локализация Р-гликопротеина в тканях

Ткань	Локализация	Функция
Тонкая и толстая кишка	Апикальная (люминальная) мембрана эпителиоцитов	Секреция ксенобиотиков в просвет кишки
Печень	Канальцевая мембрана гепатоцитов	Секреция ксенобиотиков в желчь
Почки	Апикальная мембрана эпителиоцитов проксимальных канальцев	Секреция ксенобиотиков в просвет канальцев
Центральная нервная система	Люминальная мембрана эндотелиоцитов, формирующих гематоэнцефалический барьер	Защита ЦНС от действия ксенобиотиков
Яички	Эндотелиоциты капилляров	Гемато-тестикулярный барьер
Плацента	Трофобласт	Защита плода от действия ксенобиотиков

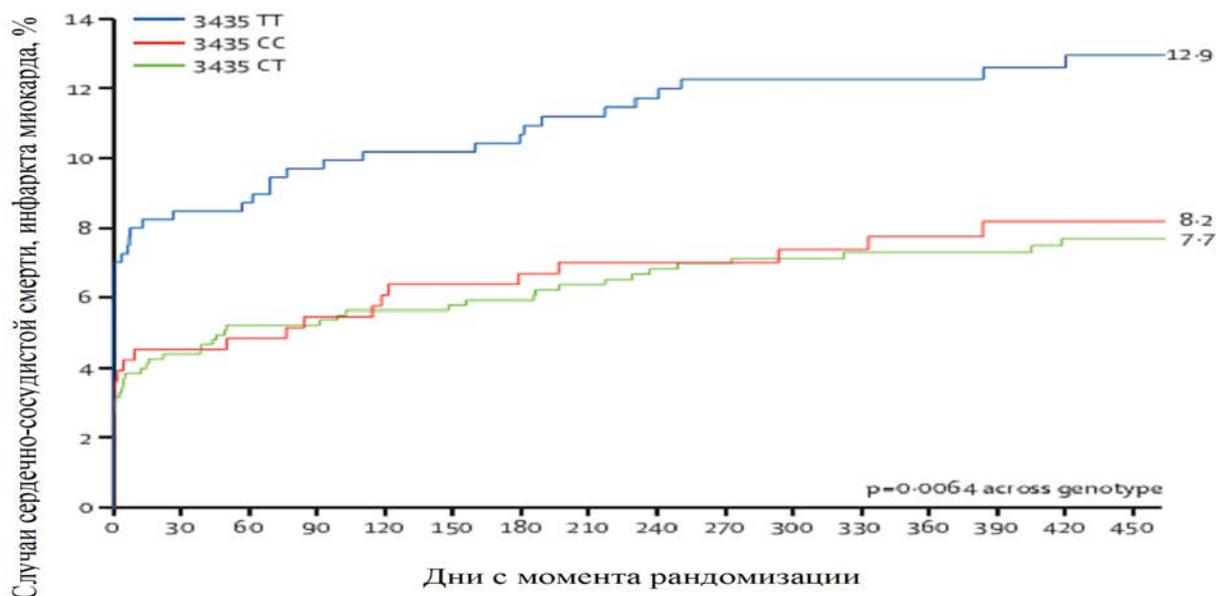


Рис. 7. Гаплотип MDR1 3435C→T и сердечно-сосудистые события у пациентов, получающих клопидогрель.

гаплотип С3435Т (замена цистеина на треонин) связан со снижением активности Р-гликопротеина. Это в свою очередь влияет на всасывание многих лекарственных субстратов, в том числе и клопидогреля. Показано, что для носителей гаплотипа С3435Т характерно снижение концентрации активного метаболита клопидогреля в плазме, что связывают с ухудшением клинического прогноза (рис. 7) [18, 19].

Таким образом, полиморфные варианты генов CYP2C19 и MDR1 становятся факторами, влияющими на всасывание клопидогреля и его метаболизм, что изменяет его активность и, как следствие, терапевтический эффект. Следовательно, определение полиморфизмов этих генов может быть удобным методом в процессе подбора оптимальной дозы клопидогреля перед началом терапии. Нет сомнений, что детальная разработка молекулярно-генетических подходов в антитромбоцитарной терапии клопидогрелем приведет к улучшению клинических исходов и будет способствовать улучшению качеству жизни пациентов.

*Работа выполнена при поддержке Проекта партнерских фундаментальных исследований СО РАН № 91.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Грацианский Н.А. Национальные рекомендации по лечению ОКС без стойкого подъема ST на ЭКГ // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2006. — Вып. 8, № 5. — С. 411—440.
2. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий / А.Л. Сыркин, В.А. Сулимов, И.Г. Фомина [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. — 2005. — Вып. 4, № 4. — Р. 475—508.
3. Национальные рекомендации по диагностике и лечению стабильной стенокардии / Р.С. Акчурин, Ю.А. Васюк, Ю.А. Карпов [и др.]. — М., 2009.

4. Ahmad T., Voora D., Becker R.C. The pharmacogenetics of antiplatelet agents: towards personalized therapy? // Nat. Rev. Cardiol. — 2011. — Vol. 8. — N 10. — P. 560—571.

5. Ambudkar S.V., Kim I.W., Sauna Z.E. The power of the pump: mechanisms of action of P-glycoprotein (ABCB1) // Eur. J. Pharm. Sci. — 2006. — Vol. 27, N 5. — P. 392—400.

6. Angiolillo D.J., Ferreiro J.L. Platelet adenosine diphosphate P2Y12 receptor antagonism: benefits and limitations of current treatment strategies and future directions // Rev. Esp. Cardiol. — 2010. — Vol. 63, N 1. — P. 60—76.

7. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy / A.R. Shuldiner, J.R. O'Connell, K.P. Bliden [et al.] // J. Am. Med. Assoc. — 2009. — Vol. 302, N 8. — P. 849—857.

8. Chua D., Legal M., Shalansky S.J. Clopidogrel plus aspirin in atrial fibrillation // N. Engl. J. Med. — 2009. — Vol. 361, N 13. — P. 1312—1313.

9. Clopidogrel, haemorrhage and haematological disorders // WHO Drug Information. — 2004.

10. Clopidogrel: new use / Ed. C. Encrenaz // WHO Drug Information. — 2006. — P. 199.

11. Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement / D. Sibbing, W. Koch, D. Gebhard, [et al.] // Circulation. — 2010. — Vol. 121, N 4. — P. 512—518.

12. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention / D. Sibbing, J. Stegherr, W. Latz [et al.] // Eur. Heart J. — 2009. — Vol. 30, N 8. — P. 916—922.

13. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of

elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents / D. Trenk, W. Hochholzer, M.F. Fromm [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2008. – Vol. 51, N 20. – P. 1925–1934.

14. Davi G., Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis // N. Engl. J. Med. – 2007. – Vol. 357, N 24. – P. 2482–2494.

15. Effect of clopidogrel added to aspirin in patients with atrial fibrillation / S.J. Connolly, J. Pogue, R.G. Hart [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 360, N 20. – P. 2066–2078.

16. Fromm M.F. The influence of MDR1 polymorphisms on P-glycoprotein expression and function in humans // Adv. Drug. Deliv. Rev. – 2002. – Vol. 54, N 10. – P. 1295–1310.

17. Fuster V. Fine-tuning therapy for acute coronary syndromes // N. Engl. J. Med. – 2010. – Vol. 363, N 10. – P. 976–977.

18. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events / T. Simon, C. Verstuyft,

M. Mary-Krause [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 360, N 4. – P. 363–375.

19. 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. Mega, S.D. Wiviott [et al.] // Lancet. – 2010. – Vol. 376, N 9749. – P. 1312–1319.

20. Pisters R., Dinh T., Crijns H.J. Clopidogrel plus aspirin in atrial fibrillation // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 361, N 13. – P. 1312.

21. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives / D.J. Angiolillo, A. Fernandez-Ortiz, E. Bernardo [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2007. – Vol. 49, N 14. – P. 1505–1516.

22. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals / V.L. Serebruany, S.R. Steinhubl, P.B. Berger [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. – 2005. – Vol. 45, N 2. – P. 246–251.

#### Сведения об авторах

**Кнауэр Надежда Юрьевна** – студентка 6 курса медицинского факультета ФГБОУ ВПО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2)

**Лифшиц Галина Израилевна** – доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией персонализированной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (630090, г. Новосибирск, просп. Академика М.А. Лаврентьева, 8; тел.: (383) 333-15-94)