

Клинична и фармакогеномна оценка на рутинно използваните антиагреганти и антикоагуланти – опит за персонализирано лечение на пациенти с мозъчен инсулт

Доц. Димитър Масларов¹, г-р Десислава Дренска¹, г-р Любина Тодорова², г-р Олга Мицова³, член-кор. проф. Мила Власковска⁴

¹Клиника по неврология, Първа МБАЛ, София

²Изпълнителна агенция по лекарствата

³Университетска болница „Лозенец“

⁴Катедра по фармакология и токсикология, МУ, София

Резюме

Актуалната дефиниция за персонализирана медицина е „наука за индивидуализираната профилактика и терапия“. Фармакогеномиката използва индивидуалния генотип в помощ на избора на терапия, определяне на индивидуалната доза, като крайната идея е извличане на максимална ефективност при минимални странични ефекти за конкретния пациент. Генетичните варианти, които влияят върху метаболизма на аспирин, клопидогрел и аценокумарол, могат да бъдат идентифицирани и да се определят хората, които са резистентни, както и да бъдат избегнати редица странични ефекти. Все още обаче клиничното прилагане на тези данни не е широко прилагано. Нашето наблюдение върху малък брой пациенти с мозъчен инсулт потвърждава литературните данни.

Ключови думи: персонализирана медицина, антитромботици, антикоагуланти, резистентност към клопидогрел, резистентност към аценокумарол

Clinical and Pharmacogenomic assessment of routine used antithrombotics and anticoagulants – an effort for personalized treatment of stroke patients

Dimitar Maslarov¹, Desislava Drenska¹,

Lyubina Todorova², Olga Micova³, Mila Vlaskovska⁴

¹Neurology Clinic, 1st MHAT-Sofia, Bulgaria

²Bulgarian Drug Agency

³University Hospital „Lozenetz“

⁴Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, Medical University, Sofia

Abstract

The current description of personalizes medicine by the National Institutes of Health is “the science of individualized prevention and therapy”. Pharmacogenomics uses an individual's genotype to assist in choosing therapies and identifying the optimal dose, with the aim of ensuring maximum efficacy with minimal adverse effects. Genetic variants affecting aspirin, clopidogrel and acenocoumarol metabolism may identify non-responders and reduce side-effects, but their use has not yet widely adopted in clinical practice. Our observational data on a small part of Bulgarian population with stroke confirm literature data.

Key words: personalized medicine, antithrombotics, anticoagulants, clopidogrel resistance, acenocoumarol resistance

Въведение

Актуалната дефиниция за персонализирана медицина (ПМ) на National Institutes of Health на САЩ е „наука за индивидуализираната профилактика и терапия“. Лекарите в последните години обръщат поглед със сериозни очаквания към ПМ с надеждата, че бързото развитие на технологиите, информацията и компю-

терните науки ще доведе до революция в предсказването на заболяванията и тяхното персонализирано лечение. ПМ е научен подход, който предполага индивидуализиране на лечението и здравните грижи с решения и практики, съобразени с всеки отделен пациент чрез използването на генетична или друга информация. Този медицински модел се основава на

наблюдението, че пациенти с еднаква диагноза реагират на едно и също лечение по различен начин. Едно и също лекарство може да бъде много ефективно за един пациент и да не води до желани резултати при друг пациент със същата диагноза. ПМ има потенциала да повиши ефикасността и безопасността на лечението. Това е подход, който се основава на все по-прецизното разбиране на различията между пациентите, на молекулярната основа на болестите и на това как действат лекарствата.

Съвременните изследвания в областта на ПМ разглеждат следните въпроси:

- ✦ индивидуални рискови фактори за поява на гадено заболяване;
- ✦ биологични и други фактори, които допринасят за развитие на заболяването;
- ✦ ефективност на гадено лекарство при конкретния пациент;
- ✦ наследствени или придобити индивидуални за пациента фактори, които влияят върху ефективността или водят до нежелани ефекти от лекарствата.

Мозъчният инсулт е хетерогенно заболяване. Той представлява клиничен синдром на фокален неврологичен дефицит, най-често с внезапно начало, дължащ се на нарушена доставка на кръв към мозъка. Трите основни причини за мозъчен инфаркт са: стенози на големи артерии, заболяване на малките съдове и кардиоемболизъм. Към тях могат да се добавят още каротидни или вертебрални дисекции, васкулити и генетични фактори (напр. CADASIL). Освен това съществуват и генетични вариации на лекарствен метаболизъм към най-често използваните антитромбоцитни медикаменти и антикоагуланти, които имат отношение към лекарствената ефективност и нежеланите лекарствени реакции.

Едната област, където персонализираната медицина може да намери ранно приложение, е фармакогеномиката (ФГ). Генетичните вариации влияят върху лекарственния метаболизъм, лекарствената ефикасност и не на последно място – върху риска от свързани с лекарственния продукт нежелани реакции. ФГ използва индивидуалния генотип в помощ на избора на терапия, определяне на индивидуалната доза, като крайната идея е извличане на максимална ефективност при минимални нежелани реакции за конкретния пациент. В допълнение към това, ФГ може да даде нова светлина по отношение на механизми на действие, което да допринесе за развитие на нови терапевтични стратегии. В настоящия момент ФГ намира доста ограничено приложение в рутинната клинична практика и терапия по отношение на мозъчните инсулти. Две са потенциално обозримите насоки – прецизиране на антитромбоцитната и антитромбоцитната терапия.

Целта на настоящото изследване е проследяване на клиничната ефективност от приложението на аспирин, клопидогрел и аценокумарол за вторична профилактика на пациенти с мозъчен инфаркт на база оценка на „резистентност към аспирин, клопидогрел и аценокумарол“.

Аспирирът е комерсиализиран през 1897 г. като аналгетик и антипиретик. По-късно са открити и неговите антиромбоцитни свойства. Това негово действие обаче не се проявява при всички хора. Различни изследвания са показали, че най-много между 8% и 45% от хората са „резистентни към аспирин“ и има много причини за появата на резистентност. Дори носители само на една малка промяна в гена на ITGB3 не реагират на аспирин. Този ген кодира гликопротеин IIIa, който се намира на повърхността на тромбоцитите, които са от съществено значение за съсирването на кръвта. Неефективността на аспирина при предотвратяване на съсирването на кръвта е установена при хора с rs5918 (C, C) и rs5918 генотип (CT), като тези генотипи могат да бъдат определени чрез различни анализи. Няма практика това изследване да се извършва рутинно, включително и в България.

Клопидогрел се препоръчва навсякъде по света за вторична профилактика на мозъчния инфаркт. Той е по-ефективен от самостоятелно прилаган аспирин. Едновременно прилагане на аспирин и дупиридабол показва сходна ефективност с тази на клопидогрел. Между 5% и 30% от приемащите клопидогрел пациенти показват ниска или липсваща ефективност към клопидогрел, която е известна с термина „резистентност към клопидогрел“. В организма клопидогрел се трансформира до активен метаболит с помощта на системата цитохром P450 (CYP). Различни CYP изоензими са отговорни за активацията на клопидогрел и сред тях CYP2C19 играе ключова роля. Около 25–30% от човешката популация са носители на CYP2C19*2 и те имат с една трета намаляване на активния метаболит на клопидогрел, сравнени с останалата популация^{5, 8}. Около 2% от хомозиготните индивиди за полиморфизъм показват още по-висока редукция на активния метаболит и на неговата ефективност върху тромбоцитната агрегация.

Аценокумарол намалява риска от инсулт при пациенти с неклапно предсърдно мъждене и се използва също при пациенти с други кардиачни лезии, свързани с повишен риск от кардиоемболизъм: протезирани сърдечни клапи и muralen тромб. Широката вариативност на лекарственния отговор означава, че се изисква мониториране на кръвната коагулация с INR (International Normalized Ratio) с цел поддържане на прицелен терапевтичен индекс. При дозирането трябва да се има предвид риска от тромбоза при ниска антикоагулация или хеморагия при висо-

ка антикоагулация. Варфарин е втората водеща лекарство-свързана причина за посещения от бърза помощ¹² и най-често цитираната причина за лекарствена смъртност¹² в САЩ.

Множество са генетичните варианти, които имат влияние върху нивата на аценокумарол. Аценокумарол е кумариново производно и действа като антагонист на витамин К. Антагонистите на витамин К проявяват антикоагулантния си ефект като инхибират витамин К-епоксиг-редуктазата, с последваща редукция на гама-карбоксилуването на определени молекули на глутаминовата киселина¹⁶. Тези молекули са разположени в близост до терминалните участъци на факторите на кръвосъсирването II, VII, IX и X и протеин С или неговия кофактор протеин S. Аценокумарол е рацемична смес от оптични S (-) и R (+) енантиомери. Основните метаболити са хидроксилираните на шесто и седмо място енантиомери на аценокумарол, а цитохром P4502C9 е основният катализатор на тези четири метаболита. Други ензими, които участват в метаболизма на R-аценокумарол, са CYP1A2 и CYP2C19. Два общи CYP2C9 алоензими носят изразено редуцирана ензимна активност. Доказано е, че пациенти, които изискват ниска поддържаща доза аценокумарол (на базата на INR стойности), носят единия или двата от тези общи вариантни алели. Тези пациенти са с повишен риск от кръвене по време на лечението, най-вероятно поради факта, че метаболизират лекарството по-бавно¹³. Комплексът витамин К-субединица 1 на епоксиг-редуктазата е таргет на аценокумарол-базираните антикоагуланти, като SNP в гена VKORC1 също са свързани с дозата на аценокумарол, необходима за постигане на таргетните INR нива. Сумирано, CYP2C9 плюс VKORC1 обясняват между 30% и 40% от общите вариации в поддържащата доза на аценокумарол. С цел прецизиране в тази насока са провеждани и редица клинични проучвания¹⁶.

Използвани методи

Проследени са 536 пациенти с мозъчен инфаркт, хоспитализирани в рамките на три години в клиниката по неврология в Първа МБАЛ в София. Триста и двадесет от тях са провеждали вторична профилактика с аспирин, 186 – с клопидогрел, а останалите 30 са провеждали лечение с аценокумарол по повод на предсърдно мъждене.

Двадесет и четирима от провеждащите антиагрегантна терапия с клопидогрел са провели изследването MEA – съвременен експресен метод за измерване на тромбоцитната агрегация посредством MEA (multiple electrode aggregometry). Изследването се основава на импедансната агрегометрия в пълноценна кръв. Резистентност на клопидогрел е

дефинирана при стойности над 47 единици AUC според MEA изследването.

Пациентите, провеждащи лечение с аспирин и аценокумарол, са проследявани само по клинични критерии за нов мозъчно-съдов инцидент.

Резултати и обсъждане

От проследените двадесет и четирима пациенти, провеждали лечение с клопидогрел и провели изследването MEA, само трима са показали резистентност. Шест от проведените изследвания са рехоспитализирани за трети път в рамките на две години и никой от тях не е от групата с клопидогрел-резистентност.

От пациентите, провеждали вторична профилактика с аспирин, има отбелязани двадесет и две повторни хоспитализации и три – за трети път. От всички тях деветнадесет са с нов мозъчен инфаркт и трима – с интрацеребрален хематом.

От тридесет пациенти, приемали аценокумарол по повод на предсърдно мъждене, има девет рехоспитализации, шест от които по повод на интрацеребрална хеморагия и една – със субарахноидна хеморагия.

Получените резултати имат потвърдителен характер по отношение на ефективност и безопасност от прилагането на *клопидогрел* за вторична профилактика при мозъчен инфаркт. Проведените повече от 30 клинични проучвания^{7, 9} показват, че може да бъде потърсена връзка между CYP2C19 полиморфизма и лекарствената ефективност на клопидогрел. Проучването CHARISMA показва, че носителите на алела CYP2C19 с нарушена характеристика нямат по-висока честота на исхемичните събития, но имат сигнификантно по-ниска честота на кръвене при прием на клопидогрел¹¹. FDA и American Heart Association (AHA) са на различно мнение по темата. FDA през 2010 г. разпореди в листовката към медикамента клопидогрел да бъде включен изрза „...необходимо е провеждане на генетично тестване, което да идентифицира бавните метаболитизатори...“¹⁰. АНА счита, че няма достатъчно данни към настоящия момент, които да препоръчват рутинното генетично или тромбоцитно функционално изследване. Дискусията продължава⁹ с аргументи *за* и *против* рутинното изследване на стентирани или нестентирани пациенти с коронарна исхемия или мозъчен инфаркт. Актуалните литературни данни включват 32 проучвания и мета-анализи, обхващащи повече от 42 000 пациенти. От тях шест рандомизирани проучвания са фокусирани върху риска от сърдечно-съдово събитие и риска от кръвене. При анализа на резултатите очаквано се показва, че носителите на един или повече алели CYP2C19 имат по-нисък риск от кръвене и по-висок риск от съдови събития. Повечето

проучвания върху CYP2C19 полиморфизма са върху коронарна артериална болест, но от генетичното проучване CHARISMA (Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance) се публикуваха следните данни: около 20% от 4819 генотипизирани пациенти имат като включващ критерий исхемичен мозъчен инсулт. Носителите на алели CYP2C19 за липса на функция не са показали повишен риск от исхемични събития, но са показали сигнификантно по-малка честота на кръвене по време на провеждането на терапията с клопидогрел.

Редица български публикации^{1, 2-4, 6} сочат, че между 4% и 30% от пациентите, лекувани с конвенционални дози клопидогрел, не показват адекватен антитромботичен отговор. Всъщност истински не отговарят на лечението с клопидогрел около 4% от българите (т.нар. абсолютна резистентност), което е много ниско ниво, а останалите пациенти са с т.нар. относителна резистентност, която може да се компенсира с по-висока доза от медикамента.

През февруари 2010 г. FDA разпореди ревизия на листовката на Варфарин, с дописването на генотипно-специфични граници на дозиране и с препоръката генотипът да се взема под внимание при предписване на лекарството. Подобно предупреждение е включено и в кратката характеристика на продуктите, съдържащи Варфарин, намиращи се на европейския пазар (Genetic variability particularly in relation to CYP2C9 and VKORC1 can significantly affect dose requirements for warfarin. If a family association with these polymorphisms is known extra care is warranted). В България на настоящия етап няма разрешени за употреба лекарствени продукти, съдържащи това активно вещество.

CYP2C9 и VKORC1 генотипирането вече са достъпни за клиницистите, тъй като има на разположение алгоритми за това в интернет¹⁴. Въпреки тези препоръки обаче, въвеждането в клиничната практика се случва много бавно. Може би една от причините за това е въвеждането на новите антикоагуланти, които са с по-широки терапевтични граници. Освен това механизмът им на действие е по-различен, а са показали не по-малка ефективност от тази на аценокумарола при профилактиката на мозъчния инсулт и напоследък са предпочитани при пациенти, на които терапията с аценокумарол е трудна за поддръжка или са с повишен риск от кръвене.

Заклучение

Антитромботичното лечение с аспирин и клопидогрел е един от главните стълбове за вторична профилактика при мозъчни инфаркти. Въпреки доказаната ефективност от тези лекарства, те не свеждат до нула повторните мозъчно-съдови инциденти. Приложението на аспирин намалява честотата на

повторните мозъчни инфаркти с около 20%. Другият основен антитромботичен медикамент – клопидогрел, е малко по-ефективен от аспирин. Едновременно прилагане на аспирин и дупиридамомл показва сходна ефективност с тази на клопидогрела. В част от тези случаи е налице пълна или частична, клинична или лабораторна резистентност към действието на клопидогрел и аспирин.

Аценокумарол има своите абсолютни показания при пациенти с предсърдно мъждене, при спазване на всички изисквания за проследяване и персонализиране на дозата.

Описаните литературни данни по отношение на клопидогрел и аценокумарол доказват нуждата от прилагането на постиженията на фармакогеномиката, но в същото време и трудностите от прилагането на това познание^{5, 15}.

С нарастване на достоверността, получена на основата на медицината и базирана на доказателствата и на резултатите от големи рандомизирани клинични проучвания, получаваме по-голяма увереност при персонализиране на академичните данни към всеки отделен пациент в ежедневната практика.

Извършеният анализ на литературните данни показва ползите и трудностите при имплементиране на наличната научна информация, както и нуждата от продължаване на изследванията върху по-голяма кохорта пациенти. Данните от разширеното собствено наблюдение по отношение на лекарствената ефикасност при вторична профилактика на исхемичния мозъчен инсулт не ни дават основание да провеждаме рутинна профилактична оценка на тромботично функционално тестване при всички пациенти.

Литература

1. Гочева Н., Д. Аврамов. Резистентност към лечението с аспирин и клопидогрел. – *Наука Кардиология*, 2007, № 2, 59–63.
2. Гочева Н., Д. Аврамов, И. Паскалева. Резистентност към лечението с аспирин и клопидогрел. – *MEDINFO*, 2007, № 1, 32–36; *Наука Кардиология*, 2007, № 2, 59–63.
3. Паскалева И., Н. Гочева, Д. Динева, Б. Георгиев, В. Байчева. Ефект на клопидогрел (Actavis) върху АДФ-индуцираната тромботична агрегация, проследен в 30-дневен период. – *Наука Кардиология*, № 3, 140–144.
4. Цвеова В., А. Миткова, И. Паскалева, Р. Кънева, В. Милев. Роля на генетичните фактори при определяне на клиничната ефикасност на клопидогрел. – *Сърдечно-съдови заболявания*, 44, 2013, № 1, 16–29.
5. Markus, H. S. Stroke genetics: prospects for personalized medicine. – *BMC Medicine*, 2012, № 10, 113–122.
6. Saraeva, R. B., I. D. Paskaleva, E. Doncheva, EAP C. B., V. S. Ganev. Pharmacogenetics of acenocoumarol: CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and dose requirements. – *J Clin Pathol and Ther*, 2007, № 32, 641–649.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.