

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ ТЕРАПИИ У ЛИЦ С НАРУШЕНИЕМ СЕРДЕЧНОГО РИТМА ПРИ УМЕРЕННОМ И ИЗБЫТОЧНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ АЛКОГОЛЯ

Николаев Н. А.¹, Индутный А. В.¹, Скирденко Ю. П.¹, Новиков Д. Г.¹, Шустов А. В.², Горбунова Л. В.¹, Жеребилов В. В.¹

¹ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Омск, Россия;

²БУЗОО «Клинический кардиологический диспансер», Омск, Россия, e-mail: niknik.67@mail.ru

Изучен полиморфизм Arg144Cys гена CYP2C9 (Аллель CYP2C9*2) и Ile359Leu гена CYP2C9 (Аллель CYP2C9*3), кодирующих белок цитохром P450 2C9, и C+1173T, G+3730A и G+3673A гена VKORC1, влияющих на активность филлохинон-эпоксид-редуктазы у больных мерцательной аритмией жителей Западной Сибири. Показано, что одновременное сочетание полиморфизма CYP2C9 и VKORC1 создаёт широкий круг ситуаций, способных в разной степени снижать качество и повышать риски антикоагулянтной терапии, что приводит к необходимости – либо корректировать терапию антикоагулянтами с учётом индивидуально полученных данных, либо проводить антикоагулянтную терапию средствами, не метаболизирующимися в системе P450 2C9 и не взаимодействующими с филлохинон-эпоксид-редуктазой. При этом отдельный интерес представляет впервые выявленная значимо меньшая доля полиморфизма Arg144Cys гена CYP2C9 (аллель CYP2C9*2) в подвыборке злоупотребляющих алкоголем, в первую очередь – женщин. С учётом высокой частоты выявленного полиморфизма предложено выполнять фармакогенетический тест в качестве обязательного метода обоснования выбора и модификации антикоагулянтной терапии, а у больных с высокими кумулятивными рисками геморрагических и тромбоземболических осложнений на фоне применения непрямых антикоагулянтов, при невозможности оценки полиморфизма, терапию следует проводить прямыми ингибиторами тромбина, либо прямыми ингибиторами Ха фактора свертывания.

Ключевые слова: генетический полиморфизм, гемостаз, мерцательная аритмия, злоупотребление алкоголем.

GENETIC FACTORS OF EFFECTIVENESS OF ANTICOAGULATION IN PATIENTS WITH HEART RHYTHM DISORDERS AT MODERATE AND EXCESSIVE USE OF ALCOHOL

Nikolayev N.A.¹, Indutny A.V.¹, Skirdenko Y.P.¹, Novikov D.G.¹, Shustov A.V.², Gorbunova L.V.¹, Zherebilov V.V.¹

¹State Funded Educational Institution for Higher Professional Education Omsk State Medical University Ministry of Public Health, Russian Federation;

²Budgetary healthcare institution Clinical cardiological clinic, Omsk, Russian Federation, e-mail: niknik.67@mail.ru

Studied polymorphism Arg144Cys gene CYP2C9 (allele SYP2C9*2) and Ile359Leu gene CYP2C9 (allele SYP2C9*3) encoding the protein Cytochrome P450 2C9, and C+1173T, G+3730A and G+3673A gene VKORC1, affecting Activity phylloquinone-epoxide reductase in patients with atrial fibrillation of Western Siberia. It is shown that the simultaneous combination of polymorphism of CYP2C9 and VKORC1 creates a wide range of situations, can in varying degrees to reduce the quality and increase the risk of anticoagulation, which leads to the need – or adjust anticoagulation therapy based on individual findings or anticoagulation agents, is not metabolized in 2C9 P450 system and do not interact with phylloquinone epoxide reductase. This is of particular interest for the first time identified a significantly smaller proportion of polymorphism Arg144Cys gene CYP2C9 (SYP2C9 allele*2) in the subsample of alcohol abuse in the first place – for women. Given the high frequency of detection of polymorphism invited to perform pharmacogenetic test as a mandatory method justify the selection and modification of anticoagulation, and in patients with high cumulative risk of hemorrhagic and thromboembolic complications during treatment with anticoagulants, if you cannot assess polymorphism, therapy should be administered direct thrombin inhibitor, a direct inhibitor of coagulation factor Xa.

Keywords: genetic polymorphism, hemostasis, vibrating arrhythmia, alcohol.

Фибрилляция предсердий (ФП) – наиболее распространенное нарушение сердечного ритма, с частотой встречаемости 0,4–2 %. ФП является фактором риска инсульта, ввиду

частого развития тромбоемболий, достигающих 5 % в год, при этом смертность таких пациентов в 2–5 раз выше по сравнению с сохраняющими синусовый ритм [1, 3]. Риск развития тромбозоэмболических осложнений (ТЭО) у больных ФП принято оценивать по шкале CHA2DS2VASc, при этом пациентам среднего и высокого риска ТЭО с неклапанной ФП назначение антикоагулянтов необходимо. Также необходимо их назначение всем пациентам с клапанной этиологией фибрилляции предсердий [2]. Наиболее часто в качестве антикоагулянта используются антагонисты витамина К (варфарин и аналоги).

Достижение и удержание целевого МНО при приеме варфарина обеспечивает снижение общего риска развития ишемического инсульта на 67 %. Основным недостатком варфарина является его узкий терапевтический коридор, что приводит к риску кровотечений, либо к гиперкоагуляции. В силу генетически обусловленной вариабельности метаболизма варфарина расчёт дозы почти всегда требует индивидуального подхода, при этом трудности в назначении и риск осложнений остаются серьёзной проблемой. Новым подходом является персонализированный подбор дозы варфарина по результатам фармакогенетических исследований. Главным ферментом биотрансформации непрямых антикоагулянтов является цитохром P450 2C9 (ген CYP2C9). Изменение его активности под действием различных факторов, прежде всего генетических, приводит к клинически значимым изменениям концентрации препаратов. Следует также отметить, что на активность цитохрома P450 2C9, а соответственно и на особенности метаболизма антикоагулянтов, наряду с генетическими факторами, влияет метаболизм этим цитохромом других лекарственных препаратов и токсинов, среди которых наиболее частым является этанол. Так было показано, что у злоупотребляющих алкоголем лиц с фибрилляцией предсердий наблюдается недостаточная эффективность антикоагулянтной терапии [4].

Варфарин действует, подавляя активность субъединицы 1 фоллохинон-эпоксидредуктазного комплекса, кодируемой геном VKORC1. Носительство полиморфных аллелей этого гена приводит к понижению активности фермента фоллохинон-эпоксидредуктазы, что выражается в более низкой дозе варфарина, требующейся для достижения безопасной гипокоагуляции [5].

В настоящее время во всём мире, в т.ч. и в России, исследуют распространённость аллелей CYP2C9 и VKORC1. В российской популяции частота генотипов, содержащих полиморфные аллели CYP2C9 (CYP2C9*2 и CYP2C9*3), составляет 20–35 %, а частота гомозиготного носительства полиморфного аллеля G+3673A гена VKORC1 – 13 %, что сопоставимо с европейскими этническими группами. Популяция Западной Сибири, имеющая свои этнические, исторические особенности формирования и высокое количество

«монголоидных» генов в отношении распространенности мутаций CYP2C9, VKORC1, изучена пока крайне незначительно.

Цель исследования

Выявить частоту распространённости генетического полиморфизма аллелей rs1799853 (Arg144Cys, CYP2C9*2) и rs1057910 (Ile359Leu; CYP2C9*3) гена CYP2C9; rs9934438 (C+1173T), rs7294 (G+3730A) и rs9923231 (G+3673A) гена VKORC1 у больных мерцательной аритмией и оценить её особенности у больных, злоупотребляющих алкоголем.

Материал и методы

В исследование было включено 62 пациента 35–85 лет (средний возраст 64,12±10,05 лет), из них 28 мужчин 35–85 лет (средний возраст 62,57±11,2 лет) и 34 женщины 45–78 лет (средний возраст 66,03±8,68 лет). У всех пациентов установлен диагноз мерцательной аритмии, в том числе: фибрилляция предсердий у 52 человек (25 мужчин, 27 женщин), Фибрилляция-трепетание предсердий у 8 человек (2 мужчин, 6 женщин), трепетание предсердий у 2 человек (1 мужчина, 1 женщина). Тип мерцательной аритмии: впервые выявленная у 2 человек (1 мужчина, 1 женщина), пароксизмальная – у 23 человек (5 мужчин, 18 женщин), персистирующая (в т.ч. длительно персистирующая) – у 26 человек (14 мужчин, 12 женщин), постоянная – у 11 человек (8 мужчин, 3 женщин). Индекс оценки симптомов EHRA-1 у 1 человека (мужчина), EHRA-2 у 23 человек (11 мужчин, 12 женщин), EHRA-3 у 32 человек (14 мужчин, 18 женщин), EHRA-4 у 5 человек (2 мужчин, 3 женщин). Наблюдение за больными осуществляли в условиях специализированного кардиологического стационара, с выполнением объема исследований, соответствующего требованиям ОСТ 91500.11.0002-2002.

Генетический полиморфизм исследовали с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определяли носительство полиморфных аллелей rs1799853 (Arg144Cys, CYP2C9*2) и rs1057910 (Ile359Leu; CYP2C9*3) гена CYP2C9; rs9934438 (C+1173T), rs7294 (G+3730A) и rs9923231 (G+3673A) гена VKORC1. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови с помощью реактива «ДНК-экспресс кровь» (НПФ «Литех», Россия). Взятие крови проводили из локтевой вены в вакуумную пробирку с ЭДТА («Becton Dickinson», США). ПЦР-исследование выполняли при помощи тест-систем «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», Россия). Этапы выделения и амплификации ДНК осуществляли в соответствии с требованиями, указываемыми производителем. Анализ продуктов амплификации проводили с помощью электрофореза в 3 % агарозном геле. Исследование материала выполняли на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «ОмГМУ» Минздрава России.

Статистическую значимость результатов исследования оценивали методами непараметрической статистики. Вид распределения тестировали критериями Shapiro – Wilkin и χ^2 Kolmogorov – Smirnov. Учитывая объёмы выборок, применяли непараметрические методы, при этом для независимых выборок использовали Mann – Withney U test, для связанных выборок Wilcoxon watched pairs test. Коррелированность признаков оценивали по Spearman (ρ_s) и Kendall (τ). Статистическую обработку материала, построение графиков и таблиц выполняли в программном пакете статистической обработки данных StatSoft Statistica 6.1 for Windows.

Результаты исследования и их обсуждение

При анализе частоты носительства полиморфных аллелей rs1799853 и rs1057910 гена CYP2C9; а также rs9934438, rs7294 и rs9923231 гена VKORC1, была выявлена их высокая распространённость в исследуемых выборках.

Носительство (совместное, или изолированное rs1799853 и rs1057910) полиморфных аллелей гена CYP2C9 у мужчин регистрировали в 39,3 % случаев, у женщин – в 38,2 % случаев, в целом по выборке 38,7 % случаев, при этом носительство полиморфного аллеля rs1799853 было практически равным (21,4 % у мужчин и 23,5 % у женщин), тогда как носительство полиморфного аллеля rs1057910 у мужчин (14,3 %) регистрировали почти в два раза реже, чем у женщин (23,5 %). Носительство полиморфных аллелей (совместное или изолированное rs9934438, rs7294 и rs9923231) гена VKORC1 было зарегистрировано у 100 % мужчин и в 97,1 % случаев у женщин, составляя в целом по выборке 97,8 %. При этом носительство полиморфных аллелей rs9934438 регистрировали у 67,9 % мужчин и 61,8 % женщин, rs7294 – у 75 % мужчин и 64,7 % женщин, и rs9923231 – у 64,3 % мужчин и 63,6 % женщин. В целом то или иное носительство полиморфных аллелей встречалось у всех мужчин и 97,1 % женщин, составляя в целом по выборке 98,4 %.

Анализ распределений в этой же выборке по критерию «злоупотребление алкоголем» продемонстрировал следующие результаты. Частота носительства полиморфных аллелей rs9934438, rs7294 и rs9923231 гена VKORC1, у мужчин и женщин, злоупотребляющих и не злоупотребляющих алкоголем значимо не различалась как внутри этих подгрупп, так и между злоупотребляющими и не злоупотребляющими алкоголем участниками исследования в целом, составляя: по rs9934438 – 62,5 % и 75 % у не злоупотребляющих и злоупотребляющих алкоголь мужчин, 63,3 % и 50 % женщин, и 63 % и 68,8 % в целом по выборке, соответственно; по rs7294 – 75 % и 75 % у мужчин, 63,3 % и 75 % женщин, и 67,4 % и 75 % в целом по выборке, соответственно; по rs9923231 – 62,5 % и 66,7 % у мужчин, 66,7 % и 75 % женщин, и 65,2 % и 68,8 % в целом по выборке, соответственно. При анализе по критерию «злоупотребление алкоголем» частоты носительства полиморфных аллелей

rs1799853 и rs1057910 гена CYP2C9 оказалось, что встречаемость этого признака в анализируемых подвыборках различается статистически значимо. Носительство полиморфного аллеля rs1799853 (Arg144Cys) гена CYP2C9 регистрировали в 26,7 % случаев у не злоупотребляющих алкоголем женщин, и ни в одном случае – у женщин, злоупотребляющих алкоголем, в 25 % и 16,7 % случаев соответственно у мужчин, и в 26,1 % и 12,5 % по соответствующим подвыборкам в целом (Mann-Whitney U test; Z 1,992013; p=0,047). Полиморфный аллель rs1057910 гена CYP2C9 (Ile359Leu) регистрировали в 16,7 % случаев у не злоупотребляющих алкоголем женщин, и ни в одном случае – у женщин, злоупотребляющих алкоголем, в 12,5 % и 16,7 % случаев соответственно у мужчин, и в 12,5 % и 15,5 % по соответствующим подвыборкам в целом (Mann-Whitney U test; Z 2,044279; p=0,059). В целом полиморфизм гена CYP2C9 регистрировали в 43,3 % случаев у не злоупотребляющих алкоголем женщин, и ни в одном случае – у женщин, злоупотребляющих алкоголем, в 37,5 % и 41,7 % случаев соответственно у мужчин, и в 41,3 % и 31,3 % по соответствующим подвыборкам в целом (Mann-Whitney U test; Z 2,03911; p=0,048). Носительство хотя бы по одного полиморфного аллеля генов CYP2C9 и VKORC1 регистрировали у 100 % мужчин как не злоупотребляющих, так и злоупотребляющих алкоголем, у 96,7 % и 100 % женщин, 97,8 % и 100 % по подвыборкам в целом.

Таким образом, носительство полиморфных аллелей rs1799853 и rs1057910 гена CYP2C9; а также rs9934438, rs7294 и rs9923231 гена VKORC1 у обследованных больных мерцательной аритмией оказалось крайне распространённым вне зависимости от их пола и намного превысило ранее известные популяционные данные. При этом полиморфизм гена VKORC1 во всех изучаемых подвыборках встречался более чем в 2 раза чаще, чем гена CYP2C9 (Mann-Whitney U test; Z=3,24409; p=0,0001), в результате, более чем 40 % участников исследования одновременно являются носителями полиморфизма аллелей как CYP2C9 гена VKORC1, что, по нашему мнению, приобретает важное медицинское значение, и вот почему.

Полиморфизм гена CYP2C9 (аллели CYP2C9*2 и CYP2C9*3), кодирующего белок цитохром P450 2C9, сопровождается угнетением катаболизма многих ксенобиотиков, в частности – варфарина, что повышает его пиковую концентрацию в крови и увеличивает связанный с этим риск кровотечений. Носительство полиморфных аллелей C+1173T, G+3730A и G+3673A гена VKORC1 влияет на активность филлохинон-эпоксидредуктазы и приводит к изменению антикоагулянтного действия варфарина, при этом носительство аллеля C+1173T сопровождается повышением его эффективности (и необходимостью снижения фоновой дозы), тогда как носительство аллелей G+3730A и G+3673A обладает обратным эффектом [6, 7, 8]. Носительство нескольких полиморфных аллелей CYP2C9 и

VKORC1 создаёт широкий круг предпосылок, способных в разной степени снижать качество и повышать риски антикоагулянтной терапии, что приводит к необходимости – либо корректировать терапию антикоагулянтами с учётом индивидуально полученных данных, либо проводить антикоагулянтную терапию средствами, не метаболизирующимися в системе P450 2C9 и не взаимодействующими с филлохинон-эпоксидредуктазой. При этом отдельный интерес представляет впервые выявленная значимо меньшая (Mann – Withney U test; Z 2,044001; p=0,0001) доля полиморфизма Arg144Cys гена CYP2C9 (Аллель CYP2C9*2) среди злоупотребляющих алкоголем.

Выводы:

1. Выявленная у больных мерцательной аритмией крайне высокая частота распространённости полиморфизма C+1173T, G+3730A и G+3673A гена VKORC1, сочетающаяся почти в половине случаев с полиморфизм Arg144Cys и Ile359Leu гена CYP2C9, и определяемый этим высокий риск геморрагических осложнений, делает обоснованным выполнение фармакогенетического теста в качестве обязательного метода обоснования выбора и модификации антикоагулянтной терапии.

2. У больных мерцательной аритмией с высокими кумулятивными рисками геморрагических и тромбоэмболических осложнений на фоне применения непрямых антикоагулянтов, при невозможности оценки полиморфизма C+1173T, G+3730A, G+3673A, Arg144Cys и Ile+359Leu, терапию следует проводить прямыми ингибиторами тромбина, либо прямыми ингибиторами Ха фактора свертывания.

Исследование проведено на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России в рамках государственного задания Минздрава России по теме «Особенности реализации крупных кардиоваскулярных событий при злоупотреблении алкоголем: патохимические механизмы; клинико-лабораторные критерии риска, диагностики, мониторинга и прогноза развития патологии у жителей Западной Сибири» (№ гос. регистрации НИР: 115031760044).

Список литературы

1. Гуревич М.А. Нарушения сердечного ритма и их коррекция при хронической сердечной недостаточности // Рос. кардиолог. журн. – 2005. – № 3. – С. 5–10.
2. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий // Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ. – М., 2012.

3. Кардиология. Национальное руководство: краткое издание / под ред. Ю. Н. Беленкова, Р. Г. Оганова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 848 с.
4. Клинико-биохимические аспекты контроля гемокоагуляции у пациентов с фибрилляцией предсердий, злоупотребляющих алкоголем / Д. Г. Новиков, А. В. Индутный, Н. А. Трофимович, Н. И. Сиденко, Г. А. Борзенко, Л. В. Горбунова // Казанский медицинский журнал. – 2015. – № 5. – С. 734–741.
5. Распространенность полиморфизмов генов VKORC 1, CYP2C9 и CYP4F2 среди российских пациентов с высоким тромботическим риском, получающих варфарин в амбулаторных условиях. /Д.В. Иващенко, И.В. Русин, А.В. Грачёв, Г.П. Князева, Д.А. Сычёв// Оригинальные исследования. – 2013. – № 1 (46).
6. Фармакогенетическое тестирование: клиническая интерпретация результатов (рекомендации для практикующих врачей) / Сычев Д.А. – М., 2011.
7. Ethanol oxidation into acetaldehyde by 16 recombinant human cytochrome P450 isoforms: Role of CYP2C isoforms in human liver microsomes, Hamitouche S, Poupon J, Dreano Y, Amet Y, Lucas D. Toxicol Lett. 2006.
8. Wood, A. J. J. Racial differences in the response to drugs--pointers to genetic differences. (Letter) New Eng. J. Med. 344: 1393-1396, 2001.

Рецензенты:

Вавилова Т.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики и генетики ФГБОУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Минздрава России, г. Санкт Петербург;

Белобородова Е.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Санкт Петербург.