

УДК 616.12-008.313.2:575.174.015.3:615.273.53

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ CYP2C9, VKORC1 И ДОЗИРОВАНИЕ ВАРФАРИНА У БОЛЬНЫХ С ПОСТОЯННОЙ ФОРМОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ

GENETIC POLYMORPHISMS OF CYTOCHROME P450 2C9, VITAMIN K EPOXIDE-REDUCTASE SUBUNIT 1 AND WARFARIN DOSING IN PATIENTS WITH PERMANENT ATRIAL FIBRILLATION

Рубаненко А.О.
Щукин Ю.В.

Rubanenko AO
Shchukin YuV

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России

Samara State
Medical University

Цель — оценить влияние полиморфизмов цитохрома 2C9 (CYP2C9) и субъединицы 1 витамин К эпоксид-редуктазы (VKORC1) на режим дозирования варфарина у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий.

Методы. Обследовано 100 больных ишемической болезнью сердца и постоянной формой фибрилляции предсердий, средний возраст составил $60,5 \pm 5,8$ лет.

Выводы. У пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий генотип CYP2C9*1/*3, а также TT и GG гена витамин К эпоксид-редуктазы ассоциируются с минимальной поддерживающей дозой варфарина по сравнению с другими генотипами. Наличие генотипа CYP2C9*1/*3 повышает риск развития геморрагических осложнений на фоне терапии варфарином, что требует особой осторожности в лечении этим препаратом.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, генетические полиморфизмы, цитохром P450 2C9, субъединица 1 витамин К эпоксид-редуктазы, варфарин.

Aim — to assess the influence of genetic polymorphisms of CYP2C9 and VKORC1 on warfarin dosing in patients with permanent form of atrial fibrillation.

Methods. The study included examination of 100 patients with coronary heart disease and permanent form of atrial fibrillation; mean age 60.5 ± 5.8 years.

Conclusion. In patients with permanent form of atrial fibrillation, genotypes CYP2C9*1/*3, TT and GG genotypes of VKORC1 are associated with low warfarin dose, compared to other genotypes. Genotype CYP2C9*1/*3 increases the risk of bleeding complication during warfarin therapy.

Keywords: atrial fibrillation, genetic polymorphisms, cytochrome P450 2C9, vitamin K epoxide-reductase subunit 1, warfarin.

ВВЕДЕНИЕ

Варфарин является препаратом выбора для профилактики развития ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий [1]. По результатам метаанализа назначение варфарина сопровождается снижением относительного риска развития этого осложнения на 67% [2]. Однако лечение данным препаратом сопровождается рядом трудностей, к которым относятся узкий терапевтический диапазон, сложность подбора дозы, а также значительные отличия в антикоагулянтном ответе пациентов, связанные в том числе и с различными генетическими полиморфизмами

[3, 4, 5]. При использовании стандартного алгоритма подбора дозы варфарина в начале терапии возможно развитие геморрагических осложнений, связанных с повышенной чувствительностью некоторых пациентов к данному препарату. В настоящее время установлены факторы риска возникновения геморрагических осложнений при терапии варфарином, к которым относится наличие полиморфизмов генов цитохрома P450 2C9 (CYP2C9) и субъединицы 1 витамин К эпоксид-редуктазы (VKORC1) [2]. Метаболизм варфарина происходит в печени при участии CYP2C9, в то время как «мишенью» для данного препарата является VKORC1 [2]. Данный фермент переводит витамин К

из неактивной в активную форму, влияющей на выработку К-витамин-зависимых факторов свертывания крови, тем самым регулируя процесс коагуляции. В настоящее время известны данные FDA [2] и алгоритм В.Ф. Gage [6], посвященные подбору дозы варфарина в зависимости от полиморфизмов CYP2C9 и VKORC1. Вышеуказанные алгоритмы учитывают влияние полиморфизмов CYP2C9 и VKORC1 G1639/3673A, однако в них отсутствуют сведения о роли генотипов C1173T и G3730A гена VKORC1 в режиме дозирования варфарина. Имеющиеся на данный момент результаты исследований, посвященных изучению генотипов C1173T и G3730A гена VKORC1, не получили отражения в современных клинических рекомендациях [1, 2]. Кроме того, по результатам метаанализа, выполненного в 2009 году, не было выявлено достоверного уменьшения частоты развития геморрагических осложнений при подборе дозы варфарина с помощью известных алгоритмов, учитывающих генетические полиморфизмы [6]. В связи с этим представляется актуальным дальнейшее изучение влияния данных полиморфизмов на режим дозирования варфарина и частоту развития геморрагических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить влияние полиморфизмов цитохрома 2C9 и субъединицы 1 витамин К эпоксид-редуктазы на режим дозирования варфарина у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 100 больных ишемической болезнью сердца и постоянной формой фибрилляции предсердий, средний возраст составил $60,5 \pm 5,8$ лет. Все больные на момент включения в исследование принимали варфарин, при этом уровень МНО находился в пределах терапевтического диапазона (от 2 до 3). Подбор дозы осуществлялся с использованием стандартного алгоритма [2]. При этом стабильной считали дозу, при которой целевые значения МНО были получены при двух последовательных измерениях. После включения в исследование пациенты наблюдались в течение 24 недель для оценки частоты развития геморрагических осложнений.

Критерии исключения: кровотечения в анамнезе, тяжелые заболевания печени и почек, неконтролируемая артериальная гипертензия, геморрагический синдром, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, геморрагический инсульт в анамнезе, алкоголизм, невозможность осуществлять контроль уровня МНО, выраженная энцефалопатия.

Показатель		Пациенты (n=100)
Пол мужской/женский		43(43%) / 57(57%)
Средний возраст, лет		62,3±5,4
Длительность ФП, месяцев		7,4±0,9
Ишемический инсульт в анамнезе		19 (19%)
Инфаркт миокарда в анамнезе		26 (26%)
ХСН	I стадии	51 (51%)
	II A стадии	49 (49%)
Сахарный диабет 2 типа		10 (10%)
Гипертоническая болезнь		81 (81%)

Таблица 1. Клиническая характеристика больных с фибрилляцией предсердий

Всем пациентам проводилось исследование генетических полиморфизмов генов CYP2C9 Arg144Cys и Ile359Leu, а также VKORC1 C1173T и G3730A с помощью соответствующих комплектов для амплификации «SNP express» (ЗАО «Литех», Москва). Исследование осуществлялось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Анализ подвергалась геномная ДНК человека, выделенная из лейкоцитов цельной крови с помощью реагента «ДНК-экспресс кровь» (ЗАО «Литех», Москва). С образцом выделенной ДНК параллельно проводились две реакции амплификации с двумя парами аллель-специфичных праймеров.

Частоты полученных полиморфизмов сравнивались с теоретическим рассчитанным распределением по закону Харди-Вайнберга. При анализе различий между независимыми группами использовали критерий Манна-Уитни, при проведении корреляционного анализа — корреляцию Спирмена. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клиническая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в таблице 1.

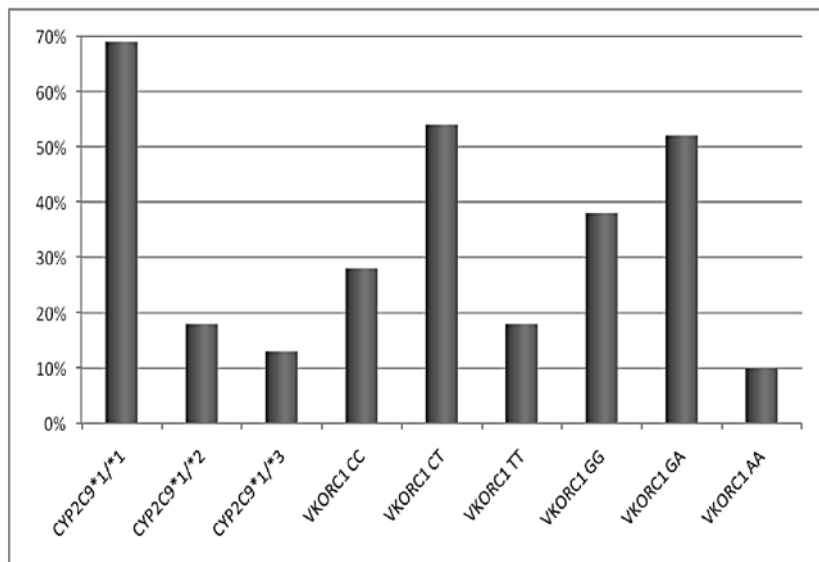


Рисунок 1. Распределение частот генетических полиморфизмов генов CYP2C9 и VKORC1 у пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий.

Генетический полиморфизм	Генотип	Количество пациентов		p
		Полученное	Ожидаемое	
CYP2C9	CYP2C9*1/*1	69 (69%)	70 (70%)	>0,05
CYP2C9 Arg144Cys	CYP2C9*1/*2	18 (18%)	16 (16%)	>0,05
CYP2C9 Ile359Leu	CYP2C9*1/*3	13 (13%)	12 (12%)	>0,05
VKORC1 C1173T	CC	28 (28%)	30 (30%)	>0,05
	CT	54 (54%)	50 (50%)	>0,05
	TT	18 (18%)	20 (20%)	>0,05
VKORC1 G3730A	GG	38 (38%)	41 (41%)	>0,05
	GA	52 (52%)	46 (46%)	>0,05
	AA	10 (10%)	13 (13%)	>0,05

Таблица 2. Распределение частот выявленных генотипов у больных с фибрилляцией предсердий

Пациенты получали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента или блокаторы рецепторов ангиотензина II, β -адреноблокаторы, сердечные гликозиды, диуретики, статины.

Частоты распределения генетических полиморфизмов у пациентов, включенных в исследование, представлены на **рисунке 1**. При этом «дикий тип» гена CYP2C9 обозначался как CYP2C9*1/*1, мутантная гетерозигота — CYP2C9*1/*2, мутантная гетерозигота гена CYP2C9 Ile359Leu — CYP2C9*1/*3. Гомозиготных мутаций и сочетаний двух гетерозиготных вариантов гена CYP2C9 среди пациентов, включенных в исследование, выявлено не было. Наиболее часто среди пациентов встречался генотип CYP2C9*1/*1, а также мутантные гетерозиготы генов VKORC1 C1173T и G3730A.

Полученные данные достоверно не отличались от теоретического распределения частот генотипов, рассчитанного по закону Харди-Вайнберга (**таблица 2**).

Результаты нашей работы по изучению распространенности полиморфизмов гена CYP2C9 и VKORC1 в целом согласуются с данными других исследований как в Европейской [7, 9], так и в других популяциях [8].

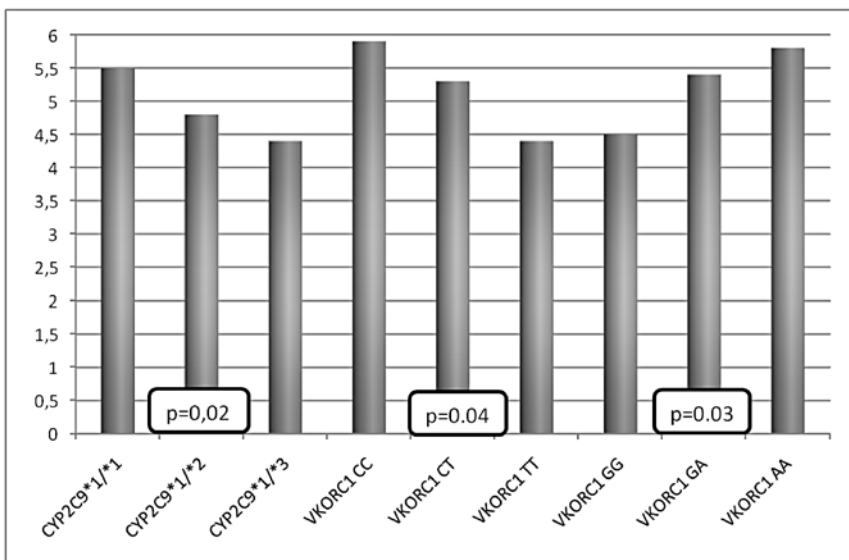


Рисунок 2. Средняя поддерживающая доза варфарина в зависимости от генетических полиморфизмов CYP2C9 и VKORC1.

Средние дозы варфарина, необходимые для достижения целевых значений МНО, значительно различались в зависимости от выявленных генетических полиморфизмов. Средняя поддерживающая доза варфарина у пациентов с генотипом CYP2C9*1/*2 была на 10% ниже ($p>0,05$), а с генотипом CYP2C9*1/*3 — на 25% ниже ($p=0,02$) по сравнению с пациентами с «диким типом» гена CYP2C9. У больных с генотипами CT и TT гена VKORC1 C1173T средняя доза варфарина оказалась на 9% ($p>0,05$) и 18% ($p=0,04$) соответственно ниже по сравнению с «диким типом» данного гена. У пациентов с генотипами GG и GA гена VKORC1 G3730A средняя доза варфарина была на 29% ($p=0,03$) и 7% ($p>0,05$) соответственно ниже по сравнению с пациентами генотипом AA данного гена (**рис. 2**).

В целом различия в суточной дозе варфарина, полученные в различных исследованиях у пациентов с генотипами CYP2C9*1/*1, CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3, а также с полиморфизмами гена VKORC1 C1173T, возможно, связаны с влиянием других факторов, учитывая то, что полиморфизмы CYP2C9 объясняют лишь 12%, а VKORC1 — 29-30% различий средних доз варфарина между пациентами [10].

Как известно, цитохром P450 2C9 (CYP2C9) является основным ферментом биотрансформации варфарина в печени. Наличие мутаций в гене, кодирующем данный фермент, будет сопровождаться снижением скорости биотрансформации данного препарата и соответственно повышением его концентрации в плазме крови. Следовательно, таким пациентам для достижения целевого уровня МНО будет требоваться меньшая доза варфарина.

Ген VKORC1 кодирует субъединицу 1 комплекса эпоксид-редуктазы витамина К, являющейся «мишенью» для варфарина. Данный фермент переводит витамин К из неактивной в активную форму, которая участвует в посттрансляционном карбоксилировании витамин К-зависимых белков, тем самым регулируя процесс свертывания крови. Наличие генотипов TT гена VKORC1 C1173T и GG гена VKORC1 G3730A приводит к уменьшению скорости транскрипции данного гена и, следовательно, к уменьшению активности фермента VKORC1, что будет обуславливать уменьшение дозы варфарина, необходимой для его блокады.

Таким образом, минимальная поддерживающая доза варфарина в нашем исследовании была выявлена у пациентов с генотипами CYP2C9*1/*3, TT гена VKORC1 C1173T и GG гена VKORC1 G3730A, что согласуется с данными, получен-

Вид геморрагического осложнений	Количество больных	Генотип CYP2C9	Генотип VKORC1 C1173T	Генотип VKORC1 G3730A
Желудочно-кишечное кровотечение	1 (20%)	*1/*2	СТ	GA
Кровотечение после экстракции зуба	1 (20%)	*1/*3	СТ	GG
Появление гематом на теле	2 (40%)	*1/*3	ТТ	GG
		*1/*3	СС	GA

Таблица 3. Структура геморрагических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий на фоне терапии варфарином

ными в других исследованиях [11, 12]. Следовательно, пациенты с данными мутациями нуждаются в назначении сниженных доз варфарина.

На фоне терапии варфарином геморрагические осложнения возникли у 4 (4%) больных. Все геморрагические осложнения возникли при уровне МНО более 5. Структура этих осложнений и выявленные генетические полиморфизмы представлены в **таблице 3**. У трех пациентов с развившимися геморрагическими осложнениями были обнаружены мутантные гетерозиготы гена CYP2C9 Ile359Leu и у одного пациента — мутантная гетерозигота гена CYP2C9 Arg144Cys. Два пациента имели генотип GG гена VKORC1 G3730A, и у одного пациента наличие мутантной гетерозиготы гена CYP2C9 Ile359Leu сочеталось с генотипом TT гена VKORC1 C1173T и генотипом GG гена VKORC1. Однако при сравнении пациентов с геморрагическими осложнениями и пациентов без них достоверные раз-

личия были выявлены только для наличия мутантной гетерозиготы гена CYP2C9 Ile359Leu ($p=0,03$). Наличие генотипа CYP2C9*1/*3 коррелировало с развитием геморрагических осложнений ($R=0,51$, $p=0,0001$), что также согласовывалось с результатами предыдущих исследований [13].

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий генотип цитохрома P450 2C9 *1/*3, а также TT и GG гена витамин К эпиксид-редуктазы ассоциируются с минимальной поддерживающей дозой варфарина по сравнению с другими генотипами. Наличие генотипа цитохрома P450 2C9 *1/*3 повышает риск развития геморрагических осложнений на фоне терапии варфарином, что требует особой осторожности в лечении этим препаратом. ■

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Camm AJ, Lip GYH, De Caterina R, Savelieva I, Atar D, Hohnloser SH, Hindricks G, Kirchhof P. 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. *European heart journal*. 2012; 33:2719-2747. doi:10.1093/eurheart/ehs253
- Camm AJ, Kirchhof P, Lip GYH, Schotten U, Savelieva I. et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation. *European heart journal*. 2010; 31:2369-2429. doi:10.1093/eurheart/ehq278
- Militaru FC, Vesa SC, Pop TR, Buzoianu AD. Pharmacogenetics aspects of oral anticoagulants therapy. *J. Med Life*. 2015; 8(2):171-175.
- Jiang NX, Ge JW, Xian YQ, Huang SY, Li YS. Clinical application of a new warfarin-dosing regimen based on the CYP2C9 and VKORC1 genotypes in atrial fibrillation patients. *Biomed Rep*. 2016; 4(4):453-458. doi:10.3892/br.2016.617
- Bourgeois S, Jorgensen A, Zhang EJ, Hanson A, Gillman MS. et al. A multi-factorial analysis of response to warfarin in a UK prospective cohort. *Genome Med*. 2016; 8(1):1-12. doi:10.1186/s13073-015-0255-y.
- Kangelaris K, Bent S, Nussbaum R, Garcia DA, Tice JA. Genetic testing before anticoagulation? A systematic review of pharmacogenetic dosing of warfarin. *Journal of General Internal Medicine*. 2009; 24:656-664. doi:10.1007/s11606-009-0949-1.
- Wise ES, Gadomski SP. 2nd, McMaster WG. Jr., Wilson RJ, Nelms JK, Hocking KM, Brophy C.M. The influence of VKORC1 and CYP2C9 mutations on warfarin response after total hip and knee arthroplasty. *J Orthop*. 2015; 28(12) (Suppl 2):145-151. doi:10.1016/j.jor.2015.10.023.
- Poopak B, Rabeipoor S, Safari N, Naraghi E, Sheikhsofla F, Khosravipoor G. Identification of CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms in Iranian patients who are under warfarin therapy. *Int. J. Hematol. Oncol. Stem. Cell. Res*. 2015; 9(4):185-192.
- Klein TE, Altman RB, Eriksson N, Gage BF, Kimmel SE. et al. Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *New England Journal of Medicine*. 2009; 360(8):753-764. doi:10.1056/NEJMoa0809329
- Wadelius M, Chen LY, Downes K, Ghori J, Hunt S. et al. Common VKORC1 and GGX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J*. 2005; 5(4):262-270. doi:10.1038/sj.tpj.6500313.
- Chen W, Wu L, Liu X, Shen Y, Liang Y. et al. Warfarin dose requirement with different genotypes of polymorphisms on CYP2C9 and VKORC1 and indications in Han-Chinese patients. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther*. 2016; [Epub ahead of print]. doi:10.5414/CP202494.
- Lu Y, Yang J, Zhang H, Yang J. Prediction of warfarin maintenance dose in Han Chinese patients using a mechanistic model based on genetic and non-genetic factors. *Clin. Pharmacokinet*. 2013; 52(7):567-581. doi:10.1007/s40262-013-0054-9.
- Yang J, Chen Y, Li X, Wei X, Chen X. et al. Influence of CYP2C9 and VKORC1 genotypes on the risk of hemorrhagic complications in warfarin-treated patients: a systematic review and meta-analysis. *Int. J. Cardiol*. 2013; 168(4):4234-4243. doi:10.1016/j.ijcard.2013.07.151.

Участие авторов:

Написание статьи: Рубаненко А.О.

Концепция исследования, редактирование статьи: Щукин Ю.В.

Конфликт интересов отсутствует.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Рубаненко А.О. — к.м.н., ассистент кафедры пропедевтической терапии СамГМУ, врач функциональной диагностики.
E-mail: anatolii.rubanenko@gmail.com

Щукин Ю.В. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой пропедевтической терапии СамГМУ.
E-mail: samgmu_pt@mail.ru

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Rubanenko AO — PhD, teaching assistant at the Department of Propaedeutic Therapy of Samara State Medical University, doctor of functional diagnostics.
E-mail: anatolii.rubanenko@gmail.com

Shchukin YuV — PhD, Professor, head of the Department of Propaedeutic Therapy of Samara State Medical University.
E-mail: samgmu_pt@mail.ru

Контактная информация

Рубаненко Анатолий Олегович
Адрес: ул. Ново-Садовая, 25, кв. 213,
Самара, 443110
Тел. + 7 (927) 201 09 44
E-mail: anatolii.rubanenko@gmail.com

Contact information

Rubanenko Anatolii Olegovich
Address: ap. 213, 25 Novo-Sadovaya st.,
Samara, Russia, 443110.
Tel. + 7 (927) 201 09 44
E-mail: anatolii.rubanenko@gmail.com