

РОССИЙСКИЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ

РОССИЙСКОЕ КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО

В НОМЕРЕ:

Ассоциация полиморфизмов генов *KIF6*, *PALLD*, *SNX19*, *MYH15*, *VAMP8* как генетического рискометра ИБС с внезапной сердечной смертью

Клинико-генетический рискометр расчета развития ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий

Новый генетический маркер врожденной патологии проводящей системы сердца

Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена в оценке риска развития тромбозов различной локализации

Роль С-реактивного белка и полиморфизмов его гена-кандидата в развитии госпитальных ССО

ДНК-диагностика и спектр мутаций в гене *FBN1* при синдроме Марфана

Молекулярно-генетические факторы, ассоциированные с развитием аортального стеноза

В ФОКУСЕ:

Генетика и фармакогенетика сердечно-сосудистых заболеваний

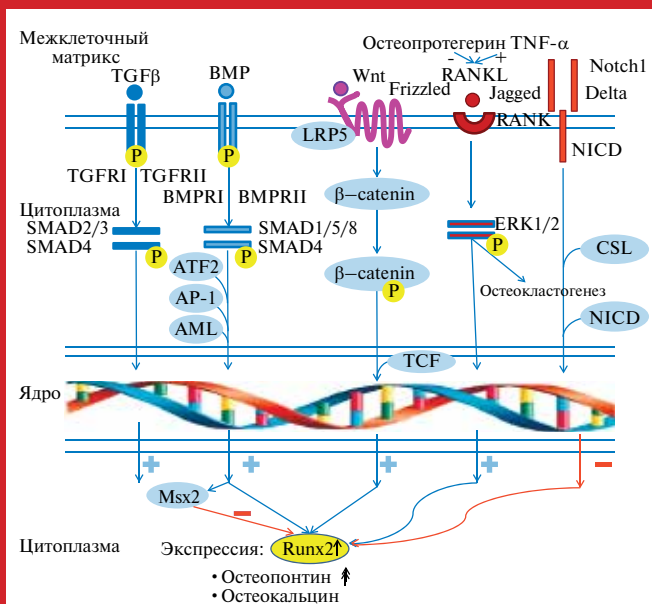


Рис. 1. Молекулярные механизмы кальцификации.

Наиболее изученными регуляторными путями экспрессии остеогенных медиаторов "активированными фибробластами" являются: пути трансформирующих факторов роста (TGFβ1 и β3), в том числе костных морфогенетических белков (bone morphogenetic protein — BMP), Wnt, RANK/RANKL и Notch1 пути. Каскад основных путей молекулярных взаимодействий, принимающих участие в процессе кальцификации, представлен на рисунке 1. Результатом является активация белков — транскрипционных факторов RUNX2/Cbfa1(Runx2), MSX2, Osterix, регулирующих в костной ткани дифференцировку плюрипотентных мезенхимальных клеток в незрелые остеобласты, зрелые остеобласты и затем в остециты. См. на стр. 101.

www.rosocardio.ru

РОССИЙСКИЙ
КАРДИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ
Russian Journal of Cardiology

Силуэция Полиграф



КАРДИОВАСКУЛЯРНАЯ ТЕРАПИЯ
И ПРОФИЛАКТИКА
CARDIOVASCULAR THERAPY AND PREVENTION

УВАЖАЕМЫЕ ЧИТАТЕЛИ!

Приглашаем Вас на сайт издательства журнала — www.rosocardio.ru

Вашему вниманию мы можем предложить много новой и интересной информации:

В 2016 году Российский кардиологический журнал **принимает для публикации англоязычные статьи** — как оригинальные, так и переводы уже напечатанных статей. Англоязычная часть журнала будет выходить 4 раза в год, размещаться в системе РИНЦ, Scopus и других системах, куда входит журнал. Приглашаем авторов!

НОМЕРА РОССИЙСКОГО КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ЖУРНАЛА ПО ТЕМАМ В 2016 ГОДУ

Номер журнала	Тема	Ответственный редактор	Дополнительные материалы
1	Легочная гипертензия	Моисеева О. М.	Легочная гипертензия 2015 Pulmonary hypertension
2	Интервенционная кардиология и кардиохирургия	Белов Ю. В., Дземешкевич С. Л.	Кардиоонкология (Позиция ЕОК) 2015 Cardio-oncology (Position paper)
3	Ишемическая болезнь сердца	Галявич А. С.	Острый коронарный синдром с подъёмом сегмента ST 2015 Acute coronary syndrome NSTE
4	Артериальная гипертензия, коморбидное ожирение и сахарный диабет	Чумакова Г. А., Недогода С. В.	Консенсус по ожирению
5	Перикардиты, миокардиты и эндокардиты (заболевания оболочек сердца)	Арутюнов Г. П. Демин А. А.	Заболевания перикарда 2015 Pericardial Diseases Инфекционные эндокардиты 2015 Infective endocarditis
6	Эпидемиология и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний	Бойцов С. А., Концевая А. В.	
7	Аритмии	Лебедев Д. С.	Желудочковые аритмии и внезапная сердечная смерть 2015 Ventricular Arrhythmias & Sudden Cardiac Death
8	Острая и хроническая сердечная недостаточность	Лопатин Ю. М.	
9	Конгресс	Таратухин Е. О.	Избранные статьи
10	Кардиогенетика	Костарева А. А., Заклязьминская Е. В.	
11	Клапанная болезнь сердца и соединительнотканная дисплазия	Чернявский А. М., Протопопов А. В.	
12	Методы исследования в кардиологии	Васюк Ю. А., Мацкеплишвили С. Т.	

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ “КАК ПОДГОТОВИТЬ СТАТЬЮ В НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ?”

Не только молодые ученые, но и профессионалы сталкиваются с трудностями при написании качественной научной статьи. В данном учебном пособии мы расскажем о том, как:

- собирать научный материал, структурировать текст и использовать литературные источники?
- как осуществлять поиск в интернете, как работать с базами данных?
- что такое индекс-цитирования, импакт-фактор, международные рейтинги журналов?
- оформить текст научной статьи, чтобы он индексировался в научных базах?

Принимаются предварительные заказы (без оплаты).

Цена: 1100-00 руб. в т.ч. НДС (в стоимость не входят почтовые услуги по доставке).

Бонусом к данной книжке Издательство дарит двухтомник **ЕВРОПЕЙСКИЕ КЛИНИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ЕОК 2014 и 2015** (сборник переводов Европейских рекомендаций, опубликованных в Российском кардиологическом журнале в 2015-2016гг).

Более подробно с изданием можно ознакомиться на сайте <http://www.rosocardio.ru> в разделе Издательство.

ПОДПИСКА НА ЖУРНАЛ 2016

Самая низкая стоимость подписки и удобное оформление:

1. Анкета читателя заполняется на сайте и автоматически отсылается.
2. Распечатывается готовый и заполненный бланк для оплаты.

Стоимость электронной версии:

Журнал	Цена подписки на 2016 год	Выберите способ оплаты
Российский кардиологический журнал	1080,00 руб.	☐ Наличными в отделении Сбербанка
Кардиоваскулярная терапия и профилактика	570,00 руб.	☐ Электронным платежом через ROBOKASSA (Visa, Mastercard, мобильным телефоном- МТС, Мегафон, Билайн, всеми электронными валютами, наличными через сеть терминалов, через интернет-банки и другими способами)

<http://www.rosocardio.ru/ru/subscription.html>



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал

Зарегистрирован Комитетом РФ по печати
06.04.1998 г. Регистрационный № 017388

Периодичность: 12 номеров в год
Установочный тираж — 7 000 экз.

Журнал включен в **Перечень ведущих научных
журналов и изданий ВАК**

Журнал включен в **SCOPUS**

Российский индекс научного цитирования: 3,143
импакт-фактор (РИНЦ 2014) 1,134

Полнотекстовые версии всех номеров размещены
на сайте Научной Электронной Библиотеки:
www.elibrary.ru

Архив номеров: www.rosocardio.ru, cardio.medi.ru/66.htm

Правила публикации авторских материалов:
www.rosocardio.ru/ru/information-for-authors-rjc.html

Информация о подписке:
www.rosocardio.ru/ru/subscription.html
Объединенный каталог "Пресса России":
42432 — для индивидуальных подписчиков,
42433 — для предприятий и организаций
Зарубежная подписка:
To enter subscription it is necessary to address
to one of the partners of JSC "MK-Periodica"
in your country or to JSC "MK-Periodica"
directly: www.periodicals.ru

**Перепечатка статей возможна только
с письменного разрешения издательства**

**Ответственность за достоверность рекламных
публикаций несет рекламодатель**

Отдел рекламы Леонтьева Е. В.
тел.: +7 (499) 323—53—88,
e-mail: leontyeva.silicea@yandex.ru

Отдел распространения Гусева А. Е.
тел.: +7 (499) 324—22—34,
e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Ответственный переводчик Таратухин Е. О.

Дизайн, верстка Андреева В. Ю.,
Иванова А. Е.

Отпечатано: типография "OneBook",
ООО "Сам Полиграфист",
129090, Москва, Протопоповский пер., 6.
www.onebook.ru

© Российский кардиологический журнал

РОССИЙСКИЙ КАРДИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 10 (126) 2015

издается с 1996 г.

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Алекян Б. Г. (Москва)
Атьков О. Ю. (Москва)
Беленков Ю. Н. (Москва)
Бойцов С. А. (Москва)
Васюк Ю. А. (Москва)
Воевода М. И. (Новосибирск)
Галайчик А. С. (Казань)
Карпов Р. С. (Томск)
Карпов Ю. А. (Москва)
Козилова Н. А. (Пермь)
Конради А. О. (Санкт-Петербург)
Крюков Н. Н. (Самара)

**ОТВЕТСТВЕННЫЙ РЕДАКТОР
НОМЕРА**

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР
ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ**

ШЕФ-РЕДАКТОР

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Абдуллаев А. А. (Махачкала)
Арутюнов Г. П. (Москва)
Габинский Я. Л. (Екатеринбург)
Гафаров В. В. (Новосибирск)
Говорин А. В. (Чита)
Дземешкевич С. Л. (Москва)
Довгалецкий П. Я. (Саратов)
Дупляков Д. В. (Самара)
Искендеров Б. Г. (Пенза)
Караськов А. М. (Новосибирск)
Колпаков Е. В. (Москва)
Концевая А. В. (Москва)

МЕЖДУНАРОДНЫЙ РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Карлен Адамян (Армения)
Стефан Анкер (Германия)
Салим Беркинбаев (Казахстан)
Владимир Габинский (США)
Рихард Чешка (Чешская республика)
Роберто Феррари (Италия)
Жан Шарль Фрушар (Франция)
Владимир Коваленко (Украина)
Равшанбек Курбанов (Узбекистан)

Адрес Редакции:
115478, Москва, а/я 509
e-mail: cardiojournal@yandex.ru

Шляхто Е. В. (Санкт-Петербург)

Лопатин Ю. М. (Волгоград)
Мареев В. Ю. (Москва)
Недошивин А. О. (Санкт-Петербург)
Оганов Р. Г. (Москва)
Ревизишли А. Ш. (Москва)
Скибицкий В. В. (Краснодар)
Таратухин Е. О. (Москва)
Чазова И. Е. (Москва)
Чумакова Г. А. (Барнаул)
Шальнова С. А. (Москва)
Якушин С. С. (Рязань)

Затейщиков Д. А. (Москва)
Сычев Д. А. (Москва)

Некрасова Л. И.
Таратухин Е. О.
Родионова Ю. В.
Рыжова Е. В.

Лебедев Д. С. (Санкт-Петербург)
Либис Р. А. (Оренбург)
Недогода С. В. (Волгоград)
Недбайкин А. М. (Брянск)
Палеев Ф. Н. (Москва)
Покровский С. Н. (Москва)
Периуков И. В. (Воронеж)
Протасов К. В. (Иркутск)
Тюрин Т. В. (Ленинградская область)
Хлудеева Е. А. (Владивосток)
Шульман В. А. (Красноярск)
Шекотов В. В. (Пермь)

Стивен Ленц (США)
Жильбер Массад (Франция)
Маркку Ниеминен (Финляндия)
Питер Нильсон (Швеция)
Джанфранко Парати (Италия)
Михаил Поповичи (Молдова)
Адам Торбицки (Польша)
Ярле Вааге (Норвегия)
Маргус Виигимаа (Эстония)

Издательство:
ООО "Силица-Полиграф"
e-mail: cardio.nauka@yandex.ru



РОССИЙСКОЕ
КАРДИОЛОГИЧЕСКОЕ
ОБЩЕСТВО

Scientific peer-reviewed medical journal

Mass media registration certificate № 017388
dated 06.04.1998

Periodicity — 12 issues per year

Circulation — 7 000 copies

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications of the Supreme Examination Board (VAK)

The Journal is included in SCOPUS

Russian Citation Index (SCIENCE INDEX): 3,143
Impact-factor (RCI-2014) 1,134

Complete versions of all issues are published:
www.elibrary.ru

Archive: www.rosocardio.ru, cardio.medi.ru/66.htm

Instructions for authors:
www.rosocardio.ru/ru/information-for-authors-rjc.html

Subscription: www.rosocardio.ru/ru/subscription.html
Catalog PRESSA ROSSII:
42432 — Personal, 42433 — Corporate
Catalog MK-Periodica:
To enter subscription it is necessary to address to one of the partners of JSC “MK-Periodica” in your country or to JSC “MK-Periodica” directly: www.periodicals.ru

For information on how to request permissions to reproduce articles/information from this journal, please contact with publisher

The mention of trade names, commercial products or organizations, and the inclusion of advertisements in the journal do not imply endorsement by editors, editorial board or publisher

Advertising department Leontyeva Elena
tel.: +7 (499) 323—53—88,
e-mail: leontyeva.silicea@yandex.ru

Distribution department Guseva Anna
tel.: +7 (499) 324—22—34,
e-mail: guseva.silicea@yandex.ru

Senior translator Taratukhin E. O.

Design, desktop publishing Andreeva V. Yu.,
Ivanova A. E.

Printed: OneBook, Sam Poligrafist, Ltd.
129090, Moscow, Protopyopovskiy per., 6.
www.onebook.ru

© Russian Journal of Cardiology

RUSSIAN JOURNAL OF CARDIOLOGY

№ 10 (126) 2015

founded in 1996

EDITOR-IN-CHIEF

ASSOCIATE EDITORS

Alekyan B. G. (Moscow)
At'kov O. Yu. (Moscow)
Belenkov Yu. N. (Moscow)
Boytsov S. A. (Moscow)
Vasyuk Yu. A. (Moscow)
Vojevoda M. I. (Novosibirsk)
Galjovich A. S. (Kazan')
Karpov R. S. (Tomsk)
Karpov Yu. A. (Moscow)
Kozjlova N. A. (Perm)
Konradi A. O. (St-Petersburg)
Kryukov N. N. (Samara)

EXECUTIVE EDITOR OF THE ISSUE

SENIOR EDITOR

EXECUTIVE SECRETARY

MANAGING EDITORS

ADVISORY BOARD

Abdullajev A. A. (Makhachkala)
Arutyunov G. P. (Moscow)
Gabinskiy Ja. L. (Ekaterinburg)
Gafarov V. V. (Novosibirsk)
Govorin A. V. (Chita)
Dzemeshevich S. L. (Moscow)
Dovgalevskiy P. Ja. (Moscow)
Dupljakov D. V. (Samara)
Iskenderov B. G. (Moscow)
Karaskov A. M. (Novosibirsk)
Kolpakov E. V. (Moscow)
Kontsevaya A. V. (Moscow)

INTERNATIONAL ADVISORY BOARD

Karlen Adamjan (Armenia)
Stefan Anker (Germany)
Salim Berkinbajev (Kazakhstan)
Vladimir Gabinskiy (USA)
Richard Ceska (Czech Republic)
Roberto Ferrari (Italy)
Jean Charles Fruchart (France)
Vladimir Kovalenko (Ukraine)
Ravshanbek Kurbanov (Uzbekistan)

Editorial office:

115478, Moscow, a/ja 509
e-mail: cardiojournal@yandex.ru

Shlyakhto E. V. (St-Petersburg)

Lopatin Yu. M. (Volgograd)
Mareev V. Yu. (Moscow)
Nedoshivin A. O. (St-Petersburg)
Oganov R. G. (Moscow)
Revishvili A. Sh. (Moscow)
Skibitsky V. V. (Krasnodar)
Taratukhin E. O. (Moscow)
Chazova I. E. (Moscow)
Chumakova G. A. (Barnaul)
Shalnova S. A. (Moscow)
Jakushin S. S. (Rjazan)

Zateyshchikov D. A. (Moscow)
Sychev D. A. (Moscow)

Nekrasova L. I.

Taratukhin E. O.

Rodionova Yu. V.
Ryzhova E. V.

Lebedev D. S. (St-Petersburg)
Libis R. A. (Orenburg)
Nedogoda S. V. (Volgograd)
Nedbaikin A. M. (Brjansk)
Paleev F. N. (Moscow)
Pokrovskiy S. N. (Moscow)
Pershukov I. V. (Voronezh)
Protasov K. V. (Irkutsk)
Tyurina T. V. (Leningradskaya oblast)
Khludeeva E. A. (Vladivostok)
Shulman V. A. (Krasnoyarsk)
Schekotov V. V. (Perm)

Steven Lentz (USA)
Gilbert Massard (France)
Markku Nieminen (Finland)
Peter Nilsson (Sweden)
Gianfranco Parati (Italy)
Mihail Popovici (Moldova)
Adam Torbicki (Poland)
Jarle Vaage (Norway)
Margus Viigimaa (Estonia)

Publisher:

Silicea-Poligraf
e-mail: cardio.nauka@yandex.ru

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Обращение к читателям	5	Address to the readers
НОВОСТИ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ		CLINICAL MEDICINE NEWS
Обзор зарубежных новостей клинической медицины	6	Clinical medicine updates: a review of international news
ПЕРЕДОВАЯ СТАТЬЯ		EDITORIAL
Затейщиков Д. А., Монсеррат Л. Революция, которую мы почти проспали	7	Zateyshchikov D. A., Monserrat L. The revolution, we have almost overslept
ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ		ORIGINAL ARTICLES
ГЕНЕТИКА АТЕРОСКЛЕРОЗА		GENETICS OF ATHEROSCLEROSIS
Максимов В. Н., Иванова А. А., Орлов П. С., Савченко С. В., Воевода М. И. Проверка ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов генов <i>KIF6</i> , <i>PALLD</i> , <i>SNX19</i> , <i>MYH15</i> , <i>VAMP8</i> генетического рискометра ишемической болезни сердца с внезапной сердечной смертью	12	Maksimov V. N., Ivanova A. A., Orlov P. S., Savchenko S. V., Voevoda M. I. Evaluation of the genetic riskometer components <i>KIF6</i> , <i>PALLD</i> , <i>SNX19</i> , <i>MYH15</i> , <i>VAMP8</i> for ischemic heart disease with sudden cardiac death
Ашканова Т. М., Муженя Д. В., Пшидаток А. Р., Тугуз А. Р., Смолков И. В., Шумилов Д. С. Прогностическая роль A1166C полиморфизмов гена рецептора 1 типа ангиотензина II (<i>AGT2R1</i>) при коронарном атеросклерозе у жителей Республики Адыгея	19	Ashkanova T. M., Muzhenya D. V., Pshidatok A. R., Tuguz A. R., Smolkov I. V., Shumilov D. S. Prognostic role of A1166C polymorphisms of the angiotensin II receptor gene (<i>AGT2R1</i>) in coronary atherosclerosis among Adyghea Republic inhabitants
Ким М. В., Скорюкова С. А., Быстрова А. А., Баранова Е. И., Пчелина С. Н., Шляхто Е. В. Особенности нарушений липидного обмена и эффективность терапии atorvastатином у больных сахарным диабетом 2 типа – носителей различных генотипов <i>TAQIB</i> полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина	24	Kim M. V., Skoryukova S. A., Bystrova A. A., Baranova E. I., Pchelina S. N., Shlyakhto E. V. Specifics of lipid metabolism and atorvastatin efficacy in type 2 diabetes with carriage of various polymorphisms of cholesterol ether carrying protein <i>TAQIB</i> gene
ГЕНЕТИКА ТРОМБОЗОВ И АРИТМИЙ		GENETICS OF THROMBOSIS AND ARRHYTHMIAS
Никулина С. Ю., Чернова А. А., Третьякова С. С. Новый генетический маркер врожденной патологии проводящей системы сердца	30	Nikulina S. Yu., Chernova A. A., Tretyakova S. S. A novel genetic marker for inherited disorder of the heart conduction system
Зотова И. В., Бровкин А. Н., Фаттахова Э. Н., Никитин А. Н., Носиков В. В., Бражник В. А., Затейщиков Д. А. Генетический полиморфизм факторов системы воспаления, ассоциированных с тромбозомболическими осложнениями мерцательной аритмии	35	Zotova I. V., Brovkin A. N., Fattakhova E. N., Nikitin A. N., Nosikov V. V., Brazhnik V. A., Zateyshchikov D. A. Genetic polymorphism of inflammatory factors is associated with thromboembolic complications of atrial fibrillation
Аксютин Н. В., Шульман В. А., Никулина С. Ю., Назаров Б. В., Максимов В. Н., Плита Е. В., Котловский М. Ю., Верещагина Т. Д. Клинико-генетический рискметр расчета развития ишемического инсульта у больных с фибрилляцией предсердий	42	Aksyutina N. V., Shulman V. A., Nikulina S. Yu., Nazarov B. V., Maksimov V. N., Plita E. V., Kotlovsky M. Yu., Vereshchagina T. D. Clinical-genetic riskometer for the ischemic stroke risk assessment in atrial fibrillation
Никулин Д. А., Никулина С. Ю., Чернова А. А., Шульман В. А., Третьякова С. С. Роль гена <i>ROS1</i> в развитии острого нарушения мозгового кровообращения	46	Nikulin D. A., Nikulina S. Yu., Chernova A. A., Shulman V. A., Tretyakova S. S. The role of <i>ROS1</i> gene in development of stroke
Субботовская А. И., Цветовская Г. А., Слепухина А. А., Лифшиц Г. И. Полиморфизм гена ингибитора активатора плазминогена в оценке риска развития тромбозов различной локализации (пилотное исследование)	50	Subbotovskaya A. I., Tsvetovskaya G. A., Slepukhina A. A., Lifshitz G. I. Plasminogen activator inhibitor gene polymorphism in evaluation of the various localization thrombosis risks (pilot study)

ГЕНЕТИКА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА

Барбараш О. Л., Байракова Ю. В., Понасенко А. В., Иванов С. В., Казачек Я. В., Хуторная М. В., Баздырев Е. Д., Груздева О. В., Кузьмина А. А., Барбараш Л. С.

Роль С-реактивного белка и полиморфизмов его гена-кандидата в развитии госпитальных сердечно-сосудистых осложнений у пациентов после проведения коронарного шунтирования

54

GENETICS OF CORONARY HEART DISEASE

Barbarash O. L., Bayrakova Yu. V., Ponasenko A. V., Ivanov S. V., Kazachek Ya. V., Khutornaya M. V., Bazdyrev E. D., Gruzdeva O. V., Kuzmina A. A., Barbarash L. S.

The role of C-reactive protein and polymorphisms of its candidate genes in the development of in-hospital cardiovascular complications in patients after coronary bypass surgery

КЛАПАННЫЕ НЕКОРОНАРОГЕННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Рогожина Ю. А., Румянцева В. А., Букаева А. А., Заклязьминская Е. В.

ДНК-диагностика и спектр мутаций в гене *FBN1* при синдроме Марфана

61

VALVE AND NON-CORONARY DISEASES

Rogozhina Yu. A., Rummyantseva V. A., Bukaeva A. A., Zaklyazminskaya E. V.

DNA diagnostics and mutation spectrum of the gene *FBN1* in Marfan's syndrome

Гаврилюк Н. Д., Иртыга О. Б., Дружкова Т. А., Успенский В. Е., Малашичева А. Б., Костарева А. А., Моисеева О. М.

Полиморфизмы генов матричных металлопротеиназ 2 и 9 у пациентов с аневризмой восходящего отдела аорты

65

Gavrilyuk N. D., Irtyuga O. B., Druzhkova T. A., Uspensky V. E., Malashicheva A. B., Kostareva A. A., Moiseeva O. M.

Polymorphisms of matrix metalloproteases 2 and 9 genes in ascending aorta aneurism patients

ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Арсланбекова С. М., Сычев Д. А., Мирзаев К. Б., Казаков Р. Е., Смирнов В. В., Магомедова Н. М., Голухова Е. З.

Активность цитохрома P450 (CYP2C9), оцененная по лозартановому тесту, как прогностический фактор подбора терапевтической дозы варфарина у пациентов в отдаленные сроки после протезирования клапанов сердца

70

Arslanbekova S. M., Sychev D. A., Mirzaev K. B., Kazakov R. E., Smirnov V. V., Magomedova N. M., Golukhova E. Z.

Cytochrome P450 (CYP2C9) activeness, evaluated via losartan test, as prediction marker for the warfarin treatment dosage choice in patients with delayed outcomes after heart valves replacement

Зеленская Е. М., Субботовская А. И., Ганюков В. И., Кочергин Н. А., Барбарич В. Б., Сараева Н. О., Выбиванцева А. В., Апарцин К. А., Лифшиц Г. И.

Исследование "ПРОТОКОЛ": предварительные результаты в рамках проекта

75

Zelenskaya E. M., Subbotovskaya A. I., Ganyukov V. I., Kochergin N. A., Barbarich V. B., Saraeva N. O., Vybiyantseva A. V., Apartsin K. A., Lifshitz G. I.

The "PROTOCOL" study: preliminary results

Репин А. Н., Сергиенко Т. Н., Муслимова Э. Ф., Афанасьев С. А.

Влияние полиморфизма G681A гена *CYP2C19* на эффективность клопидогреля при эндоваскулярном лечении ишемической болезни сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа

81

Repin A. N., Sergienko T. N., Muslimova E. F., Afanasyev S. A.

Gene *CYP2C19* polymorphism G681A influence on the efficacy of clopidogrel in endovascular treatment of ischemic heart disease comorbid with type 2 diabetes

КЛИНИКА И ФАРМАКОТЕРАПИЯ

Олейников В. Э., Шиготарева Е. А., Душина Е. В., Кулютин А. В.

Спектральные показатели вариабельности сердечного ритма, поздние потенциалы желудочков, турбулентность ритма сердца как маркеры течения коронарной перфузии при STEMI

86

CLINIC AND PHARMACOTHERAPY

Oleynikov V. E., Shigotareva E. A., Dushina E. V., Kulyutsin A. V.

Spectral heart rate variability parameters, delayed ventricular potentials and rate turbulence as markers of coronary perfusion in STEMI

ОБЗОРЫ ЛИТЕРАТУРЫ

Мирзаев К. Б., Сычев Д. А., Андреев Д. А.

Генетические основы резистентности к клопидогрелю: современное состояние проблемы

92

Mirzaev K. B., Sychev D. A., Andreev D. A.

Genetics of clopidogrel resistance: recent data

Типтева Т. А., Чумакова О. С., Затеишчиков Д. А.

Молекулярно-генетические факторы, ассоциированные с развитием аортального стеноза

99

Tipteva T. A., Chumakova O. S., Zateyshchikov D. A.

Molecular-genetic factors, associated with aortic stenosis development

ИНФОРМАЦИЯ

INFORMATION

Глубокоуважаемые коллеги!

Развитие генетики в последние десятилетия позволило расшифровать патогенез многих заболеваний. Кардиология также не осталась в стороне. Исследование моногенных заболеваний, полногеномные и ассоциативные исследования, изучение врожденных особенностей действия лекарств сегодня стало практически рутинной практикой. Сформировано целое направление, условно названное персонализированной медициной. Это новая доктрина современного здравоохранения в основе которой лежит использование новых методов молекулярного анализа (геномика, транскриптомика, протеомика, метаболомика, микробиомика) для улучшения оценки предрасположенности (прогнозирование) к болезням и их “управлением” (профилактика и лечение). Несмотря на это именно генетические исследования в различных областях клинической медицины, в т.ч. и в кардиологии проводятся наиболее активно. Так, не один регистр пациентов или крупное международное клиническое исследование не обходится без генетического субанализа. Подобные исследования направлены на поиск генетических предикторов (представляют собой однонуклеотидные полиморфизмы генов) развития и особенностей течения различных сердечно-сосудистых заболеваний, а также особенностей “ответа” (эффективность/безопасность) на вмешательства, в т.ч. применение лекарственных средств (фармакогенетика). В настоящее время в отечественных исследованиях стала изучаться широкая линейка генов-кандидатов (ранее они ограничивалась генами, кодирующими компоненты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и генами, кодирующими факторы свертывания крови) у пациентов с нарушениями ритма сердца, атеросклерозом сосудов различной локализацией, ишемической болезнью сердца, клапанами некоронарогенными заболеваниями. Традиционно для кардиологии продолжаются исследования по фармакогенетике варфарина (фармакогенетическое тестирование уже дополняется оценкой активности изофермента цитохрома P-450 2C9, участвующего в метаболизме данного препарата) и фармакогенетике клопидогреля. Результаты подобных исследований дают нам реальную перспективу использования генетического тестирования для персонализации ведения пациентов кардиологического профиля.



Заведующий первичным сосудистым отделением ГБУЗ ГKB №51 (Москва), профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии ФГБУ ДПО “Центральная государственная медицинская академия” УД Президента РФ, в. н. с. лаборатории генетики ФГБУ “Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий” ФМБА России, д.м.н., профессор Затеищikov Дмитрий Александрович



Заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии РМАПО (Москва), врач-клинический фармаколог, д.м.н., профессор Сычев Дмитрий Алексеевич

ОБЗОР ЗАРУБЕЖНЫХ НОВОСТЕЙ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

Беспрецедентное лонгитюдное исследование проведено в Беркли (США). В течение 50 лет проводилось наблюдение за женщинами, начинавшееся их перипартальным периодом. Целью исследования было отследить взаимосвязь между течением беременности и родами с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. Включались женщины с 1959 по 1967 гг (средний возраст — 26 лет), всего было включено 14062 участницы. Наблюдение завершилось в 2011 году (средний возраст — 66 лет). Ключевыми предикторами сердечно-сосудистой смерти были наличие артериальной гипертензии (отношение рисков (ОР) — 3,5), глюкозурия (ОР — 4,2), развитие преэклампсии (ОР — 2,0), снижение уровня гемоглобина во втором и третьем триместрах (ОР — 1,7). Рождение ребёнка до 34 недель также было серьёзным прогностическим фактором будущей смерти от сердечно-сосудистых причин в сочетании с одним из других факторов, повышая её шанс в 4–7 раз.

(По данным: *Circulation*, 2015)

Французские исследователи Maura, et al. (2015) провели национальное медико-административное исследование терапии антикоагулянтами в целях предотвращения кардиоэмболий. Основным вопросом было, эквивалентна ли безопасность и эффективность терапии антагонистами витамина К (АВК) и “новыми” пероральными препаратами. Всего было проанализировано более 30 тыс. амбулаторных случаев наивных по антикоагулянтам пациентов, которым впервые назначался один из препаратов: АВК, дабигатран или ривароксабан. Наблюдение в рамках исследования велось до 3 месяцев. Было обнаружено, что ни по отношению к развитию кровотечений, ни по отношению к тромбозам, статистически достоверная разница между лечением АВК и дабигатраном либо ривароксабаном отсутствовала. Авторы уточняют, что эти данные требуют от врачей не меньшей осторожности при назначении “новых” препаратов, чем при применении АВК.

(По данным: *Circulation*, 2015)

К вопросу влияния потребления шоколада на сердечно-сосудистые заболевания обращаются британские учёные Kwok, et al. (2015). Они наблюдали 20951 человека с 1993 по 2008 гг (в среднем — 11,9 лет), собирая данные об их пищевых пристрастиях. Информация о потреблении шоколада стала предметом анализа. Показано, что суммарный риск (отношение рисков, ОР) сердечно-сосудистых заболеваний и событий для тех, кто потреблял шоколад постоянно, был 0,88. Эти данные также были подтверждены в мета-анализе, включившем данные 157809 участников. Также обнаружено, что более высокое количество шоколада существенно снижает риск сердечно-сосудистой смерти (ОР 0,71). Авторы заключают, что, хотя о профилакти-

ческом эффекте шоколада говорить рано, его всё же можно не бояться потреблять тем, кто озабочен профилактикой сердечно-сосудистой патологии.

(По данным: *Heart*, 2015)

Шотландские авторы обратили внимание на риск развития дизгликемии на фоне приёма гиплипидемического препарата ниацина. Их мета-анализ включил 11 протоколов с числом не страдавших диабетом участников 26430, половина из которых получала ниацин (или контрольный препарат). Показано, что приём ниацина повышает риск развития диабета (отношение рисков 1,34) в сравнении с терапией статинами или ларопипрантом.

(По данным: *Heart*, 2015)

Показано влияние терапии антидепрессантами во время беременности на развитие персистирующей лёгочной гипертензии у новорождённых. Huybrechts, et al. (2015) опросили 128950 беременных, из которых 3,4% указали, что имели хотя бы одно назначение антидепрессантов в поздние сроки беременности. Из них 2,7% применяли селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), 0,7% — другие препараты. Шанс наличия персистирующей лёгочной гипертензии у ребёнка при приёме матерью СИОЗС был в полтора раза выше (отношение шансов, ОШ — 1,51), чем без антидепрессантов. Для не-СИОЗС величина ОШ была 1,4. При обчёте данных не по всей выборке, а по женщинам с установленной депрессией, величины ОШ снизились, однако превышали единицу: для СИОЗС 1,10, для не-СИОЗС 1,02.

(По данным: *JAMA*, 2015)

Для поддержания приверженности пациентов здоровому образу жизни разрабатываются различные методики. Среди них — отправка коротких текстовых сообщений (SMS). Chow, et al. (2015) провели исследование эффективности подобного подхода в австралийском протоколе TEXT ME (Tobacco, EXercise and dieT MESSAGES), включившем 710 человек с подтверждённой коронарной болезнью сердца (средний возраст — 58 лет; 82% мужчин; 53% курильщики). В группе вмешательства пациенты получали 4 SMS в неделю в течение полугода. В сообщениях были советы, напоминания, моральная поддержка изменений образа жизни. Сообщения были пациент-специфические в соответствии с клиническими данными конкретного участника. Контрольная группа получала стандартную помощь по модификации образа жизни. К концу исследования выяснилось, что в группе вмешательства достоверно ниже стал уровень холестерина липопротеидов низкой плотности, сильнее снизилась масса тела и повысился средний уровень физической активности. Насколько эти изменения повлияют на долгосрочный прогноз, ещё предстоит оценить.

(По данным: *JAMA*, 2015)

РЕВОЛЮЦИЯ, КОТОРУЮ МЫ ПОЧТИ ПРОСПАЛИ

Затейщиков Д. А.^{1,2,3}, Монсеррат Л.⁴

Расшифровка генома человека и появление относительно простых методов секвенирования сделало возможным расшифровку генетической природы значительного числа заболеваний, в том числе и в кардиологии. Каналопатии, кардиомиопатии, семейные формы гиперлипидемии, легочная артериальная гипертензия — эти заболевания за рубежом являются показанием для углубленного генетического исследования. Статья посвящена описанию показаний для рутинного применения секвенирования нового поколения.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 7–11
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-7-11>

Ключевые слова: генетические заболевания, синдром удлиненного QT, синдром Бругада, синдром укороченного QT, катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия, аритмогенная дисплазия правого желудочка, легочная артериальная гипертензия, дилатационные кардиомиопатии, гипертрофическая кардиомиопатия, семейная гиперлипидемия, секвенирование нового поколения.

¹ГБУЗ Городская клиническая больница №51 ДЗ г. Москвы, Москва; ²ФГБУ ДПО Центральная государственная медицинская академия УД Президента РФ,

Москва; ³ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, Россия; ⁴University Hospital A Coruña, Spain.

Затейщиков Д. А. — д.м.н., руководитель первичного сосудистого отделения, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, в.н.с. лаборатории генетики, Монсеррат Л. — Researcher, Galician Health Service, Coordinator of the National Reference Unit for Inherited Cardiovascular Diseases, Cardiology Consultant, Internal Medical Resident, Research Fellow, St George's Hospital Medical School.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 dz@bk.ru

ВСС — внезапная сердечная смерть, ДКМП — дилатационная кардиомиопатия, ЛАГ — легочная артериальная гипертензия.

Рукопись получена 30.07.2015
 Рецензия получена 03.08.2015
 Принята к публикации 10.08.2015

THE REVOLUTION, WE HAVE ALMOST OVERSLEPT

Zateyshchikov D. A.^{1,2,3}, Monserrat L.⁴

Human genome decoding and the development of relatively simple methods of sequencing made it possible to unveil genetic origin of various diseases, including cardiologic. Canalopathies, cardiomyopathies, family forms of hyperlipidemia, pulmonary arterial hypertension — these diseases abroad are the indications for more profound genetic test. The article focuses on the indications for routine sequencing of new generation.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 7–11
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-7-11>

Key words: genetic disease, long QT syndrome, Brugada syndrome, shortened QT, catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia, arrhythmogenic right

ventricular dysplasia, pulmonary hypertension, dilated cardiomyopathy, hypertrophic cardiomyopathy, familial hyperlipidemia, next generation sequencing.

¹SBHI City Clinical Hospital №51 HD of Moscow, Moscow; ²FSBI APE Central state medical Academy of the administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow; ³FSBI Federal scientific-clinical center of specialized types of clinical care and medical technologies of FMBA of Russia, Moscow, Russia; ⁴University Hospital A Coruña, Spain.

После того, как окончание проекта “Геном человека” не привело к немедленной расшифровке персональной “книги судеб”, человечество впало в скептическое уныние: потрачены миллиарды без яркого и очевидного для всех результата. Между тем, генетические исследования из фантастически дорогого удовольствия превращались в рутину. Накапливались данные, и вдруг стали понятными механизмы развития многих заболеваний. Взрывообразное накопление информации принесло плоды и в 2010г в рекомендациях по лечению сердечной недостаточности одноименной американской ассоциации впервые появилась глава, посвященная генетическому тестированию [1]. Сложный инструмент научного поиска стал частью обычной клинической практики.

Особое значение генотипирование имеет для тех, у кого в семейном анамнезе имеются указания на внезапную смерть. Внезапная сердечная смерть (ВСС), произошедшая в возрасте до 40 лет в большинстве

своем — следствие генетически обусловленной патологии сердечно-сосудистой системы [2].

К сожалению, для абсолютного большинства отечественных кардиологов применение генетических методик остается чем — то ненужным, не имеющим практического смысла или, если и имеющим смысл, то в очень редких случаях.

Цель данной статьи — привлечь внимание к проблеме генетически обусловленных редких заболеваний в кардиологии, которые встречаются, как это не парадоксально звучит, достаточно часто.

Каналопатии

Каналопатии или, так называемые, первичные электрические заболевания сердца считаются одной из основных причин ВСС у детей и лиц молодого возраста без органических и структурных заболеваний сердца. Неизвестна точная частота их встречаемости.

Сегодня их условно разделяют в соответствии с “электрокардиографическим фенотипом” на 5 групп:

1. Синдром удлинённого интервала QT (LQT);
2. Синдром укороченного интервала QT (SQT);
3. Синдром Бругада (BrS);
4. Катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия (CPVT);
5. Синдром ранней реполяризации желудочков.

Иногда выделяют еще и идиопатическую фибрилляцию желудочков, которая диагностируется на основании выявления опасных для жизни желудочковых аритмий при исключении других заболеваний с высоким риском ВСС, имеющих четкие фенотипические признаки желудочковой тахикардии.

Синдром удлинённого интервала QT (LQTS). Этот синдром является, по некоторым оценкам, одной из самых частых причин ВСС в молодом возрасте [2]. В консенсусном документе 2013г [3] место генетического тестирования при LQTS описано в качестве одного из способов установления точного диагноза. Вышедшие в Канаде рекомендации по генетическому тестированию при врожденных аритмиях [4] рекомендуют включить в рутинный анализ лишь исследование мутаций в основных генах — *KCNQ1*, *KCNH2*, *SCN5A*, *KCNE1* и *KCNE*. Рутинное исследование редких генетических вариантов канадские эксперты посчитали нецелесообразным. Европейские эксперты в аналогичном документе вообще упоминают лишь три основных генотипа (LQT1, 2 и 3) [5]. Однако такое тестирование, по мнению экспертов, должно проводиться всем имеющим удлинение QT (как при наличии симптомов, так и лицам без клинических проявлений), а также всем родственникам. Российские национальные рекомендации по профилактике ВСС [6] также содержат заключение о целесообразности проведения генетического обследования. Следует иметь в виду, что для современных способов секвенирования с точки зрения стоимости и сложности анализа нет большой разницы — сколько генов включать в соответствующую панель исследования.

Синдром укороченного интервала QT. Синдром укороченного интервала QT (SQTS) — генетически обусловленное заболевание, характеризующееся укорочением, как абсолютного ($QT \leq 300-340$ мс), так и скорректированного ($QTc < 320$ мс) интервала QT, высоким, симметричным, остроконечным зубцом Т и большим спектром нарушений сердечного ритма от фибрилляции предсердий до желудочковых аритмий.

Заболевание может манифестировать в любом возрасте, но преимущественно это происходит в первый год жизни. Характерно наличие в анамнезе синкопальных состояний. Периодически может регистрироваться учащенное сердцебиение. Характерны:

- ВСС в молодом возрасте от желудочковых аритмий.
- Семейный анамнез ВСС в молодом возрасте.
- Семейный анамнез нарушений ритма (учащенное сердцебиение, фибрилляция предсердий).
- Отсутствие структурных заболеваний сердца.

Несмотря на то, что семейный характер заболевания очевиден, следует иметь в виду возможность возникновения новых мутаций.

Генетическое тестирование помогает уточнить диагноз и выявить среди родственников носителей патогенной мутации [5].

Синдром Бругада. Это генетически обусловленное заболевание, развивающееся вследствие аномальной электрофизиологической активности эпикарда правого желудочка в области выносящего тракта.

Именно электрическая гетерогенность эпикарда (не эндокарда) правого желудочка приводит к возникновению тесно сцепленных желудочковых сокращений по механизму ре-энтри, провоцирующих, в свою очередь, желудочковую тахикардию или фибрилляцию желудочков.

Проявления синдрома Бругада могут отличаться — от полного отсутствия клинической симптоматики до ВСС в раннем возрасте. Возраст манифестации синдрома также различен. Самый молодой пациент имел всего лишь двухдневный возраст, а самый старший был в возрасте 84 лет. Поскольку синдром Бругада — электрокардиографический синдром, правильная оценка ЭКГ имеет ключевое значение. Изменения на ЭКГ при синдроме Бругада могут носить преходящий характер, что требует поиска дополнительных методов верификации. Иногда для улучшения диагностики синдрома Бругада предлагают использовать высокие (на 1-2 межреберья выше) правые грудные отведения.

Нет данных, касающихся рутинного применения генотипирования для оценки риска ВСС при синдроме Бругада. В одной из работ было показано, что наличие мутаций в гене *SCN5A*, сопровождающихся потерей функции этого ионного канала, может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе [7]. Генотипирование может быть использовано для подтверждения диагноза и для выявления родственников — носителей соответствующей патологической мутации.

Катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия — еще один наследственный синдром, характеризующийся электрической нестабильностью кардиомиоцитов, возникающей вследствие острой активации симпатической нервной системы (на фоне физической или эмоциональной нагрузки) и приводящий к внезапной смерти. Дефект при этом синдроме локализуется в генах, отвечающих за реализацию ионов Са из внутриклеточного депо в ответ на катехоламиную стимуляцию. Это заболевание, никак себя, не проявляя до момента гибели больного, по некоторым оценкам является причиной 10-15% ВСС в молодом возрасте среди лиц, у которых при аутопсии не удалось обнаружить морфологические изменения сердца [2]. В связи с этим считается целесообразным включение в генетическую панель генов, ответственных за развитие этого синдрома, при обследовании родственников внезапно умерших больных. Носительство патологиче-

ской мутации приравнивается к установлению заболевания, поскольку его первым клиническим проявлением может быть ВСС [3].

Кардиомиопатии

Кардиомиопатии — не связанные с последствиями коронарного атеросклероза, гипертонии или пороков сердца заболевания миокарда, вызывающие структурные или функциональные его нарушения. Очевидная гетерогенность группы в настоящее время описывается одобренной ВОЗ в 2013г номенклатурой кардиомиопатий. По своей сути эта номенклатура весьма похожа на классификацию TNM, используемую в онкологии. Предполагается все подобные заболевания классифицировать по морфологическому фенотипу, вовлечению других органов, наличию семейного анамнеза и типу наследования, этиологии и стадии заболевания. Другими словами, генетический диагноз в настоящее время, по мнению ВОЗ, является обязательным этапом обследования больных с заболеваниями миокарда. По первым буквам соответствующих английских терминов номенклатура названа MOGE(S). Латинская буква S, заключенная в скобки, означает, что использование стадий или функциональных классов не является обязательным [8]. Правильно сформулированный диагноз кардиомиопатии должен содержать в себе все пункты номенклатуры. Например, диагноз больного в терминальной стадии дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) с расшифрованным генетическим дефектом в гене ламина в виде мутации p.Glu372Asp, не имеющем семейного анамнеза заболевания, должен звучать следующим образом:

ДКМП с изолированным поражением сердца, спорадическая обусловленная мутацией p.Glu372Asp в гене LMNA, XCH IV ф.к.

Механизмы аритмогенеза при кардиомиопатиях различны. Изменения структуры миокарда может быть основанием для аритмий. У части больных аритмии являются первым признаком заболевания, т.е. имеют причину для развития, отличную от изменения структуры миокарда.

Гипертрофическая кардиомиопатия — группа заболеваний преимущественно генетического характера. Это заболевание, характеризующееся наличием утолщения ≥ 15 мм одного или более сегментов левого желудочка, определенного визуальными методами (ЭхоКГ, МРТ, КТ), которое не может быть объяснено только нарушением пред- или постнагрузки. До настоящего времени не удается выявить мутации, которые бы указывали на больший риск ВСС, за исключением тех случаев, когда таких мутаций больше, чем одна.

Главная цель тестирования при этом заболевании — выявление причинной мутации для последующего обследования родственников [5].

Генетическое тестирование также показано, если обнаружение мутации означает постановку правиль-

ного диагноза и последующую коррекцию ведения больного. Это относится к тем, кто профессионально занимается спортом при выраженной гипертрофии в сочетании с артериальной гипертензией и т.п.

Дилатационные кардиомиопатии являются финальным фенотипом развития значительного числа разнородных заболеваний, при этом поражено может быть только сердце, однако в значительном числе генетически обусловленных случаев наблюдается вовлечение и других органов и систем. Генетическое тестирование показано больным ДКМП и нарушениями проводимости [5] при наличии в роду внезапно умерших родственников, для последующего поиска мутаций у родственников, при планировании семьи. В некоторых случаях генетическое тестирование помогает в установлении диагноза.

Аритмогенная дисплазия правого желудочка — наследственное заболевание, при котором преимущественно в миокарде правого желудочка происходит частичное замещение миокардиальной ткани фиброзно-жировой тканью, что, в свою очередь, служит субстратом для аритмогенеза. Наследуется заболевание по аутосомно-доминантному типу, в значительном числе случаев носит спорадический характер, связано с поражением десмосомальных белков. Генетическое тестирование, несмотря на наличие некоторых ассоциаций между локализацией мутации и клиническим течением заболевания, а также степенью вовлеченности левых отделов сердца в патологический процесс [9], пока не дает прогностической информации, которая бы дополняла клинические факторы риска [10, 11]. Исключением является выявление носительства более чем одной мутации [12]. Генотипирование, однако, позволяет установить правильный диагноз, а также выбрать для дальнейшего наблюдения родственников — носителей патологических мутаций [5]. Особенно важным становится установление правильного диагноза и выявление носительства неблагоприятных мутаций у лиц, профессионально занимающихся спортом. На сегодняшний день не только наличие клинически подтвержденной аритмогенной дисплазии правого желудочка, но и носительство мутации является противопоказанием к занятиям профессиональным спортом. Это связано с тем, что высокая физическая активность может способствовать началу заболевания, увеличивая и ускоряя пенетрантность [13].

Легочная артериальная гипертензия (ЛАГ)

В последние десятилетия существенно поменялось отношение к повышению давления в системе легочной артерии. Если раньше термин, чаще всего описывающий подобное состояние, звучал как “легочное сердце”, то в настоящее время выделяют 5 типов повышения давления в зависимости от патогенеза этого состояния. Важно, что для некоторых категорий больных разработано специфическое лечение, увеличивающее продолжительность жизни. В этой связи, правильная постановка диагноза особенно важна. В диагностике целесо-

Таблица 1

Факторы, влияющие на пенетрантность каналопатий [16]

Фактор	Влияние на ЭКГ	Влияние на риск ВСС
Эстрогены	Удлинение QT	Снижение (у больных с синдромом Бругада) Увеличение (у больных LQTS)
Прогестерон	Укорочение QT	Снижение (у больных LQTS)
Тестостерон	Укорочение QT	Увеличение (у больных с синдромом Бругада) Снижение (у больных LQTS)
Гипотермия или лихорадка	Способствует элевации сегмента ST и удлинению QT	Увеличение (у больных с синдромом Бругада) Увеличение (у больных LQTS)
Гипокалиемия	Удлинение QT	Увеличение (у больных LQTS)
Блокаторы натриевых каналов	Способствуют элевации ST	Увеличение (у больных с синдромом Бругада)

образно использовать методики генетического тестирования.

Цели генетического тестирования у больного ЛАГ следующие:

- подтвердить клинический диагноз у больных, имеющих симптомы ЛАГ.
- осуществить дифференциальный диагноз с другими формами ЛАГ.
- установить генетическую причину идиопатической ЛАГ.
- отобрать бессимптомных носителей мутации для клинического мониторинга.

Последнее особенно важно, поскольку потенциально означает значительно более раннее начало лечения специфическими лекарствами, наиболее эффективными на ранних стадиях заболевания.

Если у больного с легочной гипертензией найдена “причинная” мутация, это означает выявление причины гипертонии и позволяет отнести заболевание в группу ЛАГ (1-я по классификации ВОЗ), дает неоспоримые доказательства потенциальной целесообразности применения лекарств, специфических для этого заболевания, позволяет выявить родственников, имеющих риск развития заболевания.

Если “причинная” мутация не обнаружена, этот факт не исключает генетической причины заболевания, может быть следствием некачественной аналитической процедуры, следствием исследования неправильного или недостаточного набора генов. Однако это также в большом числе случаев может указывать на другую (негенетическую) природу ЛАГ.

Следует отметить, что генотипирование является, по мнению экспертов, создававших Европейские рекомендации по лечению ЛАГ, обязательным диагностическим тестом у таких больных [14].

Семейная гиперлипидемия

При кажущейся редкости в гетерозиготном состоянии эта группа заболеваний встречается с достаточной частотой [15]. По некоторым данным в разных популяциях частота встречаемости колеблется от 1:500 до 1:200 случаев. Значительное количество инфарктов миокарда у относительно молодых больных (до 55 лет у мужчин

и до 60 лет у женщин) может быть следствием гетерозиготной семейной гиперлипидемии. Генетическое тестирование показано для выяснения происхождения повышенного уровня липидов и выявления родственников — носителей патогенной мутации. В случае, если уровень холестерина у них повышен, наличие генетического дефекта дает основания для существенно более раннего начала агрессивного гиполипидемического лечения. Появление нового класса гиполипидемических препаратов, блокаторов PCSK9, делает такое тестирование еще более актуальным.

Секвенирование нового поколения

Развитие технологий секвенирования привело к тому, что сегодня от изучения выбранных мутаций и их поиска в отдельных генах можно перейти к исследованию значительного числа потенциально вовлеченных генов. Причем стоимость такого исследования становится экономически переносимой как для системы здравоохранения, так и для больного. Эти методики имеют собирательное название “секвенирование следующего поколения”. Однако, несмотря на относительную простоту выполнения анализа, работа с генетическим материалом требует создания специального мультидисциплинарного коллектива, состоящего из грамотных молекулярных биологов, биоинформатиков и врачей — специалистов в данных заболеваниях, одновременно обладающих и генетическими познаниями. За рубежом подобный подход постепенно приносит свои плоды, в России же таких мультидисциплинарных лабораторий пока нет.

Основы генетического консультирования больных с потенциально наследственными кардиологическими заболеваниями

Естественно, что использование современных лабораторных методик генотипирования не исключает, а дополняет комплекс действий, называемых генетическим консультированием. При его проведении следует учитывать наличие факторов, влияющих на пенетрантность соответствующей мутации и на то, как эти факторы могут изменять риск развития фатальных эпизодов. Надо иметь в виду, что один и тот же фактор может по-разному себя проявлять при различных заболева-

ниях. Хотя окончательного понимания, каким образом реализуются эти закономерности до сих пор нет, все же накопленные наблюдения (табл. 1) могут дать полезную информацию [16], по крайней мере в отношении некоторых каналопатий.

На первом этапе для каждого консультируемого следует обозначить конкретные цели, они могут отличаться у самого пробанда и его родственников.

Генетическое консультирование начинается со сбора семейного анамнеза. Принципиальным моментом является сбор информации в отношении минимум трех поколений. Сбор семейного анамнеза имеет множество ограничений, связанных с отсутствием достоверной медицинской информации, с тем, что в России на протяжении XX века разрушена связь между поколениями, с тем, что уменьшается число детей в семье. Кроме того, суждение о причинах смерти всего несколько лет назад кардинальным образом отличалось от нынешнего. Современные представления о наследственных кардиологических заболеваниях, как существенной причины внезапной смерти, вообще сложились в последнее десятилетие. ВСС чаще всего расценивалась как проявление острой коронарной недостаточности, поэтому родственники чаще всего считали такую гибель проявлением инфаркта миокарда либо следствием мифического “отрыва тромба”. Сбор анамнеза, в связи с этим, обязательно должен включать в себя вопросы, направленные на получение информации по всем случаям преждевременной смерти в семье независимо от их причины.

Генетическое консультирование может выявить тип наследования, однако в значительном числе случаев семейная история может оказаться неинформативной или вообще неизвестной. В случае, если история известна и хорошо документирована, уже на этом этапе можно сделать заключение о том, что имеет место спорадический случай.

Сбор семейного анамнеза должен охватывать не менее 3-х поколений. Выясняется наличие в семейном анамнезе кардиомиопатий, сердечной недостаточности (или симптомов — одышки, отеки, необычная утомляемость), выясняется наличие в семье случаев внезапной смерти (остановки сердца), проблемы со стороны мышечной системы (судороги, ригидность, анамнез мышечных дистрофий), расстройства сердечного ритма или проводимости, включая необходимость имплантации пейсмекера или кардиовертера-дефибриллятора, наличие у родственников эпизодов сердцебиения, синкопальных состояний, учитывается возраст появления всех симптомов.

Крайне желательно проведение обследования родственников — иногда можно выявить доклинические формы заболевания.

Обследование членов семьи, не имеющих симптомов заболевания

Бессимптомным членам семьи пробанда должно быть обязательно проведено молекулярно-генетическое тестирование. Несмотря на то, что оно не используется для прогнозирования возраста начала, тяжести или специфичности симптомов, что наблюдается у бессимптомных индивидов, оно необходимо для дальнейшего наблюдения и выбора тактики лечения.

Заключение

Таким образом, сегодня для значительного числа кардиологических пациентов и их родственников имеется настоятельная необходимость включения в обследование молекулярно-генетических методов диагностики, что, в свою очередь, требует неотложного создания специализированных центров, способных осуществлять весь комплекс мероприятий, связанный с ведением таких больных.

Литература

- Heart Failure Society of A. Executive Summary: HFSA 2010 Comprehensive Heart Failure Practice Guideline. *Journal of Cardiac Failure* 2010, 16(6): 475-539.
- Semsarian C, Ingles J, Wilde AAM. Sudden cardiac death in the young: the molecular autopsy and a practical approach to surviving relatives. *European Heart Journal* 2015, 36(21): 1290-6.
- Priori SG, Wilde AA, Horie M, et al. HRS/EHRA/APHRS Expert Consensus Statement on the Diagnosis and Management of Patients with Inherited Primary Arrhythmia Syndromes. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society* 2013, 10(12): 1932-63.
- Gollob MH, Blier L, Brugada R, et al. Recommendations for the use of genetic testing in the clinical evaluation of inherited cardiac arrhythmias associated with sudden cardiac death: Canadian Cardiovascular Society/Canadian Heart Rhythm Society joint position paper. *The Canadian journal of cardiology* 2011, 27(2): 232-45.
- Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society* 2011, 8(8): 1308-39.
- National guidelines for the definition of risk and prevention of sudden cardiac death. *Clinical practice* 2012(4):6-75. Russian (Национальные рекомендации по определению риска и профилактике внезапной сердечной смерти. Клиническая практика 2012 (4): 6-75).
- Meregalli PG, Tan HL, Probst V, et al. Type of *SCN5A* mutation determines clinical severity and degree of conduction slowing in loss-of-function sodium channelopathies. *Heart rhythm: the official journal of the Heart Rhythm Society* 2009, 6(3): 341-8.
- Kim JJ, Nemej J, Li Q, et al. Synchronous Systolic Subcellular Ca²⁺-Elevations Underlie Ventricular Arrhythmia in Drug-Induced Long QT Type 2. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology* 2015:CIRCEP.114.002214.
- Bhonsale A, Groeneweg JA, James CA, et al. Impact of genotype on clinical course in arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy-associated mutation carriers. *Eur Heart J* 2015, 36(14): 847-55.
- Protonotarios A, Anastakis A, Panagiotakos DB, et al. Arrhythmic risk assessment in genotyped families with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Europace: European pacing, arrhythmias, and cardiac electrophysiology: journal of the working groups on cardiac pacing, arrhythmias, and cardiac cellular electrophysiology of the European Society of Cardiology* 2015:euv061.
- Groeneweg JA, Bhonsale A, James CA, et al. Clinical Presentation, Long-Term Follow-Up, and Outcomes of 1001 Arrhythmogenic Right Ventricular Dysplasia/Cardiomyopathy Patients and Family Members. *Circulation Cardiovascular genetics* 2015, 8(3): 437-46.
- Bezzina CR, Lahrouchi N, Priori SG. Genetics of Sudden Cardiac Death. *Circ Res* 2015, 116(12): 1919-36.
- Corrado D, Zorzi A. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and sports activity. *Eur Heart J* 2015:ehv183.
- Galliè N, Hoepfer MM, Humbert M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension, vol. 30; 2009.
- Reiner Ž, Catapano AL, De Backer G, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias, vol. 32; 2011.
- Giudicessi JR, Ackerman MJ. Determinants of incomplete penetrance and variable expressivity in heritable cardiac arrhythmia syndromes. *Transl Res* 2013, 161(1): 1-14.

ПРОВЕРКА АССОЦИАЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *KIF6*, *PALLD*, *SNX19*, *MYH15*, *VAMP8* ГЕНЕТИЧЕСКОГО РИСКОМЕТРА ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

Максимов В. Н.^{1,3}, Иванова А. А.¹, Орлов П. С.^{1,2}, Савченко С. В.^{3,4}, Воевода М. И.^{1,2}

Цель. Исследование ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8*, включенных в рискметр ишемической болезни сердца в исследовании корпорации Celera (США), с внезапной сердечной смертью.

Материал и методы. В исследование включена группа лиц, умерших внезапной сердечной смертью, сформированная по критериям ВОЗ ($n=352$, средний возраст — $53,3 \pm 8,9$), контрольная группа, подобранная по полу и возрасту из банка ДНК исследований HAPIEE, MONICA ($n=381$, средний возраст — $53,1 \pm 8,3$), группа подростков ($n=296$, средний возраст — $15,6 \pm 0,9$). ДНК выделена методом фенол-хлороформной экстракции из миокарда лиц, умерших внезапной сердечной смертью, и венозной крови лиц, включенных в контрольные группы. Генотипирование выполнено методом Real-time PCR с использованием технологии TaqMan-зондов (Applied Biosystems).

Результаты. По частотам генотипов и аллелей полиморфизмов rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15* не было найдено статистически значимых различий между группами. В группе лиц старше 50 лет, умерших внезапной сердечной смертью, выявлено статистически значимое уменьшение доли носителей генотипа GG полиморфизма rs20455 гена *KIF6* (9,0%) по сравнению с контрольной группой (17,8%) ($p=0,009$, ОШ=0,456, 95% ДИ 0,256-0,810). В группе мужчин старше 50 лет, умерших внезапной сердечной смертью, найдено значимое уменьшение доли носителей генотипа CC (8,0%) ($p=0,002$, ОШ=0,328, 95% ДИ 0,159-0,678) и увеличение доли носителей генотипа CT (49,6%) ($p=0,025$, ОШ=1,729, 95% ДИ 1,084-2,758) полиморфизма rs1010 гена *VAMP8* по сравнению с контрольной группой (21,0%, 36,3%, соответственно).

Заключение. Полиморфизмы rs20455 гена *KIF6* и rs1010 гена *VAMP8* ассоциированы с внезапной сердечной смертью.

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, однонуклеотидный полиморфизм, рискметр, ген rs20455, *KIF6*, rs7439293, *PALLD*, rs2298566, *SNX19*, rs3900940, *MYH15*, rs1010, *VAMP8*.

¹ФГБУ Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины СО РАН, Новосибирск; ²Учреждение РАН — Институт Цитологии и Генетики Сибирского Отделения РАН, Новосибирск; ³ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию; ⁴ГУЗ Новосибирское областное бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск, Россия.

Максимов В. Н. — д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Иванова А. А.* — м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Орлов П. С. — м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, Савченко С. В. — д.м.н., профессор кафедры судебной медицины, Воевода М. И. — д.м.н., профессор, член-корр. РАМН, директор.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
ivanova_a_a@mail.ru

ВСС — внезапная сердечная смерть, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм.

Рукопись получена 25.12.2014

Рецензия получена 22.01.2015

Принята к публикации 28.01.2015

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 12–18

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-12-18>

EVALUATION OF THE GENETIC RISKOMETER COMPONENTS *KIF6*, *PALLD*, *SNX19*, *MYH15*, *VAMP8* FOR ISCHEMIC HEART DISEASE WITH SUDDEN CARDIAC DEATH

Maksimov V. N.^{1,3}, Ivanova A. A.¹, Orlov P. S.^{1,2}, Savchenko S. V.^{3,4}, Voevoda M. I.^{1,2}

Aim. The study of mononucleotide polymorphisms associations rs20455 gene *KIF6*, rs7439293 gene *PALLD*, rs2298566 gene *SNX19*, rs3900940 gene *MYH15*, rs1010 gene *VAMP8*, included into the Riskometer of ischemic heart disease of the Celera Corporation (USA), in sudden cardiac death.

Material and methods. To the study the group of persons included, died from sudden cardiac death, according to the WHO criteria ($n=352$, mean age — $53,3 \pm 8,9$ y.), control group from matched by age and gender from DNA bank of HAPIEE, MONICA studies ($n=381$, mean age — $53,1 \pm 8,3$ y.), adolescents group ($n=296$, mean age — $15,6 \pm 0,9$ y.). DNA extracted via the phenol-chloroform extraction from myocardium of the dyed due to sudden cardiac death, and from venous blood of controls. Genotyping performed with Real-time PCR method using the Taq-Man-catheters technology (Applied Biosystems).

Results. The prevalence of alleles rs7439293 gene *PALLD*, rs2298566 gene *SNX19*, rs3900940 gene *MYH15* did not statistically significantly differ among the groups. In those died suddenly older than 50 years, there was significant decrease of carriers of GG polymorphism rs20455 gene *KIF6* (9,0%) comparing to the controls (17,8%) ($p=0,009$, OR=0,456, 95% CI 0,256-0,810). In men older 50, died suddenly, there was significant decrease of the carriers of genotype CC (8,0%)

($p=0,002$, OR=0,328, 95% CI 0,159-0,678) and increase of CT genotype (49,6%) ($p=0,025$, OR=1,729, 95% CI 1,084-2,758) polymorphism rs1010 gene *VAMP8* comparing to the controls (21,0%, 36,3%, respectively).

Conclusion. Polymorphisms rs20455 gene *KIF6* and rs1010 gene *VAMP8* are associated with sudden cardiac death.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 12–18

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-12-18>

Key words: sudden cardiac death, mononucleotide polymorphism, riskometer, gene rs20455, *KIF6*, rs7439293, *PALLD*, rs2298566, *SNX19*, rs3900940, *MYH15*, rs1010, *VAMP8*.

¹FSBI Scientific-Research Institute of Therapy and Prevention Medicine of SD RAS, Novosibirsk; ²RAS Institution The Institute of Cytology and Genetics of Siberian RAS Department, Novosibirsk; ³SEI HPE Novosibirsk State Medical University of the Federal Agency for Healthcare and Social Development, Novosibirsk; ⁴SHI Novosibirsk Regional Bureau of Forensic Medicine, Novosibirsk, Russia.

В 2007г американской корпорацией Celera было проведено крупномасштабное исследование с целью создания генетической шкалы риска ишемической болезни сердца (ИБС) и оценки ее информативности в отношении данной нозологии без учета традиционных факторов риска [1]. В исследование было включено пять однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8*. Ранее исследуемые полиморфизмы были найдены ассоциированными с ИБС и инфарктом миокарда по данным ряда исследований, в том числе исследования ARIC (Atherosclerosis Risk in Communities study). В основу исследования Celera легла другая работа по созданию генетической шкалы риска ИБС, в которую были включены 10 ОНП [2]. Но, в ходе ряда исследований случай-контроль, пять из десяти ОНП не подтвердили свою ассоциацию с ИБС, поэтому в исследовании корпорации Celera, целью которого было создание шкалы высокого генетического риска, данные ОНП включены не были. Для каждого участника исследования был проведен расчет индивидуального генетического риска. При наличии носительства патологического гомозиготного генотипа риск увеличивался на 1, при носительстве гетерозиготного генотипа риск не изменялся, а при носительстве непатологического аллеля в гомозиготной форме риск уменьшался на 1. В качестве высокого генетического риска был принят риск 3 и более. При статистической обработке полученных данных оказалось, что высокий генетический риск ассоциирован с ИБС (ОШ=1,64), после учета традиционных факторов риска (дислипидемии, артериальная гипертензия и другие), ассоциация сохранилась почти неизменной (ОШ=1,57). В когорте ARIC лица с высоким генетическим риском ИБС составили 4% [1].

Основной причиной развития внезапной сердечной смерти (ВСС) у лиц среднего возраста и старше является ИБС. Поэтому генетические маркеры риска ИБС могут быть информативными и в отношении риска развития ВСС.

Ген *KIF6* (6p21.2) кодирует один из белков суперсемейства кинезинов, которые регулируют внутриклеточный транспорт органелл, протеиновых комплексов и мРНК; rs20455 гена *KIF6* ассоциирован с ИБС и инфарктом миокарда по данным нескольких исследований [3-6].

Ген *PALLD* (4q32.3) кодирует белок палладин, который входит в состав микрофиламентов, контролирует клеточную форму, адгезию, клеточное взаимодействие. rs7439293 гена *PALLD* исследован в качестве генетического маркера риска атеросклероза сонных артерий и различных его исходов (инфаркт, инсульт, смерть) [7].

Ген *SNX19* кодирует сортирующий нексин 19 (11q25), входящий в состав мембраны цитоплазматиче-

ских пузырьков, участвует в процессах клеточного взаимодействия и транспорта протеинов.

Ген *MYH15* (3q13.13) кодирует тяжелую цепь миозина. Белок миозин играет важную роль в двигательной активности, входит в состав миофибрилл и миофиновых филаментов.

Ген *VAMP8* (2p11.2) кодирует протеин SNAP25, который входит в состав белкового комплекса синаптических пузырьков, rs1010 гена *VAMP8* ассоциирован с риском развития ИБС у женщин пожилого возраста [4]. На китайской популяции показано, что Т-аллель полиморфизма является аллелем риска развития ИБС [8].

Ранее в мире исследований ассоциации полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8* с ВСС проведено не было.

Материал и методы

В группу ВСС (n=352) были включены внезапно умершие лица, подвергнутые судебно-медицинской экспертизе и подходящие по критериям ВСС, по МКБ-10 ВОЗ, которые определяют ВСС как смерть сердечного генеза, наступившую в течение одного часа с момента возникновения первых симптомов, а при отсутствии свидетелей смерти допускается увеличение временного периода до 24 часов. В группу не были включены лица, умершие от инфаркта миокарда, который не относится по МКБ-10 к ВСС. Также из группы ВСС были исключены лица с признаками кардиомиопатий по данным аутопсии. Средний возраст умерших составил $53,30 \pm 8,85$ лет, женщины составили 30,1%, мужчины — 69,9%. На аутопсии была забрана ткань миокарда в количестве 5-10 г, из которой в дальнейшем методом фенол-хлороформной экстракции выделена ДНК.

Контрольная группа (n=381) была подобрана по полу и возрасту из банка ДНК международных исследований HAPIEE (Health, Alcohol and Psychosocial factors In Eastern Europe) и MONICA (Multinational MONItoring of trends and determinants in Cardiovascular disease). Средний возраст в контрольной группе составил $53,12 \pm 8,36$ лет, женщин было 32,3%, мужчин — 67,7%.

Группа подростков (n=296) сформирована из учащихся общеобразовательных школ, участвовавших в одномоментном популяционном исследовании школьников, проведенном НИИ терапии СО РАМН в 2003г. Группа подростков сформирована с целью оценки возможной динамики частот генотипов в разных возрастных группах. ДНК подростков выделена методом фенол-хлороформной экстракции из венозной крови. Средний возраст в группе составил $15,59 \pm 0,93$ лет, девочек было 16,9%, мальчиков — 83,1%.

Генотипирование по выбранным однонуклеотидным полиморфизмам выполнено методом ПЦР

Таблица 1

Частоты генотипов полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*,
rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8*

Ген	Однонуклеотидный полиморфизм	Генотип	ВСС		Контрольная группа		Подростки	
			n	%	n	%	n	%
<i>SNX19</i>	rs2298566	AA	18	5,4	14	3,7	16	5,5
		AC	108	32,4	125	33,2	94	32,2
		CC	207	62,2	238	63,1	182	62,3
		Итого:	333	100,0	377	100,0	292	100,0
<i>KIF6</i>	rs20455	AA	148	43,1	141	37,4	115	39,1
		AG	160	46,6	170	45,1	142	48,3
		GG	35	10,2	66	17,5	37	12,6
		Итого:	343	100,0	377	100,0	294	100,0
<i>PALLD</i>	rs7439293	AA	114	34,1	128	34,0	103	35,2
		AG	180	53,9	195	51,7	146	49,8
		GG	40	12,0	54	14,3	44	15,0
		Итого:	334	100,0	377	100,0	293	100,0
<i>VAMP8</i>	rs1010	CC	38	11,1	62	16,8	35	11,9
		CT	158	46,2	153	41,4	158	53,7
		TT	146	42,7	155	41,9	101	34,4
		Итого:	342	100,0	370	100,0	294	100,0
<i>MYH15</i>	rs3900940	CC	34	9,9	34	9,2	37	16,6
		CT	131	38,1	133	35,9	113	38,4
		TT	179	52,0	203	54,9	144	49
		Итого:	344	100,0	370	100,0	294	100,0

в реальном времени с использованием технологии TaqMan-зондов (Applied Biosystems, USA) по протоколам фирмы производителя на приборах StepOne Plus и AB 7900HT (Applied Biosystems, USA). Полученные результаты статистически обработаны с помощью пакета программ SPSS 11.5, определены частоты генотипов, изучаемых ОНП в группе ВСС и в контрольных группах. В контрольной группе и группе подростков с использованием критерия хи-квадрат оценено соответствие наблюдаемых частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга. Сравнение групп по частотам генотипов выполнялось с помощью таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 по Пирсону. В случае четырёхпольных таблиц применяли точный двусторонний критерий Фишера с поправкой Йетса на непрерывность. В качестве уровня значимости использовали $p < 0,05$. Относительный риск ВСС по конкретному генотипу вычисляли как отношение шансов с использованием точного двухстороннего критерия Фишера и критерия хи-квадрат по Пирсону.

В контрольной группе на предмет ассоциации с выбранными полиморфизмами рассмотрены параметры внутреннего гомеостаза, такие как холестерин, ЛПВН, ЛПНП, триглицериды, артериальное давление, которые выступают в качестве модифицируемых факторов риска развития ИБС и, следовательно, ВСС. Нормальность распределения параметров

исследовали с использованием теста Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении дальнейшие расчеты производились с использованием теста ANOVA, в остальных случаях использовали тест Крускала-Уоллиса. В качестве уровня значимости также использовали $p < 0,05$.

Исследование одобрено этическим комитетом НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН.

Результаты

Частоты генотипов полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15* в контрольной группе и группе подростков находятся в равновесии Харди-Вайнберга (табл. 1). По частотам генотипов rs1010 гена *VAMP8* в контрольной группе и группе подростков выявлено отклонение от равновесия Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 5,08$, $p < 0,005$; $\chi^2 = 5,11$, $p < 0,005$, соответственно). Для исключения ошибок генотипирования rs1010 гена *VAMP8*, часть образцов ДНК была проверена с помощью секвенирования по Сэнгеру.

Не было найдено статистически значимых различий между группами по частотам генотипов rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*.

В группе ВСС обнаружено статистически значимое уменьшение доли носителей генотипа GG поли-

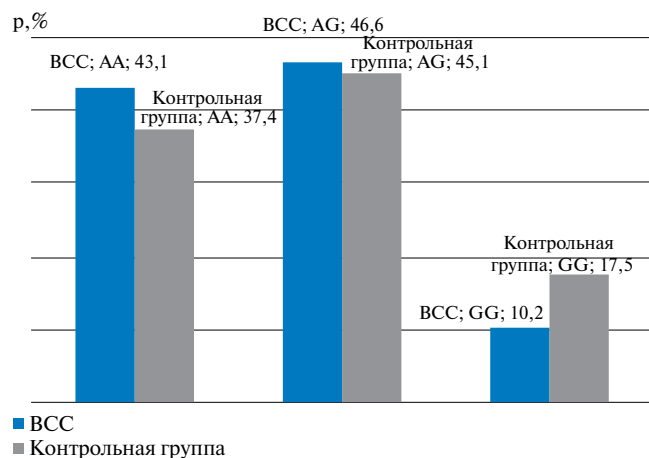


Рис. 1. Частоты генотипов полиморфизма rs20455 гена *KIF6* в группе ВСС и контрольной группе.

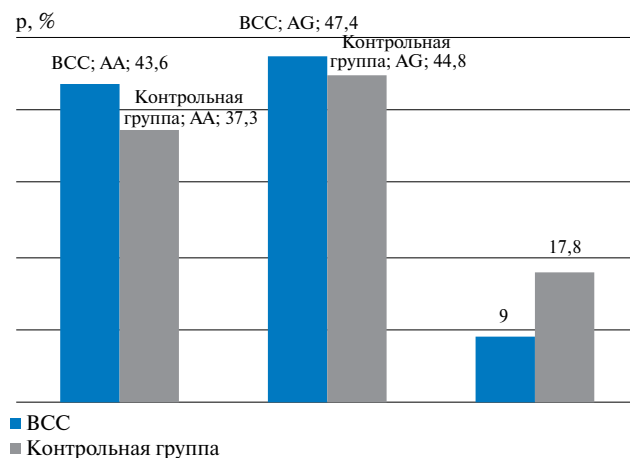


Рис. 2. Частоты генотипов полиморфизма rs20455 гена *KIF6* в группе ВСС и контрольной группе старше 50 лет.

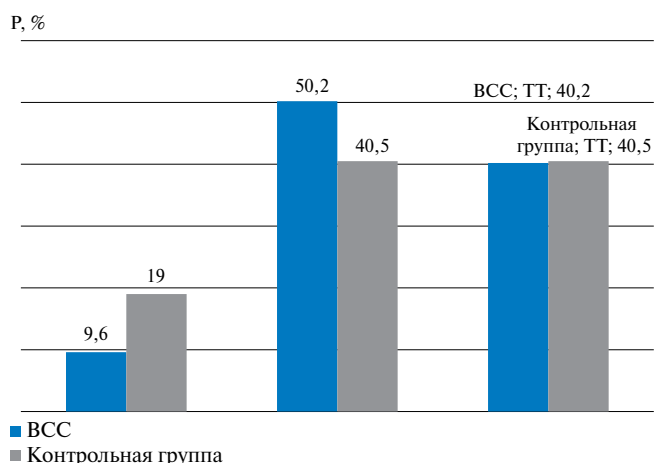


Рис. 3. Частоты генотипов rs1010 гена *VAMP8* в группе ВСС и контрольной группе старше 50 лет.

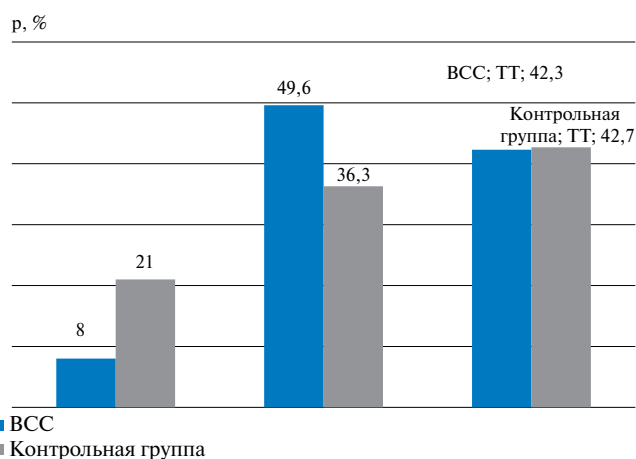


Рис. 4. Частоты генотипов rs1010 гена *VAMP8* в группе ВСС и контрольной группе мужчин старше 50 лет.

морфизма rs20455 гена *KIF6* (10,2%) по сравнению с контрольной группой (17,5%) (ОШ=0,535, 95% ДИ 0,345-0,831, $p=0,005$) (рис. 1). При дальнейшем разделении групп по полу и возрасту данное различие сохранялось только в группе лиц старше 50 лет (рис. 2). В группе лиц, умерших ВСС в возрасте старше 50 лет, наблюдалось статистически значимое уменьшение доли носителей генотипа GG полиморфизма rs20455 гена *KIF6* (9,0%) по сравнению с контрольной группой (17,8%) (ОШ=0,456, 95% ДИ 0,256-0,810, $p=0,009$). Возраст 50 лет выбран с целью разделения случаев ВСС с предположительно разной патогенетической основой. Как для любого мультифакторного состояния, для ВСС характерен больший вклад в развитие генетических факторов в более молодом возрасте, тогда как в возрасте старше 50 лет в развитие ВСС вносят вклад другие факторы, в частности ИБС.

По частотам генотипов полиморфизма rs1010 гена *VAMP8* не найдено статистически значимых различий

между группой ВСС и контрольной группой. Но при разделении групп по полу и возрасту найдены статистически значимые различия в группе старше 50 лет (рис. 3), в дальнейшем при разделении этой группы по полу ассоциация сохранилась в группе мужчин (рис. 4). Так доля носителей генотипа СТ в группе мужчин старше 50 лет, умерших ВСС (49,6%), значимо больше, чем в контрольной группе соответствующего пола и возраста (36,3%) (ОШ=1,729, 95% ДИ 1,084-2,729, $p=0,025$). В группе мужчин старше 50 лет, умерших ВСС, доля носителей генотипа СС (8,0%) значимо меньше по сравнению с контрольной группой (21,0%) (ОШ=0,328, 95% ДИ 0,159-0,678, $p=0,002$).

При сравнении группы подростков с контрольной группой и группой ВСС найдены статистически значимые различия по частотам генотипов rs1010 гена *VAMP8* и rs20455 гена *KIF6*.

По частотам генотипов rs1010 гена *VAMP8* наблюдается снижение носителей генотипа СТ в контрольной

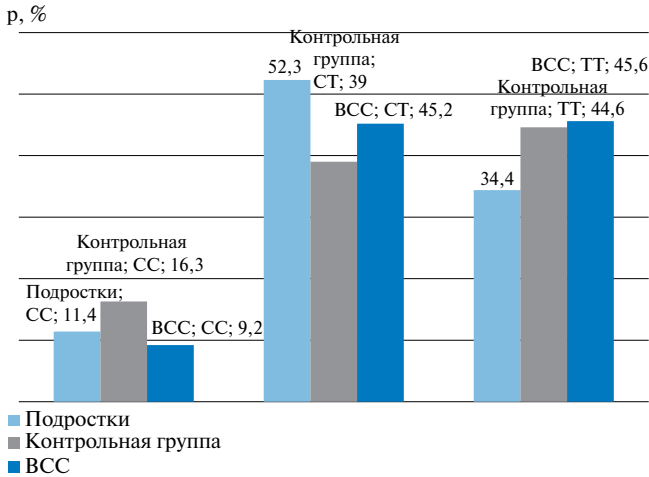


Рис. 5. Частоты генотипов rs1010 гена *VAMP8* в группе подростков, контрольной группе и группе BCC (мужской пол).

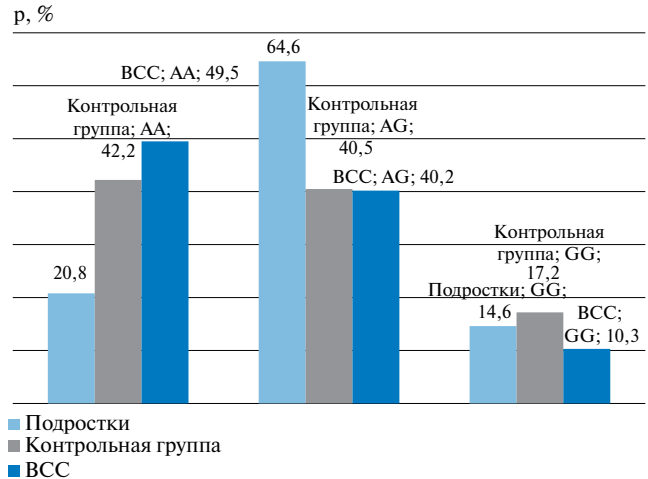


Рис. 6. Частоты генотипов rs20455 гена *KIF6* в группе подростков, контрольной группе и группе BCC (женский пол).

ной группе (41,4%) по сравнению с группой подростков (53,6%) (ОШ=1,636, 95% ДИ 1,202-2,227, $p=0,002$). При дальнейшем анализе данная ассоциация сохранилась у мужчин исследуемых групп (рис. 5). Так у мужчин контрольной группы доля генотипов СТ меньше по сравнению с группой мальчиков-подростков (ОШ=1,854, 95% ДИ 1,297-2,650, $p=0,001$). Помимо этого, в контрольной группе мужчин наблюдается увеличение доли носителей генотипов ТТ (44,6%) по сравнению с группой мальчиков-подростков (34,4%) (ОШ=1,544, 95% ДИ 1,075-2,219, $p=0,022$). Тоже увеличение носителей генотипов ТТ наблюдается и в группе мужчин, умерших BCC (45,6%), по сравнению с группой мальчиков-подростков (34,4%) (ОШ=1,608, 95% ДИ 1,109-2,329, $p=0,014$).

По частотам генотипов rs20455 гена *KIF6* наблюдается статистически значимое различие в контрольной группе женщин и группе девочек-подростков. Сходные различия определяются и между группой девочек-подростков и группой женщин, умерших BCC (рис. 6). Так в контрольной группе женщин наблюдается увеличение доли носительниц генотипа АА (49,5%) по сравнению с группой девочек-подростков (20,8%) (ОШ=2,779, 95% ДИ 1,264-6,111, $p=0,012$). В группе женщин, умерших BCC, и группе девочек-подростков различия сохраняются (ОШ=3,722, 95% ДИ 1,669-8,303, $p=0,001$). В контрольной группе женщин и в группе женщин, умерших BCC, статистически значимо меньше носительниц генотипа АГ (40,5%, 40,2%, соответственно) по сравнению с группой девочек-подростков (64,6%) (ОШ=0,374, 95% ДИ 0,186-0,751, $p=0,006$; ОШ=0,369, 95% ДИ 0,180-0,756, $p=0,008$, соответственно).

По показателям внутреннего гомеостаза с уровнем диастолического артериального давления ассоцииро-

ван rs2298566 гена *SNX19*, других ассоциаций полиморфизмов с внутренними показателями выявить не удалось.

Обсуждение

В исследование корпорации Celera были включены наиболее информативные в отношении риска развития ИБС полиморфизмы генов на момент исследования: rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8*. Из исследования были исключены однонуклеотидные полиморфизмы, которые, хотя бы в одном исследовании, не подтвердили своей ассоциации с ИБС [1, 2]. Исследуемые гены показали неоднократную ассоциацию с ИБС, инфарктом миокарда и нарушениями липидного обмена в крупных многоцентровых исследованиях — например, ARIC, и нескольких исследованиях йцф\случай-контроль [6-8]. Мы предположили, что данные полиморфизмы вносят свой вклад и в развитие BCC, как одной из форм ИБС. Кроме того, ИБС и BCC имеют сходную патогенетическую основу. Ранее данные полиморфизмы не были изучены на наличие ассоциации с BCC.

Согласно полученным нами результатам, полиморфизмы rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15* не показали ассоциации с BCC. Проведенное после исследования Celera исследование случай-контроль rs7439293 гена *PALLD* не выявило ассоциации полиморфизма с развитием атеросклероза сонных артерий и его фатальными исходами (инфаркт, инсульт, смерть) [7]. Исследование rs2298566 гена *SNX19* с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний проведено ранее не было; rs3900940 гена *MYH15* был найден ассоциированным не только с ИБС, но и с некардиоэмболическим инсультом [9].

Обнаруженное в группе ВСС статистически значимое уменьшение доли носителей генотипа GG полиморфизма rs20455 гена *KIF6* по сравнению с контрольной группой свидетельствует об условно-протективной роли генотипа GG в отношении развития ВСС. Но, так как в ходе дальнейшего анализа выяснилось, что данная закономерность сохраняется только в группе лиц старше 50 лет, можно сделать вывод о большей условно-протективной роли генотипа именно в этой возрастной группе. В двух мировых проспективных исследованиях CARE (Cholesterol and Recurrent Events), WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention Study) показана ассоциация полиморфизма с риском развития инфаркта миокарда, ИБС и положительная роль статинов, влияющая на этот риск [6]. Также показана ассоциация G аллеля этого полиморфизма с инфарктом миокарда и ИБС у женщин в исследовании Women's Health Study [5]. Ряд исследований случай-контроль не подтвердили описанную в предыдущих публикациях ассоциацию G-аллеля с ИБС и инфарктом миокарда: так, у жителей Коста-Рики G-аллель полиморфизма не увеличивает риск развития инфаркта миокарда, то же отсутствие ассоциации ОНП с ИБС показано в двух крупных рандомизированных исследованиях [10, 11]. Полученные нами результаты не противоречат данным предыдущих мировых исследований, поскольку исследования касались только ИБС и инфаркта миокарда, а ВСС, хотя и имеет сходную патофизиологическую основу с ИБС, но является отдельной нозологической формой со своими патогенетическими особенностями. Кроме того, нами были обнаружены статистически значимые различия между группой подростков, контрольной группой и группой ВСС по частотам генотипов полиморфизма. В контрольной группе женщин и группе женщин, умерших ВСС, наблюдается увеличение доли носительниц генотипа AA по сравнению с группой девочек — подростков. Помимо этого, в контрольной группе женщин и в группе женщин, умерших ВСС, статистически значимо меньше носительниц генотипа AG по сравнению с группой девочек-подростков. Полученные данные свидетельствуют о возрастной динамике частот генотипов в популяции, с возрастом из популяции элиминируются носительницы генотипа AG с соответственным увеличением носительниц генотипа AA в популяции. Но, судя по результатам исследования, данная динамика не обусловлена ВСС.

Также возрастная динамика генотипов показана для полиморфизма rs1010 гена *VAMP8*.

Наблюдается снижение доли носителей генотипа СТ в контрольной группе по сравнению с подростками, но при дальнейшем анализе данная ассоциация сохранилась только у мужской части исследуемых групп. Так, у мужчин контрольной группы доля носителей генотипа СТ меньше по сравнению с группой мальчиков-подростков. Параллельно с этим в конт-

рольной группе мужчин и группе мужчин, умерших ВСС, наблюдается увеличение доли носителей генотипов ТТ по сравнению с группой мальчиков-подростков. Полученные данные свидетельствуют о выбывании из популяции с возрастом носителей генотипа СТ, с соответствующим увеличением доли носителей генотипа ТТ. Отклонение наблюдаемых частот генотипов от равновесия Харди-Вайнберга в контрольной группе и группе подростков может быть связано с выявленной возрастной динамикой генотипов. Вклад ошибок генотипирования в отклонение от равновесия Харди-Вайнберга в контрольных группах был исключен с помощью секвенирования. Полученные статистически значимые различия в контрольной группе и группе ВСС по частотам генотипов полиморфизма rs1010 гена *VAMP8* в группе мужчин старше 50 лет свидетельствуют о вкладе генотипа СТ в развитие ВСС, и об условно-протективной роли генотипа СТ в отношении развития ВСС в данной возрастной и половой группе. Роль генотипа СТ в развитии ВСС может объяснять выбывание мужчин — носителей данного генотипа — из популяции с возрастом. Полученные данные не противоречат результатам мировых исследований. Так, в Китае показано, что Т-аллель ассоциирован с риском ИБС [8].

По показателям внутреннего гомеостаза с уровнем диастолического артериального давления ассоциирован rs2298566 гена *SNX19*. Исследований данного полиморфизма с риском развития других сердечно-сосудистых заболеваний, кроме исследования Celera, проведено не было, полученная ассоциация может лишь косвенно свидетельствовать о вкладе полиморфизма в развитие артериальной гипертензии.

Заключение

Впервые проведено исследование ассоциации полиморфизмов rs20455 гена *KIF6*, rs7439293 гена *PALLD*, rs2298566 гена *SNX19*, rs3900940 гена *MYH15*, rs1010 гена *VAMP8* с ВСС. Мужчины — носители генотипа СТ rs1010 гена *VAMP8* — в возрасте старше 50 лет имеют повышенный риск развития ВСС. Генотип СТ rs1010 гена *VAMP8* в группе мужчин старше 50 лет и генотип GG полиморфизма rs20455 гена *KIF6* в группе старше 50 лет обладают условно-протективной ролью в отношении развития ВСС.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность академику Юрию Петровичу Никитину и профессору Софье Константиновне Малютиной за предоставленную возможность сформировать контрольную группу на материале когорт НАPIEE и MONICA, а также д.м.н. Диане Вахтанговне Денисовой за предоставленную возможность сформировать группу подростков.

Работа поддержана грантом РФФИ № 10-04-01448а.

Литература

1. Bare LA, Morrison AC, Rowland CM, et al. Five common variants identify elevated genetic risk for coronary heart disease. *Genetics in medicine* 2007; 10: 682-9.
2. Morrison AC, Bare LA, Chambless LE, et al. Prediction of coronary heart disease risk using a genetic risk score: the atherosclerosis risk in communities study. *American journal of epidemiology* 2007; 1: 28-35.
3. Wu G1, Li GB, Dai B. Association of KIF6 variant with lipid level and angiographic coronary artery disease events risk in the Han Chinese population. *Molecules* 2012; 17(9): 11269-80.
4. Akao H, Polisecki E, Kajinami K, et al. KIF6, LPA, TAS2R50, and VAMP8 genetic variation, low density lipoprotein cholesterol lowering response to pravastatin, and heart disease risk reduction in the elderly. *Atherosclerosis* 2012; 220(2): 456-62.
5. Shiffman D, Chasman DI, Zee R, et al. A kinesin family member 6 variant is associated with coronary heart disease in the Women's Health Study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(4): 444-8.
6. Iakoubova OA, Tong CH, Rowland CM, et al. Association of the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein 6 with myocardial infarction and coronary heart disease in 2 prospective trials: the CARE and WOSCOPS trials. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(4): 435-43.
7. Hoke M, Schillinger M, Dick P, et al. Polymorphism of the palladin gene and cardiovascular outcome in patients with atherosclerosis. *Eur J Clin Invest* 2011; 41(4): 365-71.
8. Duan CC, Xu LX, Chen Q. Association of the polymorphism of synaptobrevins/vesicle-associated membrane proteins 8 gene with coronary heart disease in Chinese Han population. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2010; 27(3): 329-32.
9. Luke MM, Lalouschek W, Rowland CM, et al. Polymorphisms associated with both noncardioembolic stroke and coronary heart disease: vienna stroke registry. *Cerebrovasc Dis* 2009; 28(5): 499-504.
10. Bare LA, Ruiz-Narvaéz EA, Tong CH, et al. Investigation of KIF6 Trp719Arg in a case-control study of myocardial infarction: a Costa Rican population. *PLoS One* 2010; 5(9): e13081.
11. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Hovingh GK, et al. The 719Arg variant of KIF6 and cardiovascular outcomes in statin-treated, stable coronary patients of the treating to new targets and incremental decrease in end points through aggressive lipid-lowering prospective studies. *Circ Cardiovasc Genet* 2012; 5(1): 51-7.

Основные причины отказа в публикации в Российском кардиологическом журнале

Данные уточнённые критерии вступают в силу для статей, поступивших в редакцию с 01.10.2015.

Причины отказа в первичном рассмотрении (до устранения, но не более двух существенных доработок):

- неправильное оформление рукописи согласно общим требованиям;
- библиография или текст содержат гиперссылки, свидетельствующие о копировании материала из Интернета;
- библиография или текст содержат разнящиеся элементы структуры текста (интервалы, шрифты, кегли и т.п.), что свидетельствует о "лоскутной" его природе;
- библиография оформлена разнородно, что свидетельствует о вторичности её содержимого;
- проверка в системе Антиплагиат, без учёта библиографии, показала значительную долю заимствованного текста;
- опечатки в названии, подзаголовках, именах авторов, свидетельствующие о небрежности и невычитанности текста перед отправкой;
- большое количество ошибок и опечаток в резюме, неадекватная структура резюме, неадекватное содержание резюме — статья далее не рассматривается.

Причины отказа при первичном рассмотрении (до устранения — не более двух раз, или без возможности коррекции):

1) текстологические

- язык текста не удовлетворяет критериям научного стиля;

- язык текста не даёт целостной и чёткой картины, в нём нет однозначности и ясности цели и методов исследования (для оригинальной статьи), нет чётко поставленной проблемы, не обозначена актуальность и необходимость написания этого текста в общем (для обзора литературы);

- русский язык текста (для русскоязычных авторов) грамматически и стилистически не выверен, текст косноязычен;

- большое количество ошибок и опечаток, включая пунктуацию.

2) научные

- недостаточно обоснованы новизна и актуальность текста, их достаточность для публикации;

- недостаточно обоснована ценность проблемы;

- библиография содержит преимущественно старые ссылки при наличии достаточного количества современной литературы на данную тему;

- в тексте не прочитывается осознанность и критическое осмысление материала авторами, не содержатся указания на ограничения, недостатки работы;

- текст не даёт возможности выделить конкретный вопрос, которому он посвящён, и увидеть предлагаемый авторами ответ на этот вопрос;

- текст не воспринимается как научно и стилистически законченный, логически завершённый.

Причины отказа после рецензирования зависят от содержания рецензии.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ РОЛЬ А1166С ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА РЕЦЕПТОРА 1 ТИПА АНГИОТЕНЗИНА II (AGT2R1) ПРИ КОРОНАРНОМ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ У ЖИТЕЛЕЙ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ

Ашканова Т. М.¹, Муженя Д. В.², Пшидаток А. Р.¹, Тугуз А. Р.², Смольков И. В.², Шумилов Д. С.²

Цель. Исследование ассоциации А1166/166С полиморфизмов гена сосудистого рецептора 1 типа ангиотензина II (AGT2R1) с развитием коронарного и периферического атеросклероза в этнических группах населения Республики Адыгея.

Материал и методы. Распределение А1166/166С полиморфных вариантов гена AGT2R1 исследовано "single nucleotide polymorphism" (SNP) — методом с аллель-специфическими праймерами и электрофоретической детекцией результатов (НПФ "Литех"). Полиморфизмы гена AGT2R1 (rs5186) с нуклеотидной заменой аденина на цитозин (A>C) в 1166 позиции гена AGT2R1 типированы в образцах геномной ДНК доноров (n=143) и больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями (n=39) в возрасте 23-65 лет из двух этнических групп — адыгов и русских. Экспериментальные данные проанализированы адекватными статистическими методами SPSS Statistics 17.0.

Результаты. В группе больных с осложнениями коронарного и периферического атеросклероза выявлено статистически значимое повышение частоты мутантной 1166С аллели и патологического гомозиготного генотипа С1166С. Риск развития сердечно-сосудистых заболеваний у носителей 1166С аллеля возрастает в 3,77 раз ($\chi^2=26,07$; $p=0,00003$), а в случае с гомозиготным "мутантным" СС генотипом — в 10,36 раз ($\chi^2=31,20$; $p=0,00002$), что позволяет использовать 1166С аллель и С1166С генотип AGT2R1 в качестве генетических предикторов коронарного атеросклероза и маркеров донозологической диагностики ишемической болезни сердца ($\chi^2=42,96$; $p=0,0000005$; OR (95%)=17,37).

Заключение. Полученные экспериментальные данные в сочетании с дополнительными инструментальными исследованиями функционального состояния сердечно-сосудистой системы, будут способствовать улучшению точности диагностики атеросклероза и возможных осложнений последнего на ранних этапах, что позволит снизить инвалидизацию и смертность среди лиц трудоспособного возраста.

Ключевые слова: А1166С, ангиотензин II, AGT2R1, сердечно-сосудистые заболевания, ишемическая болезнь сердца.

¹ГБУЗ РА Адыгейская республиканская клиническая больница, Майкоп, Республика Адыгея; ²ФБГОУ ВПО Адыгейский государственный университет, Майкоп, Республика Адыгея, Россия.

Ашканова Т. М. — кардиолог, врач высшей категории, Муженя Д. В.* — к.б.н., инженер-генетик иммуногенетической лаборатории НИИ комплексных проблем, Пшидаток А. Р. — нейрохирург, врач высшей категории, Тугуз А. Р. — д.б.н., зав. иммуногенетической лабораторией НИИ комплексных проблем, Смольков И. В. — аспирант, Шумилов Д. С. — аспирант.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
lab_genetic@mail.ru

AGT2R1 — рецептор 1 типа ангиотензина II, ALFRED — The Allele Frequency Database, MONICA — Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease, SNP — single nucleotide polymorphism (единичные нуклеотидные замены), АРКБ — Адыгейская республиканская клиническая больница, БСК — болезни сердечного континуума, ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ЛПУ — лечебно-профилактическое учреждение, ОКС — острый коронарный синдром, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, РА — Республика Адыгея, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, СН — стенокардия напряжения, ХСН — хроническая сердечная недостаточность, ФК — функциональный класс, ЭКГ — электрокардиограмма.

Рукопись получена 24.12.2014

Рецензия получена 28.01.2015

Принята к публикации 04.02.2015

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 19–23

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-19-23>

PROGNOSTIC ROLE OF A1166C POLYMORPHISMS OF THE ANGIOTENSIN II RECEPTOR GENE (AGT2R1) IN CORONARY ATHEROSCLEROSIS AMONG ADYGHEA REPUBLIC INHABITANTS

Ashkanova T. M.¹, Muzhenya D. V.², Pshidatok A. R.¹, Tuguz A. R.², Smolkov I. V.², Shumilov D. S.²

Aim. The investigation of A1166/166C polymorphisms of the vascular receptor 1 type of angiotensin II gene (AGT2R1) association with the development of coronary and peripheral atherosclerosis in ethnic groups of Adyghea Republic inhabitants.

Material and methods. The spread of A1166/166C polymorphic variants of the gene AGT2R1 was studied via the "single nucleotide polymorphism" (SNP) — method with allele-specific primers and electrophoretic results detection (by SPF "Litech"). Gene polymorphisms AGT2R1 (rs5186) with nucleotide replacement of adenine by cytosine (A>C) in the 1166th position of gene AGT2R1 were typed in the samples of donors genomic DNA (n=143) and of those with cardiovascular diseases (n=39) at the age 23-65 y.o. from two ethnic subgroups — Adyghees and Russians. The data was processed via software SPSS Statistics 17.0.

Results. In the group of those with complicated coronary and peripheral atherosclerosis there was statistically significant increase of the prevalence of mutant 1166C allele and of pathological monozygous genotype C1166C. The risk of cardiovascular diseases in the carriers of 1166C allele increases 3,77 times ($\chi^2=26,07$; $p=0,00003$), and in the case with homozygous "mutant" CC genotype — 10,36 times ($\chi^2=31,20$; $p=0,00002$), that makes it to use the 1166C allele and

C1166C genotype AGT2R1 as genetic predictors of coronary atherosclerosis and markers of prenosological diagnostics of ischemic heart disease ($\chi^2=42,96$; $p=0,0000005$; OR (95%)=17,37).

Conclusion. The results of this study, together with additional instrumental investigations of cardiovascular system functioning will help to improve the precision of diagnostics of atherosclerosis and its possible complications at earlier stages, that will help to decrease disability rate and mortality in economically active citizens.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 19–23

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-19-23>

Key words: A1166C gene polymorphisms of angiotensin receptor II (AGT2R1), cardiovascular diseases, ischemic heart disease.

¹SBHI RA Adyghea Republic Clinical Hospital, Maikop, Adyghea Republic; ²FSBEI HPE Adyghea State University, Maikop, Adyghea Republic, Russia.

Атеросклеротические поражения сосудов разных бассейнов являются наиболее частой причиной ишемической болезни сердца (ИБС), инфаркта миокарда (ИМ), мозговых инсультов и других сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), обуславливающих высокую инвалидизацию и смертность трудоспособного контингента населения многих стран мира, в том числе России и Республики Адыгея (РА). К основным факторам, способствующим развитию атеросклероза, ВОЗ на протяжении ряда лет относил образ жизни (60%), наследственность (20%), влияние неблагоприятных экологических факторов (10%), состояние медицинской помощи (5%). Однако данные одного из крупнейших эпидемиологических проектов ВОЗ — “Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease” (MONICA), включавшего 35 центров из 21 страны мира, в том числе и России, показали, что курение, артериальная гипертензия, дислипотеинемия, сахарный диабет и другие факторы, относящиеся преимущественно к образу жизни, не могут полностью объяснить динамику заболеваемости и смертности от ССЗ [1-3].

Актуальным направлением современной фундаментальной и прикладной медицины является поиск и изучение пусковых механизмов развития сердечно-сосудистых заболеваний на молекулярно-генетическом уровне. При реализации проекта “Геном человека” определён спектр маркерных генов, вовлечённых в процессы атерогенеза и болезней сердечного континуума (БСК). В международных этногеографических исследованиях, проведенных за последние 20 лет, выявлено 16 основных генов-кандидатов, ассоциированных с риском развития атеросклероза и ССЗ. Одним из таких маркеров, представляющих научный и практический интерес, является ген сосудистого рецептора 1 типа ангиотензина II (*AGT2R1*) (рис. 1), локализованный в 3-й хромосоме (3q21_3q25) [1, 3].

Рецептор ангиотензина 1 типа (*AGT2R1*), экспрессируемый преимущественно в гладкой мускулатуре сосудов, сердце, печени, коре надпочечников, почках, легких, и некоторых областях мозга, опосредует основные эффекты ангиотензина II: регуляцию артериального давления, поддержание тонуса артерий, функциональной активности сердца, участие в водно-солевом равновесии и т.д. Изменение экспрессии или структуры белкового продукта *AGT2R1*, обусловленные точечными мутациями или полиморфизмами гена, могут приводить к изменениям в регуляции сосудистого тонуса, пролиферации эндотелия,

окклюзии просвета сосуда, поэтому *AGT2R1* рассматривается как один из значимых маркеров и ранних предикторов патофизиологических механизмов развития атерогенеза и сердечно-сосудистых заболеваний [4-8].

Наиболее изучены A1166/1166C (rs5186) полиморфные варианты гена *AGT2R1* с нуклеотидной заменой аденина на цитозин (A>C) в 1166 позиции специфичной нетранслируемой 3'-UTR (untranslated regions) области, которая содержит мишени для микро-РНК (micro-RNA или miRNA) и определяет поведение гена. В гене *AGT2R1* 3'-UTR регулирует уровень экспрессии гена посредством 155miRNA, кодируемой 21 хромосомой. Установлено, что 155miRNA оказывает ингибирующее действие на нормальную (“дикую”) A1166 аллель, снижая, тем самым, продукцию гена *AGT2R1*, однако с мутантным 1166C полиморфным вариантом такого эффекта не наблюдается, что приводит к гиперэкспрессии гена и росту уровня *AGT2R1* [7].

По данным ALFRED (“The Allele Frequency Database”) и The HuGeNET (2002-2013гг) в мировых популяциях преобладает “нормальная” A1166 аллель, а “мутантный” 1166C вариант чаще выявляется у больных с клиническими проявлениями сердечно-сосудистых заболеваний и среди здоровых людей, имеющих больных родственников. Вместе с тем, результаты многоцентровых исследований по ассоциации SNP A1166C гена *AGT2R1* с риском развития БСК для разных этнических групп противоречивы и неоднозначны. Единичные работы в России не отражают генетического разнообразия в распределении 1166C полиморфизмов гена *AGT2R1* и их ассоциаций с ССЗ [8-15].

Цель исследования — анализ распределения и ассоциаций A1166C полиморфизмов гена *AGT2R1* с развитием коронарного и периферического атеросклероза в этнических группах населения РА.

Материал и методы

Контингент обследованных лиц. В проспективное исследование включены доноры (n=143) и больные с ССЗ (n=39) в возрасте 23-65 лет из двух этнических групп — адыгов и русских. Контрольная группа представлена неродственными донорами в возрасте $26,32 \pm 8,4$ лет, без наследственной отягощенности и клинических проявлений ССЗ, что подтверждено данными инструментальных исследований в условиях ЛПУ г. Майкопа.

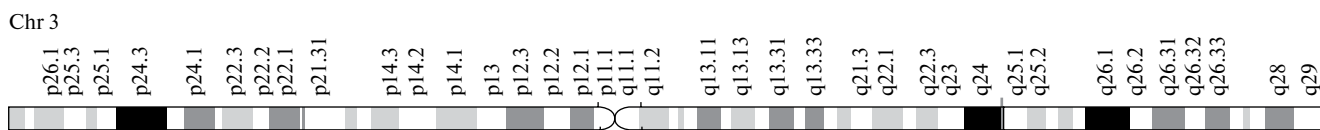


Рис. 1. Цитогенетическое строение 3-й хромосомы (по данным The HuGeNET, 2002-2013).

Таблица 1

Список праймеров, использованных в эксперименте

Ген	Аллели	Символ аллеля	Праймер
AGT2R1	A1166	A	5' — cacttcactaccaaatgagc A ttgctacttttcagaattg — 3'
	1166C	C	5' — cacttcactaccaaatgagc C ttgctacttttcagaattg — 3'

Таблица 2

Частоты A1166C полиморфизмов гена AGT2R1 у доноров и больных ССЗ

Ген	Аллели/ генотипы	Частоты		χ^2	p	OR (95% CI)
		Больные (n=39)	Доноры (n=143)			
AGT2R1 — A1166C (rs5186)	A1166	0,500	0,790	26,07	0,00003 ¹	0,33* (0,19-0,56)
	1166C	0,500	0,210			3,77* (2,22-6,38)
	A1166A	0,410	0,643	31,20	0,00002 ²	0,39** (0,19-0,80)
	A1166C	0,179	0,294			0,53** (0,22-1,29)
	C1166C	0,410	0,063			10,36** (4,69-26,22)

Примечание: p — достоверность различий по частотам между донорами и группой больных (¹ — аллели, ² — генотипы), OR — отношение шансов для * — аллелей, ** — генотипов.

Таблица 3

Распределение полиморфизмов гена AGT2R1 в этнических группах русских и адыгов

Ген	Национальность	Аллели/ генотипы	Частоты аллелей		χ^2	p	OR (95% CI)
			Больные	Доноры			
AGT2R1 A1166C (rs5186)	Русские (n=61)		n=14 ¹	n=47 ¹			
		A1166	0,500	0,745	6,01	0,01*	0,34 (0,14-0,82)
		1166C	0,500	0,255			2,92 (1,22-6,99)
		A1166A	0,357	0,617	4,5	0,04**	0,38 (0,1-1,19)
		A1166C	0,286	0,255			1,17 (0,31-4,42)
		C1166C	0,357	0,128			3,8 (0,95-15,23)
	Адыги (n=93)		n=22 ²	n=71 ²			
		A1166	0,432	0,824	26,28	3·10 ⁻⁶ *	0,16 (0,08-0,34)
		1166C	0,568	0,176			6,16 (2,95-12,86)
		A1166A	0,364	0,690	27,52	1·10 ⁻⁶ **	0,26 (0,09-0,70)
		A1166C	0,136	0,268			0,43 (0,11-1,63)
		C1166C	0,500	0,042			22,67 (5,44-94,41)

Примечание: p — достоверность различий частот аллелей и генотипов между группами доноров и больных (* — аллели, ** — генотипы), OR — отношение шансов, ¹ — русские, ² — адыги.

Больные с ССЗ — пациенты отделений кардиологии, нейрохирургии и хирургии сосудов АРКБ (г. Майкоп, Республика Адыгея), в возрасте 54,26±12,2 лет с мозговыми инсультами, окклюзиями и стенозами аорто-подвздошных сегментов, различными формами ИБС: острым коронарным синдромом (ОКС), постинфарктным кардиосклерозом (ПИКС), стабильной стенокардией напряжения (СН) 2-4 функционального класса (ФК.), сопровождавшимися явлениями хронической сердечной недостаточности (ХСН) 2А-2Б стадии (3-4 ФК по NYHA), развившимися на фоне атеросклеротических изменений коронарных артерий и периферических сосудов. Клинические диагнозы подтверждены данными стандартных биохимических показателей крови (дислипидемия), неинвазивных

скрининговых и углубленных инструментальных исследований: ЭКГ, Холтеровского мониторирования ЭКГ, нагрузочных проб (велоэргометрии либо Тредмил-теста) ультразвуковой доплерометрии и ангиографии сосудов нижних конечностей, ультразвукового триплексного сканирования сосудов нижних конечностей и брахиоцефальных артерий, эхокардиографии (ЭхоКГ).

Исследование было проведено в соответствии с принципами Хельсинской Декларации и с письменного информированного согласия всех участников эксперимента.

Методы исследования. Полиморфизмы гена AGT2R1 исследованы SNP-методом на тест-системах “SNP-экспресс” НПФ “Литех” с электрофоретической детекцией результатов. Образцы геномной ДНК

Таблица 4

Распределение полиморфизмов и генотипов *AGT2R1* при ИБС

Ген	Аллели/ генотипы	Частоты аллелей		χ^2	p	OR (95%CI)
		Больные (n=26)	Доноры (n=143)			
<i>AGT2R1</i> — A1166C (rs5186)	A1166	0,423	0,790	30,36	0,000004 ¹	0,19* (0,10-0,36)
	1166C	0,577	0,210			5,14* (2,76-9,34)
	A1166A	0,385	0,643	42,96	0,0000005 ²	0,35** (0,15-0,82)
	A1166C	0,077	0,234			0,20** (0,05-0,89)
	C1166C	0,538	0,063			17,37** (6,23-48,4)

Примечание: p — достоверность различий между донорами и группой больных с разными формами ИБС (¹ — аллели, ² — генотипы), OR — отношение шансов (* — аллели, ** — генотипы).

доноров и больных выделены из стабилизированной ЭДТА цельной периферической крови реагентом “ДНК-экспресс-кровь” (НПФ “Литех”) с последующей амплификацией в программируемом термостате “Терцик” (ООО “ДНК-Технология”) и использованием двухпраймерной системы (НПФ “Литех”) (табл. 1).

Качество образцов геномной ДНК тестировано на спектрофотометре “NanoDrop 2000c” (Termo Scientific, USA). Результаты исследований визуализированы УФ-облучением (310 нм) в трансиллюминаторе “Gel Doc” (“BioRad”) с программным обеспечением “Quantity One” (“BioRad”). Анализ литературных данных по нуклеотидным последовательностям *AGT2R1* осуществляли с помощью баз данных в сети Интернет: HuGENE (www.hugenavigator.com), NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov), Ensembl (www.ensembl.org), Gencards (www.genecards.org).

Статистически значимые различия ($p < 0,05$) вычислены с использованием непараметрического метода Фишера, χ^2 (хи-квадрата) для таблиц сопряженности 2x2 с поправкой Йетса на непрерывность и расчетом отношения шансов (odds-ratio или OR), 95% доверительного интервала (95% CI).

Результаты

Распределение A1166C аллельных вариантов и генотипов *AGT2R1* в общих выборках доноров и обследованных больных, в зависимости от их этнической принадлежности, клинически значимых проявлений атеросклероза сосудов разных бассейнов, представлены в таблицах 2-4.

В группе больных с верифицированными диагнозами БСК статистически значимо повышена частота мутантного 1166C полиморфного локуса и патологического гомозиготного генотипа C1166C. Риск развития ССЗ у носителей 1166C аллеля возрастает в 3,77 раз, а в случае с гомозиготным “мутантным” СС генотипом — в 10,36 раз (табл. 2), что подтверждает ассоциированность исследуемого 1166C полиморфизма и C1166C генотипа с повышенным риском развития БСК. Нормальная или, так называемая,

“дикая” A1166 аллель гена *AGT2R1* у жителей РА может рассматриваться как протективная, т.е. снижающая риск развития заболеваний, что обусловлено влиянием 155-miRNA, кодируемой 21 хромосомой и ингибирующей уровень экспрессии ангиотензина [7].

Варьирование фенотипических проявлений одних и тех же генетических систем в разных этнических популяциях определяет значимость региональных исследований по выявлению информативных молекулярно-генетических маркеров сердечно-сосудистых заболеваний, что может иметь практическое значение в донозологической диагностике БСК в многонациональных регионах. Особенности распределения частот A1166C полиморфизмов гена *AGT2R1* в зависимости от этнической принадлежности обследованных групп населения РА представлены в таблице 3.

В группе этнических русских у больных с ССЗ в сравнении с донорами достоверно чаще выявляется прогностически неблагоприятный 1166C полиморфизм гена *AGT2R1* ($p < 0,05$), повышающий риск развития БСК у носителей данной аллели в 2,9 раза, а гомозиготного “мутантного” C1166C генотипа в — 3,8 раза (табл. 3). Ассоциация 1166C полиморфизма гена сосудистого рецептора 1 типа с риском развития БСК прослеживается и в группе этнических адыгов, однако с более высоким уровнем значимости (соответственно $\chi^2 = 26,28$; $p = 0,0000003$; OR (95% CI) = 6,16; $\chi^2 = 27,52$; $p = 0,000001$; OR (95% CI) = 22,67). Распределение полиморфизмов A1166/1166C гена *AGT2R1* в популяциях этнических русских и адыгов не отражено в электронной базе “The ALFRED”, но, согласно данным З.Н. Калакуток (2000-2002гг), при эссенциальной гипертензии (ЭГ) у этнических русских и адыгов, проживающих на территории РА, установлено статистически значимое повышение прогностически неблагоприятного 1166C аллеля и C1166C генотипа *AGT2R1* [8, 12].

Многообразие осложнений, клинических проявлений и исходов атеросклероза обусловлено преимущественной локализацией и степенью атеросклеротиче-

ских поражений коронарных или периферических сосудистых бассейнов. Основной клинко-анатомической формой коронарного атеросклероза являются ИБС, приводящая к ИМ, ХСН 2Б-3ст, нарушениям сердечного ритма и др. Периферический атеросклероз (ПА) обуславливает стеноз и/или окклюзию сосудов, тромбоэмболические осложнения и, как следствие — нарушения мозгового кровообращения (инсульты), ишемию нижних конечностей и др. Для выявления прогностически значимых маркеров атерогенеза сосудов разных бассейнов и клинко-морфологических форм, у больных с последствиями коронарного атеросклероза (ИБС) и осложнениями ПА (мозговой инсульт, окклюзии и стенозы аортоподвздошных сегментов), проанализировано распределение частот A1166/1166C в зависимости от установленного клинического диагноза (табл. 4).

В группе лиц с разными формами ИБС, последствиями коронарного атеросклероза, частота 1166C аллели и CC генотипа *AGT2R1* достоверно превышает аналогичные показатели для доноров (табл. 4). У C1166C гомозигот и носителей 1166C аллели риск развития ИБС возрастает в 17,37 раз и 5,14, раза, соответственно. Данный факт находит подтверждение в работах З. Н. Калакуток (2000-2002гг), Д. А. Затеишикова (2007), В. И. Целуйко (2008), Y. Jin, et al. (2012) и Y. Li, et al. (2013), в которых, аналогично нашим результатам показано, что

C1166C генотип и 1166C аллель ассоциированы с повышенным риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и, в частности, коронарного атеросклероза [9, 10, 12, 14, 15].

Статический анализ распределения A1166/1166C полиморфизмов гена *AGT2R1* у лиц с ПА в сравнении с донорами и больными ИБС достоверных различий не выявил (данные не представлены).

Заключение

Экспериментально установлено, что у жителей РА 1166C аллель и гомозиготный C1166C генотип гена рецептора ангиотензина II (*AGT2R1*) ассоциированы с риском развития ССЗ и, в частности, с коронарным атеросклерозом. 1166C полиморфизм *AGT2R1* является информативным молекулярно-генетическим предиктором коронарного атеросклероза у жителей РА, что может иметь прогностическую значимость в плане донозологической диагностики ИБС.

1166C аллель и CC генотип гена сосудистого рецептора ангиотензина *AGT2R1*, ассоциированные у жителей РА с ССЗ, повышают риск развития болезней сердечно-сосудистого континуума у этнических русских (OR=3,77) и адыгов (OR=10,36).

1166C аллель и CC генотип промоторного региона *AGT2R1* гена являются генетическими предикторами клинически значимых форм осложнений коронарного атеросклероза — ИБС.

Литература

1. Puzyrev VP, et al. Genes sintropy and cardiovascular continuum. Bulletin VOGIS 2006; 3: 479-93. Russian (В. П. Пузырев и др. Гены синтропии и сердечно-сосудистый континуум. Вестник ВОГИС 2006; 3: 479-93).
2. Roytberg GE, Strutytsky AV. Internal diseases. Cardiovascular system. M: BINOM; 2003. Russian (Г. Е. Ройтберг, А. В. Струтынский. Внутренние болезни. Сердечно-сосудистая система. М: БИНОМ; 2003).
3. HuGENavigator (электронный ресурс) — Режим доступа — <http://www.hugenavigator.net/HuGENavigator>.
4. Furuta O, et al. Molecular cloning, sequence analysis and expression of a cDNA encoding human type-1 angiotensin II receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun 1992; 183: 910-16.
5. Muzhenya DV, Tuguz AR, et al. Association Met235 Thr polymorphism of angiotensinogen (AGT) and A1166C allele receptor type I angiotensinogen-2 (AGT2R1) with cardiovascular disease (CVD) among residents of the Republic of Adygea. Bulletin of AGU. Ser. natural and mathematical sciences and engineering 2010; 62: 102-11. Russian (Д. В. Муженя, А. Р. Тугуз и др. Ассоциация Met235 Thr полиморфизма гена ангиотензиногена (AGT) и A1166C аллели рецептора I типа ангиотензиногена-2 (AGT2R1) с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ) у жителей Республики Адыгея. Вестник АГУ. Сер. естественно-математических и технических наук 2010; 62: 102-11).
6. Muzhenya DV, Tuguz AR, Anokhina EN, et al. A new approach to the diagnosis of preclinical cardiovascular disease in elite athletes of the Republic of Adygea. Theory and Practice of Physical Culture 2013; 8: 30-3. Russian (Д. В. Муженя, А. Р. Тугуз, Е. Н. Анохина и др. Новый подход к донозологической диагностике сердечно-сосудистых заболеваний у высококвалифицированных спортсменов Республики Адыгея. Теория и практика физической культуры 2013; 8: 30-3).
7. OMIM. URL: <http://omim.org>.
8. The Allele Frequency Database. URL: <http://alfred.med.yale.edu>.
9. Zateyshchikov DA. The study of anticoagulant properties of the endothelium with a standard venoocclusive test. Bulletin of Experimental Biology and Medicine 2007; 12: 605-8. Russian (Д. А. Затеишиков. Изучение антикоагулянтных свойств эндотелия с помощью стандартного веноокклюзивного теста. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2007; 12: 605-8).
10. Tseluyko VI, Popova EI. Genetic aspects of a myocardial infarction. Heart i sudini 2008; 1: 47-53. Russian (В. И. Целуйко, Е. И. Попова. Генетические аспекты инфаркта миокарда. Серце i судини 2008; 1: 47-53).
11. Dyatlova AM. Results of a tipirovaniye of a gene of a receptor of 1 type of angiotensin 2 A1166C among the men of working-age who had a myocardial infarction in Republic of Belarus. Collection of materials II of the Youth innovative forum. Minsk 2012: 95-8. Russian (А. М. Дятлова, Результаты типирования гена рецептора 1 типа ангиотензина 2 A1166C среди мужчин трудоспособного возраста, перенесших инфаркт миокарда в Республике Беларусь. Сборник материалов II Молодежного инновационного форума. Минск 2012: 95-8).
12. Kalakutok ZN. Gene polymorphism of the renin-angiotensin-aldosterone system and the risk of developing essential hypertension in Circassians and Russian 1998-2002gg.: Author ref. candidate of medical sciences. Chelyabinsk, 2002. 24p. Russian (З. Н. Калакуток. Полиморфизм генов ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и риск развития эссенциальной гипертензии у адыгов и русских: 1998-2002гг.: Автореф. дис. канд. мед. наук. Челябинск, 2002. 24с).
13. Su SL, Yang HY, Wu CC, et al. Gene-gene interactions in renin-angiotensin-aldosterone system contributes to end-stage renal disease susceptibility in a Han Chinese population. Scientific World Journal 2014; 10: 352-8.
14. Jin Y, Kuznetsova T, Thijs L, et al. Association of left ventricular mass with the AGT1 A1166C polymorphism. Am. J. Hypertens. 2012; 4: 472-8.
15. Li Y, et al. Meta-analysis of the association between angiotensin II receptor, type 1 gene A1166C polymorphism and coronary artery disease in Chinese populations. J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2013; 14: 82-90.

ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ АТОРВАСТАТИНОМ У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА – НОСИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ TAQIB ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА БЕЛКА, ПЕРЕНОСЯЩЕГО ЭФИРЫ ХОЛЕСТЕРИНА

Ким М. В.², Скорюкова С. А.¹, Быстрова А. А.^{1,2}, Баранова Е. И.^{1,2}, Пчелина С. Н.¹, Шляхто Е. В.¹

Цель. Оценить особенности липидного обмена и эффективность терапии аторвастатином у жителей Санкт-Петербурга, больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2 типа) — носителей различных генотипов TaqIB полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина (*CETP*).

Материал и методы. Обследовано 382 пациента с СД 2 типа, не получавших ранее терапию статинами и 187 практически здоровых лиц. Всем лицам, включенным в исследование, выполнен анализ крови на липидный спектр и проведено молекулярно-генетическое обследование. В группу лечения аторвастатином вошли 164 пациента с СД 2 типа с дислипидемией. Показатели липидного спектра крови оценивались исходно и через 3 месяца терапии аторвастатином.

Результаты. У практически здоровых лиц носительство B1B2 генотипа TaqIB полиморфизма гена *CETP* ассоциируется с более высокими значениями триглицеридов, холестерина липопротеинов низкой плотности, холестерина липопротеинов очень низкой плотности и коэффициента атерогенности по сравнению с этими показателями липидного спектра крови у носителей B2B2 генотипа. У пациентов с СД 2 типа уровень триглицеридов у носителей генотипа B1B1 был выше по сравнению с этим показателем у носителей B2B2 генотипа ($p=0,044$); другие показатели липидного спектра крови не различались между группами. При сравнении эффективности терапии аторвастатином у носителей различных генотипов TaqIB полиморфизма гена *CETP*, отличий показателей липидного спектра крови на фоне лечения выявлено не было. При оценке достижения целевых уровней показателей липидного спектра крови на фоне терапии аторвастатином выявлено, что только у носителей B1B1 генотипа уровни ТГ достигли целевых значений ($p=0,017$).

Заключение. У больных СД 2 типа распределение генотипов и аллелей TaqIB полиморфизма гена *CETP* не отличалось от такового у здоровых лиц; у носителей различных генотипов данного гена показатели липидограммы исходно и на фоне терапии аторвастатином в течение 3 месяцев не различались; у носителей B1B1 генотипа уровни ТГ достигли целевых значений на фоне терапии аторвастатином.

Ключевые слова: сахарный диабет, дислипидемия, ген белка, переносящего эфиры холестерина, аторвастатин.

¹ГБОУ ВПО Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова МЗ РФ, Санкт-Петербург; ²ФГБУ Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр МЗ РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Ким М. В.* — врач-эндокринолог 2 эндокринологического отделения, Скорюкова С. А. — соискатель кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики имени Г. Ф. Ланга, Быстрова А. А. — к.м.н., ассистент кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики имени Г. Ф. Ланга, Баранова Е. И. — д.м.н., профессор кафедры факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики имени Г. Ф. Ланга, Пчелина С. Н. — д.б.н., зав. лабораторией высокотехнологичных методов молекулярного анализа ДНК отдела молекулярно-генетических технологий научно-исследовательского центра, Шляхто Е. В. — академик РАН, заведующий кафедрой факультетской терапии с курсом эндокринологии, кардиологии и функциональной диагностики имени Г. Ф. Ланга, директор центра.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): marykim86@mail.ru

ИБС — ишемическая болезнь сердца, КА — коэффициент атерогенности, ОКС — острый коронарный синдром, ОХ — общий холестерин, СД 2 типа — сахарный диабет 2 типа, ТГ — триглицериды, ХС ЛПВП — холестерин липопротеинов высокой плотности, ХС ЛПНП — холестерин липопротеинов низкой плотности, ХС ЛПОНП — холестерин липопротеинов очень низкой плотности, *CETP* — белок, переносящий эфиры холестерина, DALI — Diabetes Atorvastatin Lipid Intervention.

Рукопись получена 23.01.2015

Рецензия получена 07.02.2015

Принята к публикации 16.02.2015

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 24–29

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-24-29>

SPECIFICS OF LIPID METABOLISM AND ATORVASTATIN EFFICACY IN TYPE 2 DIABETES WITH CARRIAGE OF VARIOUS POLYMORPHISMS OF CHOLESTEROL ETHER CARRYING PROTEIN TaqIB GENE

Kim M. V.^{1,2}, Skoryukova S. A.¹, Bystrova A. A.^{1,2}, Baranova E. I.^{1,2}, Pchelina S. N.¹, Shlyakhto E. V.¹

Aim. To assess the specifics of lipid metabolism and efficacy of atorvastatin therapy in Saint-Petersburg citizens, having 2 type diabetes (DM2) — the carriers of various TaqIB gene polymorphisms, the cholesterol ethers transporting protein (*CETP*).

Material and methods. Totally 382 patients studied, with DM2, native for statins, and 187 almost healthy individuals. All participants underwent blood sampling with lipids test and molecular-genetic testing. Into atorvastatin group we included 164 patients with DM2 and dyslipidemia. Lipid profile parameters were assessed at baseline and in 3 months of atorvastatin therapy.

Results. In almost healthy individuals the carriage of B1B2 genotype of TaqIB polymorphism of *CETP* gene is associated with higher levels of triglycerides, low density lipoproteins cholesterol, very low density cholesterol and atherogenicity coefficient, comparing to these values in B2B2 carriers. DM2 patients had higher triglycerides level if B1B1 comparing to B2B2. In DM2 type, triglycerides level also was higher in B1B1 than in B2B2 ($p=0,044$); other lipid spectrum parameters did not differ between two groups. While comparing the efficacy of atorvastatin therapy in various genotypes carriers of TaqIB polymorphism gene *CETP*, there were no differences of the studied parameters within treatment. While evaluating the target

levels reach of lipid spectrum on the atorvastatin therapy it was found, that only B1B1 carriers reached target triglycerides level ($p=0,017$).

Conclusion. In DM2 patients the arrangement of genotypes and alleles of TaqIB polymorphism of *CETP* gene did not differ of this in healthy individuals; in carriers of different genotypes of this gene lipidogram parameters at baseline and on treatment by atorvastatin for 3 months did not differ; in B1B1 carriers the levels of triglycerides reached target values on atorvastatin.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 24–29

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-24-29>

Key words: diabetes mellitus, dyslipidemia, cholesterol ether transfer protein gene, atorvastatin.

¹SBEI HPE First Saint-Petersburg State Medical University n.a. Pavlov I.P. of the Healthcare Ministry, Saint-Petersburg; ²FSBI North-Western Federal Medical Research Center of the Healthcare Ministry, Saint-Petersburg, Russia.

Сердечно-сосудистая патология — основная причина смертности и инвалидности больных СД 2 типа [1]. Ингибиторы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А редуктазы (статины) существенно снижают риск развития ишемической болезни сердца (ИБС) у больных СД 2 типа. Однако даже при значительном снижении концентрации ХС ЛПНП кардиоваскулярный риск у больных СД 2 типа остается высоким. В связи с этим большой интерес вызывают стратегии лечения, направленные на коррекцию сниженного уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП). Нарушения в системе обратного транспорта холестерина, ключевая роль в которых принадлежит белку, переносящему эфиры холестерина, во многом определяют концентрацию ХС ЛПВП в крови [2].

В основе некоторых нарушений липидного метаболизма при СД 2 типа могут лежать изменения структуры и функции белка, переносящего эфиры холестерина, активность которого генетически детерминирована [3]. Некоторые полиморфные варианты генов, регулирующие метаболизм данного белка, могут рассматриваться в качестве генетических маркеров предрасположенности к формированию атерогенных изменений липидного спектра крови и развитию атеросклероза, а также могут определять эффективность гиполипидемической терапии [4]. Ген *CETP*, локализованный на хромосоме 16q21, кодирует 493 аминокислоты. В настоящее время активно изучается Taq1B — рестрикционный полиморфизм гена *CETP*. Данный полиморфизм характеризуется заменой гуанина на аргинин в 277 позиции 1 интрона. В общей популяции встречаемость А аллеля (условно обозначаемого как В2) ниже, чем G аллеля (условно обозначаемого как В1) и составляет 45,1% и 54,9%, соответственно [5].

Считается, что у гомозигот В2В2 наблюдается сниженная активность СЕТР и более высокий уровень ХС ЛПВП, что характеризует меньший риск развития ИБС. Гомозиготы В1В1 характеризуются более высокой активностью СЕТР, сниженным уровнем ХС ЛПВП и быстрым прогрессированием атеросклероза [6]. Гетерозиготы В1В2 занимают промежуточное положение и имеют средний риск прогрессирования атеросклероза. Подобные результаты получены у больных СД 2 типа и у пациентов с другой патологией [7, 8]. Вместе с тем, в ряде работ не было обнаружено связи между генотипами Taq1B полиморфизма гена *CETP* и уровнями липидов сыворотки крови [9, 10]. Известно, что статины снижают уровень холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) на 25-35%, триглицеридов (ТГ) — на 7-30%, повышают уровень ХС ЛПВП на 5-15% и снижают риск коронарных событий на 25-37%. Метаболизм лекарственных средств в организме человека генетически детерминирован. Имеются

данные о взаимосвязи генотипов Taq1B полиморфизма гена *CETP* с эффективностью гиполипидемической терапии у больных с ИБС [11], однако у больных СД 2 типа получены противоположные данные [12]. В 2014г Li J, et al. [8] провели исследование, в котором изучали эффективность терапии аторвастатином у больных ИБС — носителей различных генотипов Taq1B полиморфизма гена *CETP*. Обследовано 288 человек, которые были разделены на 3 группы: пациенты со стабильной ИБС, острым коронарным синдромом (ОКС) и практически здоровые. Терапия аторвастатином была начата пациентам со стабильной ИБС и ОКС. Через 3 месяца лечения статинами уровни общего холестерина (ОХ), ХС ЛПНП, ТГ снизились у носителей В2В2 генотипа ($p=0,05$), плазменный уровень ТГ у носителей В2В2 генотипа был ниже по сравнению с этим показателем у носителей В1В2 и В1В1 генотипов ($p=0,01$). Таким образом, сделан вывод о взаимосвязи Taq1B полиморфизма гена *CETP* с эффективностью гиполипидемической терапии у больных с ИБС. В двойном слепом рандомизированном плацебо-контролируемом многоцентровом исследовании Diabetes Atorvastatin Lipid Intervention (DALI) изучалось влияние Taq1B и A-629C полиморфизмов гена *CETP* на эффективность лечения аторвастатином у 217 пациентов с СД 2 типа [12]. У носителей В1В1 генотипа наблюдался более низкий уровень ХС ЛПВП, содержание СЕТР было выше. Влияние аторвастатина на показатели липидного спектра крови не зависело от генотипов полиморфизма гена *CETP*.

Исследований, посвященных оценке эффективности терапии статинами у больных СД 2 типа в зависимости от полиморфизмов гена *CETP* проведено недостаточно. В связи с этим, целью данного исследования было определить особенности липидного обмена и эффективность терапии статинами у больных СД 2 типа — носителей различных генотипов Taq1B полиморфизма гена *CETP*, — проживающих в Санкт-Петербурге.

Материал и методы

Обследовано 382 пациента с СД 2 типа (296 женщин и 86 мужчин) в возрасте от 39 до 79 лет и 187 практически здоровых лиц (146 женщин и 41 мужчина) в возрасте от 18 до 69 лет. Возраст обследованных составил $59,34 \pm 0,30$ лет и $40,42 \pm 0,62$ лет, соответственно. В исследование включены были лишь пациенты с СД 2 типа, которые не получали гиполипидемическую терапию как минимум в течение 3 месяцев до включения, принимали стабильную сахароснижающую, антигипертензивную и антиангинальную терапию, имели уровень гликированного гемоглобина $7,45 \pm 0,08\%$ и находились в состоянии эутиреоза. В исследование не включались пациенты с тяжелыми осложнениями СД, со значимой сопут-

Таблица 1

Показатели липидного спектра крови у практически здоровых лиц — носителей B1B1, B1B2, B2B2 генотипов Taq1B полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина

Показатели	Генотипы			p
	B1B1 n=43 (1)	B1B2 n=96 (2)	B2B2 n=35 (3)	
Общий холестерин, ммоль/л	4,87±0,15 (M=4,9)	5,12±0,11 (M=5,08)	4,79±0,17 (M=4,67)	p1,2=0,295; p1,3=0,619 p2,3=0,116
Триглицериды, ммоль/л	0,94±0,06 (M=0,82)	1,00±0,05 (M=0,84)	0,85±0,07 (M=0,65)	p1,2=0,675; p1,3=0,114 p2,3=0,040
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,42±0,05 (M=1,42)	1,52±0,04 (M=1,51)	1,56±0,06 (M=1,53)	p1,2=0,197; p1,3=0,144 p2,3=0,702
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,02±0,14 (M=3,10)	3,14±0,09 (M=2,96)	2,84±0,16 (M=2,57)	p1,2=0,660; p1,3=0,236 p2,3=0,041
ХС ЛПОНП, ммоль/л	0,42±0,03 (M=0,37)	0,45±0,08 (M=0,38)	0,38±0,03 (M=0,29)	p1,2=0,675; p1,3=0,114 p2,3=0,040
Коэффициент атерогенности	2,65±0,18 (M=2,36)	2,55±0,11 (M=2,26)	2,26±0,20 (M=1,97)	p1,2=0,658; p1,3=0,05 p2,3=0,046

Примечание: p — достоверность, n — количество практически здоровых лиц, M — медиана.

ствующей патологией, в том числе с гипотиреозом. Всем больным проведена оценка антропометрических данных, уровня гликированного гемоглобина, параметров липидного спектра крови, молекулярно-генетическое исследование. После оценки вышеперечисленных параметров, пациентам с выявленной дислипидемией была начата гиполипидемическая терапия статинами (аторвастатин 20 мг). Через 3 месяца проведена оценка показателей липидного спектра крови на фоне лечения статинами и выполнена статистическая обработка данных.

Для исследования показателей липидного спектра проводился забор венозной крови утром натощак не менее, чем через 12 часов после последнего приема пищи. Концентрации ОХ, ТГ, ХС ЛПВП определялись в сыворотке крови ферментным методом на биохимическом анализаторе COBAS INTEGRA 400 фирмы Roche (Швейцария), с использованием реагентов, калибраторов и контролей указанной фирмы, единицы измерения — ммоль/л. Содержание ХС ЛПОНП определяли расчетным методом по формуле $\text{ХС ЛПОНП} = \text{ТГ}/2,2$ (ммоль/л) и ХС ЛПНП по формуле Friedewald $\text{ХС ЛПНП} = \text{ОХС} - (\text{ХС ЛПВП} + \text{ТГ}/2,2)$, а КА по формуле $\text{КА} = (\text{ОХС} - \text{ХС ЛПВП})/\text{ХС ЛПВП}$. Уровень гликированного гемоглобина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на анализаторе Bio-Rad D-10, единица измерения — %. Для исключения нарушения функции щитовидной железы, как возможной причины нарушения липидного обмена, проводилось определение тиреотропного гормона на иммуноферментном анализаторе ARCHITECT® i 1000SR компании Abbott (США), единицы измерения мкМЕ/л.

Для идентификации полиморфных аллелей B1 и B2 в гене *CETP* (полиморфизм Taq1B) нами был использован метод, основанный на полимеразной цепной реакции и рестрикционном анализе. Амплификацию фрагмента гена проводили с использованием следующей последовательности олигонуклеотидов: верхний праймер —

5'-CACTAGCGCAGAGAGAGGAGTGCC-3'

и обратный праймер —

5'-CTGAGCCCAGCCGCACACTAAC-3'.

Статистический анализ полученных данных проводился при помощи программы SPSS версия 16.0 для Windows. Для оценки достоверности различий исследуемых параметров между группами применялся непараметрический критерий Манна-Уитни. Для оценки различий распределения частоты признака использовался метод χ^2 , точный тест Фишера. Статистически достоверным считали различия при значениях $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены в виде среднего значения ± стандартная ошибка среднего, в круглых скобках указана медиана.

Результаты

Проведен анализ распределения частот аллелей и генотипов Taq1B полиморфизма гена *CETP* у больных СД 2 типа и у практически здоровых людей, проживающих в Санкт-Петербурге. Частота аллелей B1 и B2 у пациентов с СД 2 типа существенно не отличалась от распределения данных аллелей у практически здоровых лиц в группе контроля. Большинство больных имели генотип B1B2 (50,8%), 29,6% пациентов являлись носителями генотипа B1B1, а генотип B2B2 встречался в 19,6% случаев. Распределение генотипов Taq1B полиморфизма гена *CETP* у больных СД 2 типа

Таблица 2

Показатели липидного спектра крови у больных сахарным диабетом 2 типа — носителей B1B1, B1B2, B2B2 генотипов Taq1B полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина

Параметры	Показатели липидного спектра крови у больных СД 2 типа в группе лечения до начала терапии				p
	B1B1 (1)	B1B2 (2)	B2B2 (3)	B1B1/B1B2 (4)	
Общий холестерин, ммоль/л	6,73±0,21 (M=6,63) (n=45)	7,06±0,14 (M=6,98) (n=84)	6,69±0,26 (M=6,86) (n=34)	6,94±0,12 (M=6,86) (n=130)	p1,2=0,306 p1,3=0,933 p2,3=0,327 p3,4=0,544
Триглицериды, ммоль/л	2,82±0,20 (M=2,81) (n=42)	2,48±0,18 (M=2,30) (n=77)	2,22±0,19 (M=2,06) (n=31)	2,60±0,13 (M=2,34) (n=120)	p1,2=0,058 p1,3=0,044 p2,3=0,539 p3,4=0,199
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,29±0,09 (M=1,27) (n=25)	1,40±0,06 (M=1,24) (n=52)	1,34±0,06 (M=1,34) (n=19)	1,36±0,05 (M=1,25) (n=77)	p1,2=0,338 p1,3=0,349 p2,3=0,765 p3,4=0,565
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,21±0,30 (M=4,29) (n=25)	4,54±0,17 (M=4,39) (n=54)	4,36±0,31 (M=4,66) (n=19)	4,44±0,15 (M=4,37) (n=79)	p1,2=0,411 p1,3=0,859 p2,3=0,763 p3,4=0,882
ХС ЛПОНП, ммоль/л	1,28±0,09 (M=1,28) (n=42)	1,12±0,08 (M=1,04) (n=77)	1,02±0,08 (M=0,94) (n=30)	1,18±0,06 (M=1,06) (n=120)	p1,2=0,058 p1,3=0,067 p2,3=0,677 p3,4=0,285
Коэффициент атерогенности	5,08±0,52 (M=4,49) (n=25)	4,42±0,25 (M=4,30) (n=52)	4,21±0,32 (M=3,82) (n=19)	4,63±0,21 (M=4,46) (n=77)	p1,2=0,390 p1,3=0,325 p2,3=0,795 p3,4=0,572

Примечание: p — достоверность, n — количество практически здоровых лиц, M — медиана.

находилось в соответствии с законом Харди-Вайнберга и не отличалось от распределения у практически здоровых лиц в группе контроля.

При сопоставлении показателей липидного спектра крови у практически здоровых лиц с различными генотипами Taq1B полиморфизма гена *CEP* выявлены значимые различия. Установлено, что носители генотипа B1B2 исследуемого гена имели более высокий уровень ТГ, ХС ЛПНП, холестерина липопротеинов очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), коэффициента атерогенности (КА) по сравнению с теми же показателями липидного спектра крови у носителей генотипа B2B2. У практически здоровых лиц — носителей B1B1 генотипа гена *CEP* — уровень КА был значимо выше по сравнению с этим показателем у носителей B2B2 генотипа; наблюдалась тенденция к более высоким уровням ОХ, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, что и у носителей B1B2 генотипа по сравнению с этими показателями липидного спектра крови у носителей B2B2 генотипа, однако это различие не достигло статистической значимости. Достоверных различий в уровне ХС ЛПВП у практически здоровых лиц — носителей различных генотипов Taq1B полиморфизма гена *CEP* — выявлено не было (табл. 1). При оценке показателей липидного спектра крови у больных СД 2 типа — носителей B1B1, B1B2,

B2B2 генотипов Taq1B полиморфизма гена *CEP* до начала терапии статинами выявлено следующее: уровень триглицеридов у носителей генотипа B1B1 был выше по сравнению с этим показателем у носителей B2B2 генотипа ($p=0,044$); уровни общего холестерина, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, КА не различались между группами (табл. 2).

При оценке динамики показателей липидного спектра крови через 3 месяца лечения аторвастатином наблюдалось достоверное снижение уровней ОХ, ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП у пациентов с СД 2 типа — носителей B1B1, B1B2, B2B2 генотипов Taq1B полиморфизма гена *CEP*. Динамики уровня ХС ЛПВП не отмечено ни в одной из групп (табл. 3). При сравнении эффективности терапии статинами у носителей различных генотипов Taq1B полиморфизма гена *CEP* различий показателей липидного спектра крови на фоне терапии выявлено не было. При оценке достижения целевых уровней показателей липидного спектра крови на фоне терапии статинами выявлено, что только у носителей B1B1 генотипа уровни ТГ достигли целевых значений ($p=0,017$).

Обсуждение

В результате проведения молекулярно-генетического исследования было установлено, что у больных

Таблица 3

Показатели липидного спектра крови у больных сахарным диабетом 2 типа — носителей В1В1, В1В2, В2В2 генотипов TaqIВ полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина, исходно и через 3 месяца лечения аторвастатином

Параметры	До лечения			3 месяца лечения			p
	В1В1 (1)	В1В2 (2)	В2В2 (3)	В1В1 (4)	В1В2 (5)	В2В2 (6)	
Общий холестерин, ммоль/л	6,73±0,21 (M=6,63) (n=45)	7,06±0,14 (M=6,98) (n=84)	6,69±0,26 (M=6,86) (n=34)	5,91±0,23 (M=6,03) (n=42)	5,67±0,18 (M=5,45) (n=78)	5,61±0,22 (M=5,75) (n=30)	p1,4=0,001 p2,5=0,000 p3,6=0,000
Триглицериды, ммоль/л	2,82±0,20 (M=2,81) (n=42)	2,48±0,18 (M=2,30) (n=77)	2,22±0,19 (M=2,06) (n=31)	2,49±0,21 (M=2,3) (n=37)	1,97±0,14 (M=1,65) (n=77)	1,75±0,14 (M=1,68) (n=30)	p1,4=0,005 p2,5=0,000 p3,6=0,004
ХС ЛПВП, ммоль/л	1,29±0,09 (M=1,27) (n=25)	1,40±0,06 (M=1,24) (n=52)	1,34±0,06 (M=1,34) (n=19)	1,24±0,08 (M=1,15) (n=25)	1,40±0,05 (M=1,37) (n=60)	1,23±0,05 (M=1,17) (n=23)	p1,4=0,828 p2,5=0,984 p3,6=0,205
ХС ЛПНП, ммоль/л	4,21±0,30 (M=4,29) (n=25)	4,54±0,17 (M=4,39) (n=54)	4,36±0,31 (M=4,66) (n=19)	3,75±0,24 (M=3,78) (n=23)	3,44±0,17 (M=3,40) (n=58)	3,61±0,22 (M=3,85) (n=22)	p1,4=0,048 p2,5=0,000 p3,6=0,002
ХС ЛПОНП, ммоль/л	1,28±0,09 (M=1,28) (n=42)	1,12±0,08 (M=1,04) (n=77)	1,02±0,08 (M=0,94) (n=30)	1,14±0,09 (M=1,05) (n=37)	0,90±0,06 (M=0,75) (n=77)	0,80±0,06 (M=0,77) (n=30)	p1,4=0,007 p2,5=0,000 p3,6=0,006
Коэффициент атерогенности	5,08±0,52 (M=4,49) (n=25)	4,42±0,25 (M=4,30) (n=52)	4,21±0,32 (M=3,82) (n=19)	4,50±0,38 (M=3,97) (n=24)	3,37±0,23 (M=3,10) (n=58)	3,57±0,22 (M=3,30) (n=22)	p1,4=0,396 p2,5=0,002 p3,6=0,034

Примечание: p — достоверность, n — количество практически здоровых лиц, M — медиана.

СД 2 типа и у практически здоровых лиц, проживающих в Санкт-Петербурге, распределение генотипов и встречаемость аллелей TaqIВ полиморфизма гена *CETP* существенно не отличалось, что соответствует данным ранее проведенных исследований у больных СД 2 типа [13]. При сравнительной оценке параметров липидного спектра крови у пациентов с СД 2 типа с различными генотипами полиморфных вариантов гена *CETP* значимых различий в уровнях ОХ, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП не установлено. Уровень триглицеридов у носителей генотипа В1В1 был выше по сравнению с этим показателем у носителей В2В2 генотипа. Полученные данные в целом согласуются с результатами исследования, проведенного в 2011г Rahimi Z, et al., в котором не было обнаружено связи между TaqIВ полиморфизмом гена *CETP* и уровнями липидов сыворотки крови у больных СД 2 типа [10]. Полученные данные противоречат результатам других исследований, в которых носительство В2 аллеля TaqIВ полиморфизма гена *CETP* было связано с более высоким уровнем ХС ЛПВП по сравнению с этим показателем у носителей В1 аллеля гена *CETP* у больных СД 2 типа [8, 13]. Различия в полученных данных могут быть обусловлены следующими обстоятельствами: в работе Li TY, et al. были обследованы только пациенты с СД 2 типа мужского пола [8]. В исследовании Siewert S, et al. количество больных с СД 2 типа составило всего 40 человек [13].

В нашем исследовании установлено, что у практически здоровых лиц носительство В1В2 генотипа TaqIВ полиморфизма гена *CETP* ассоциируется с более высокими значениями ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и КА по сравнению с этими показателями липидного спектра крови у носителей В2В2 генотипа. Достоверных различий в уровне ОХ, ХС ЛПВП у практически здоровых лиц — носителей различных генотипов TaqIВ полиморфизма гена *CETP* — выявлено не было. Эти данные не согласуются с результатами исследования, проведенного Ikewaki K, et al. [7], в котором носительство В2В2 генотипа ассоциировалось с более высоким уровнем ХС ЛПВП по сравнению с данным показателем у носителей В1В1 генотипа TaqIВ полиморфизма гена *CETP*. Вместе с тем в ряде работ, как и в нашем исследовании, не было обнаружено связи между генотипами TaqIВ полиморфизмом гена *CETP* и уровнями липидов сыворотки крови у здоровых лиц [9, 13]. Противоречивые данные, полученные в результате этих исследований, могут быть обусловлены расовой принадлежностью. Ikewaki K, et al. провели исследование лиц монголоидной расы, а в нашем исследовании, как и в работах Н.В. Морозкиной с соавт. и Siewert S, et al. были включены люди европеоидной расы [7, 9, 13].

По данным нашего исследования, у носителей различных генотипов TaqIВ полиморфизма гена *CETP*, показатели липидного спектра крови на фоне

терапии аторвастатином не различались. Лишь у носителей В1В1 генотипа ТаqIB полиморфизма гена *CETP* среднее значение уровня ТГ достигло целевых значений на фоне терапии. Полученные данные в целом согласуются с результатами ранее проведенного двойного слепого рандомизированного плацебо-контролируемого многоцентрового исследования Diabetes Atorvastatin Lipid Intervention (DALI), в котором изучалось влияние Таq1В и А-629С полиморфизмов гена *CETP* на эффективность лечения аторвастатином у 217 пациентов с СД 2 типа [12]. У носителей В1В1 генотипа наблюдался более низкий уровень ХС ЛПВП, содержание СЕТР было выше. Влияние аторвастатина на показатели липидного спектра крови не зависело от полиморфизма гена *CETP*.

Заключение

1. Распределение генотипов и встречаемость аллелей ТаqIB полиморфизма гена белка, переносящего эфиры холестерина (*CETP*) у больных СД 2 типа

и практически здоровых лиц, проживающих в Санкт-Петербурге, не различаются.

2. У практически здоровых лиц — носителей В1В2 генотипа ТаqIB полиморфизма гена *CETP*, проживающих в Санкт-Петербурге, уровни ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и КА были выше, показателей липидного спектра крови у носителей В2В2 генотипа.

3. У больных СД 2 типа уровень триглицеридов у носителей генотипа В1В1 ТаqIB полиморфизма *CETP*, проживающих в Санкт-Петербурге, был выше по сравнению с этим показателем у носителей В2В2 генотипа; другие показатели липидного спектра крови у носителей В1В1, В1В2 и В2В2 генотипов не различались.

4. У носителей различных генотипов ТаqIB полиморфизма гена *CETP*, проживающих в Санкт-Петербурге, показатели липидного спектра крови на фоне терапии аторвастатином в течение 3 месяцев не различались. У носителей В1В1 генотипа ТаqIB полиморфизма гена *CETP* уровни ТГ достигли целевых значений на фоне терапии аторвастатином.

Литература

- Kim MV, Skoryukova SA, Bystrova AA, et al. Paraoxonase 1 gene polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus. Record of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University 2014; 2: 69-72. Russian (Ким М.В., Скорюкова С.А., Быстрова А.А. и др. Полиморфизм Q192R гена параоксоназы 1 у больных сахарным диабетом 2 типа. Ученые записки СПбГМУ им. Акад. И.П. Павлова 2014, 2: 69-72).
- Wander GS, Aston CE, Sanghera DK. Genetic variation in cholesterol ester transfer protein, serum CETP activity, and coronary artery disease risk in Asian Indian diabetic cohort. Pharmacogenet Genomics 2012; 22: 95-104.
- Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. JAMA 2008; 299: 2777-88.
- Linsel-Nitschke P, Tall AR. HDL as a target in the treatment of atherosclerotic cardiovascular disease. Nat. Rev. Drug Discov. 2005; 4: 193-205.
- Shakhtshneider EV, Kulikov IV, Maksimov VN, et al. CETP gene polymorphism in the caucasian population of West Siberia and in groups contrast by total serum cholesterol levels. Bull. Exp. Biol. Med. 2014; 157: 364-7.
- Zhijun Wu, Yuqing Lou, Xiaochun Qiu, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene polymorphism, high density lipoprotein cholesterol and risk of coronary artery disease: a meta-analysis using a Mendelian randomization approach. BMC Medical Genetics 2014; 15: 182.
- Ikwaki K, Mabuchi H, Teramoto T, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein activity and TaqIB polymorphism with lipoprotein variations in Japanese subjects. Metabolism 2003; 52: 1564-70.
- Li TY, Zhang C, Asselbergs FW, et al. Interaction between dietary fat intake and the cholesterol ester transfer protein TaqIB polymorphism in relation to HDL-cholesterol concentrations among US diabetic men. Amer. J. Clin. Nutr. 2007; 86: 1524-9.
- Moroshkina NV, Bogdanova MA, Ignatyeva OI, et al. Protein gene Taq IB polymorphism transferring Cholesterol ester of men with coronary artery disease. Vestnik of Saint Petersburg university 2008; 11: 39-46. Russian (Морошкина Н.В., Богданова М.А., Игнатьева О.И. и др. ТаqIB полиморфизм гена белка, переносящего эфиры холестерина, у мужчин с ишемической болезнью сердца. Вестник Санкт-Петербургского университета 2008, 11: 39-46).
- Rahimi Z, Nourozi-Rad R, Vaisi-Raygani A, et al. Association between cholesteryl ester transfer protein TaqIB variants and risk of coronary artery disease and diabetes mellitus in the population of western Iran. Genet Test Mol Biomarkers 2011; 15: 813-9.
- Li J, Zhang L, Xie NZ, et al. Relationship between the cholesterol ester transfer protein TaqIB polymorphism and the lipid-lowering effect of atorvastatin in patients with coronary atherosclerotic heart disease. Genet Mol Res. 2014; 13: 2140-8.
- Maitland-van der Zee AH, Boerwinkle E. Pharmacogenetics of response to statins: where do we stand?. Curr Atheroscler Rep. 2005; 7: 204-8.
- Siewert S, Gonzalez IL, Lucero RO, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with paraoxonase-1 activity, lipid profile and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. Journal of Diabetes Investigation 2014; 10: 3-11.

НОВЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР ВРОЖДЕННОЙ ПАТОЛОГИИ ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ СЕРДЦА

Никулина С. Ю., Чернова А. А., Третьякова С. С.

Цель. Изучить влияние однонуклеотидного полиморфизма G>A гена *SCN10A* на развитие врожденной патологии проводящей системы сердца.

Материал и методы. Обследованы 260 человек с первичными нарушениями сердечной проводимости (71 пациент с нарушением атриовентрикулярной проводимости, 84 пациента с нарушением проводимости по правой ножке пучка Гиса и 105 пациентов с нарушением проводимости по левой ножке пучка Гиса) и 263 лица без каких-либо сердечно-сосудистых заболеваний (контрольная группа). Всем пациентам проведено стандартное кардиологическое обследование, ретроспективный анализ результатов предыдущих обследований (при их наличии), молекулярно-генетическое исследование ДНК.

Результаты. Полученные результаты показали статистически значимое преобладание распространенного генотипа GG гена *SCN10A* в группе контроля по сравнению с пациентами с нарушением атриовентрикулярной проводимости и замедлением проведения по правой ножке пучка Гиса.

Заключение. Гомозиготный генотип GG гена *SCN10A* играет протективную роль в отношении развития идиопатических атриовентрикулярных блокад и блокады правой ножки пучка Гиса.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 30–34

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-30-34>

Ключевые слова: ген натриевых каналов, нарушения сердечной проводимости.

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия.

Никулина С. Ю. — д.м.н., заведующая кафедрой внутренних болезней № 1, Чернова А. А. — д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней № 1, Третьякова С. С. — ординатор кафедры внутренних болезней № 1.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
treyakova-svet@mail.ru

АВБ — атриовентрикулярная блокада, БПВЛНПГ — блокада передней ветви левой ножки пучка Гиса, БПНПГ — блокада правой ножки пучка Гиса, НБПНПГ — неполная блокада правой ножки пучка Гиса, НСП — нарушения сердечной проводимости, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, ПБЛНПГ — полная блокада левой ножки пучка Гиса, ПБПНПГ — полная блокада правой ножки пучка Гиса.

Рукопись получена 22.06.2015

Рецензия получена 06.07.2015

Принята к публикации 13.07.2015

A NOVEL GENETIC MARKER FOR INHERITED DISORDER OF THE HEART CONDUCTION SYSTEM

Nikulina S. Yu., Chernova A. A., Tretyakova S. S.

Aim. To study relation of mononucleotide polymorphism G>A of the gene *SCN10A* and development of inherited pathology of the heart conduction system.

Material and methods. Totally, 260 persons investigated with primary disorders of cardiac conduction (71 patient with atrioventricular conduction disorder, 84 patients with the Right His bundle branch conduction disorder and 105 — the Left) and 263 persons without any found cardiovascular diseases (controls). All patients underwent standard cardiological investigation, retrospective analysis of previous investigation data (if available), molecular genetic test of DNA.

Results. The obtained results showed statistically significant predominance of the widespread genotype GG gene *SCN10A* in the control group comparing to atrioventricular disorder patients and Right His bundle branch patients.

Conclusion. Homozygous genotype GG of the gene *SCN10A* plays protective role against development of idiopathic atrioventricular blocks and Right His bundle branch block.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 30–34

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-30-34>

Key words: sodium channels gene, heart conduction disorders.

SBEI HPE Krasnoyarsk State Medical University n.a. Voyno-Yasenetsky of the Healthcare Ministry, Krasnoyarsk, Russia.

Нарушения сердечного ритма и проводимости представляют собой важную эпидемиологическую и социальную проблему здравоохранения. Изменения в проводящей системе сердца могут служить патоморфологическим субстратом развития серьезных сердечно-сосудистых заболеваний, приводящих к снижению качества жизни и инвалидизации населения, что, в итоге, ведет к возрастанию затрат здравоохранения и увеличению показателей смертности населения. Одной из причин, приводящих к нарушению проведения импульса в кардиомиоцитах, является врожденная патология ионных сердечных каналов.

Нормальные амплитуда и продолжительность сердечного потенциала действия обеспечиваются взаимодействием множества ионных каналов. Централь-

ная роль в этой системе принадлежит ионным натриевым каналам. Ионный натриевый ток приводит к деполяризации мембраны и способствует смене фаз потенциала действия [1]. Следовательно, изменения в структуре сердечных натриевых каналов, вызванные однонуклеотидными заменами (ОНП) в кодирующих их генах, приводит к электрофизиологическим нарушениям в работе сердца и развитию патологии проводящей системы сердца.

В настоящее время доказана взаимосвязь генов *SCN1B* и *SCN5A* с развитием нарушений сердечного ритма и проводимости [2]. Кроме того, в последние годы были выявлены ассоциации между ОНП гена *SCN10A* и такими патологиями, как идиопатическая фибрилляция предсердий, синдром Бругада, продолжительностью интервала PR комплекса QRS на ЭКГ

Таблица 1

Распределение частот генотипов G>A полиморфизма гена *SCN10A* среди больных с НСП (АВБ, БПНПГ, БЛНПГ) и лиц контрольной группы

Генотипы:	Пациенты с НСП (n=212)		Контроль (n=263)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	63	29,7±3,1	105	39,9±3,0	<0,05
AG	120	56,6±3,4	121	46,0±3,1	<0,05
AA	29	13,7±2,4	37	14,1±2,1	>0,05
Генотип GG	63	29,7±3,1	105	39,9±3,0	<0,05
Генотипы AG+AA	149	70,3±3,1	158	60,1±3,0	<0,05
ОШ; 95% ДИ	1,572; 1,071-2,309				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

[3–8]. Однако имеющиеся результаты по гену *SCN10A* были получены при исследовании пациентов европейской, азиатской и афроамериканской популяций, среди лиц сибирской популяции данный ген ранее не изучался.

Цель исследования — изучить влияние ОНП G>A гена *SCN10A* на развитие врожденной патологии проводящей системы сердца.

Материал и методы

В исследовании принимали участие 260 пациентов с идиопатическими нарушениями атриовентрикулярной и внутрижелудочковой проводимости (основная группа) и 263 лица без каких-либо сердечно-сосудистых заболеваний (группа контроля). Пациенты основной группы были отобраны из базы данных кафедры внутренних болезней № 1 Красноярского государственного медицинского университета и вызваны в КМКБ № 20 им. И. С. Берзона, где им было проведено стандартное кардиологическое обследование и забор крови для молекулярно-генетического исследования. Все обследуемые пациенты подписывали информированное согласие, утвержденное локальным этическим комитетом КрасГМУ. Средний возраст лиц основной группы (124 женщины и 136 мужчин) — 40,7±18,3 лет (41,0; 25,2–55,0). Из 260 пациентов 71 имели нарушение атриовентрикулярной проводимости (АВБ 1, 2, 3 степени), 84 пациента — нарушение проводимости по правой ножке пучка Гиса (полная блокада (ПБПНПГ), неполная блокада (НБПНПГ)), 105 пациентов — нарушение проводимости по левой ножке пучка Гиса (полная блокада (ПБЛНПГ), блокада правой ветви (БПВЛНПГ)). Кардиологическое обследование включало: сбор жалоб, анамнеза, клинический осмотр, ЭКГ, ЭхоКГ, суточное мониторирование ЭКГ, велоэргометрию (по показаниям). Молекулярно-генетическое исследование проводилось в НИИ терапии СО РАМН г. Новосибирска.

Группа контроля представлена популяционной выборкой из 257 человек (123 женщины и 134 мужчины), жителей г. Новосибирска, обследованных

в рамках программы ВОЗ “MONICA”. Средний возраст лиц группы контроля — 41,3±17,3 лет (41,0; 27,0–56,0). Обследование контрольной группы включало: измерение артериального давления, антропометрию (рост, вес), социально-демографические характеристики, опрос о курении, потреблении алкоголя (частота и типичная доза), уровне физической активности, оценка липидного профиля (общий холестерин (ОХС), триглицериды (ТГ), холестерин липопротеидов высокой плотности (ХСЛПВП)), опрос на выявление стенокардии напряжения (Rose), ЭКГ покоя в 12-ти отведениях с оценкой по Миннесотскому коду, атропиновый тест для исключения СССУ.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ “Statistica 7.0”. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался менее 0,05.

Результаты

Анализ частот встречаемости генотипов по ОНП гена *SCN10A* в общей группе больных с нарушениями сердечной проводимости (НСП) по сравнению с контрольной группой показал статистически значимое преобладание гомозиготного генотипа по распространенному аллелю GG гена *SCN10A* в группе контроля (39,9±3,0%) в сравнении с лицами, имеющими патологию проводящей системы сердца (29,7±3,1%; p<0,05) (табл. 1).

Все пациенты с НСП были разделены на подгруппы в зависимости от нозологии и половой принадлежности.

Результаты анализа частот встречаемости генотипов по ОНП гена *SCN10A* в группе пациентов с атриовентрикулярными блокадами (АВБ) и группе контроля представлены в таблице 2.

Согласно результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди больных с АВБ (23,6±5,7%) статистически значимо ниже, чем среди здоровых лиц (39,9±3,0%, p=0,07). Частоты генотипов AA и AG значимо не отличались

Таблица 2

Распределение частот генотипов G>A полиморфизма гена *SCN10A* среди больных с АВБ и лиц контрольной группы

Генотипы:	Пациенты с АВБ (n=55)		Контроль (n=263)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	13	23,6±5,7	105	39,9±3,0	0,07
AG	32	58,2±6,7	121	46,0±3,1	>0,05
AA	10	18,2±5,2	37	14,1±2,1	>0,05
Генотип GG	13	23,6±5,7	105	39,9±3,0	<0,05
Генотипы AG+AA	42	76,4±5,7	158	60,1±3,0	<0,05
ОШ; 95% ДИ	2,146;1,100-4,184				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

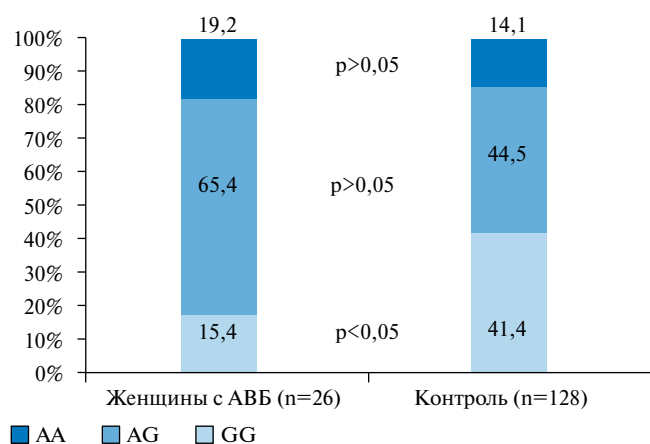


Рис. 1. Распределение частот генотипов по ОНП гена *SCN10A* среди женщин с АВБ по сравнению с контрольной группой.

у больных с АВБ и в группе контроля (табл. 2). Оценка суммарных частот генотипов также показала статистически значимое преобладание распространенного генотипа GG гена *SCN10A* в группе контроля (39,9±3,0% по сравнению с 23,6±5,7% в группе с АВБ, p<0,05) и преобладание суммарных частот генотипов по редкому аллелю в группе пациентов с АВБ (76,4±5,7%) по сравнению с контролем (60,1±3,0%, p<0,05) (табл. 2).

При оценке распределения генотипов в подгруппе женщин с АВБ по сравнению с контрольной группой также были получены достоверные различия (рис. 1).

Частота встречаемости гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю статистически значимо выше была в группе контроля (41,4±4,4%) по сравнению с группой женщин с АВБ (15,4±7,1%; p<0,05) (рис. 1). В отношении частот генотипов AA и AG достоверных отличий в группе женщин с АВБ и группе контроля не было получено.

Частота гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди мужчин с АВБ составила 31,0±8,6 (9 человек), гетерозиготного генотипа AG — 51,7±9,3% (15 человек) и гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю — 17,2±7,0% (5 человек). В контрольной группе 38,5±4,2% (52 человека) являлись

носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 47,4±4,3% (64 человека) — гетерозиготными носителями AG и 14,1±3,0% (19 человек) — носителями гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю. Согласно результатам исследования, частоты генотипов в группе мужчин с АВБ и группе контроля статистически значимо не отличались.

Аналогичным образом была проанализирована распространенность генотипов гена *SCN10A* в группе пациентов с нарушением проводимости по правой ножке пучка Гиса (ПБПНПГ, НБПНПГ), результаты представлены в таблице 3.

Согласно результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди больных с ПБПНПГ (НБПНПГ) и (26,8±5,3%) статистически значимо ниже, чем в группе контроля (39,9±3,0%, p=0,055), в то время как гетерозиготный генотип AG достоверно преобладает среди больных с ПБПНПГ (НБПНПГ) (62,0±5,8%) по сравнению в контролем (46,0±3,1%, p=0,055). Частоты генотипов AA значимо не отличались у больных с ПБПНПГ (НБПНПГ) и в группе контроля (табл. 3). Оценка суммарных частот генотипов показала статистически значимое преобладание распространенного генотипа GG гена *SCN10A* в группе контроля (39,9%±3,0) по сравнению с 26,8±5,3% в группе с ПБПНПГ (НБПНПГ), p<0,05 и преобладание суммарных частот генотипов по редкому аллелю в группе пациентов с ПБПНПГ (НБПНПГ) (73,2±5,3%) по сравнению с контролем (60,1±3,0%, p<0,05).

Частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю в подгруппе женщин с ПБПНПГ (НБПНПГ) составила 32,3±8,4% (10 человек), гетерозиготного генотипа AG — 54,8±8,9% (17 человек) и гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю — 12,9±6,0% (4 человека). В группе контроля 53 женщины (41,4±4,4%) были носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 57 женщин (44,5±4,4%) — носителями гетерозиготного генотипа AG и 18 женщин (14,1±3,1%) — носителями гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю. Статистически значимых отличий при срав-

Таблица 3

Распределение частот генотипов G>A полиморфизма гена *SCN10A* среди больных с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) и лиц контрольной группы

Генотипы:	Пациенты с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) (n=71)		Контроль (n=263)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	19	26,8±5,3	105	39,9±3,0	0,055
AG	44	62,0±5,8	121	46,0±3,1	0,055
AA	8	11,3±3,8	37	14,1±2,1	0,055
Генотип GG	19	26,8±5,3	105	39,9±3,0	0,05
Генотипы AG+AA	52	73,2±5,3	158	60,1±3,0	<0,05
ОШ; 95% ДИ	1,818; 1,018-3,247				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

нении частот генотипов гена *SCN10A* в подгруппе женщин с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) и группе контроля выявлено не было.

При анализе частот распространенности генотипов гена *SCN10A* в подгруппе мужчин с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) по сравнению с контролем наблюдалась тенденция к преобладанию гетерозиготного генотипа AG среди мужчин с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) (67,5±7,4%; 27 человек) в сравнении с мужчинами контрольной группы (47,4±4,3%; 64 человека), однако статистически значимых результатов получено не было (p=0,08). Также не было выявлено достоверных отличий в сравниваемых подгруппах по генотипам GG и AA. Частота генотипа GG по распространенному аллелю в подгруппе мужчин с ПБЛНПГ (НБЛНПГ) составила 22,5±6,6% (9 человек), генотипа AA по распространенному аллелю — 10±7,4% (27 человек), в контрольной группе — 38,5±4,2% (52 человека) и 14,1±3,0% (19 человек), соответственно.

При оценке частот встречаемости генотипов гена *SCN10A* у пациентов с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) по сравнению с контролем были получены следующие результаты: частота встречаемости гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю пациентов с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) составила 36,0±5,2% (31 человек), гетерозиготного генотипа AG — 51,2±5,4% (44 человека), гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю — 12,8±3,6 (11 человек). В контрольной группе 39,9±3,0% (105 человек) являлись носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 46,0±3,1% (121 человек) — гетерозиготными носителями AG и 14,1±2,1% (37 человек) — носителями гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю. Согласно результатам исследования установлено, что частоты носителей генотипов гена *SCN10A* у пациентов с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) статистически значимо не отличались от частот генотипов в контрольной группе.

Частоты встречаемости генотипов гена *SCN10A* в подгруппе женщин с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) и группе контроля распределились следующим обра-

зом: 12 женщин (31,6±7,5%) с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) являлись носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 23 женщины (60,5±7,9%) — носителями гетерозиготного генотипа AG и 3 женщины (7,9±4,4%) — носителями гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю. В контрольной группе у 53 женщин (41,4±4,4%) присутствовал генотип GG, у 57 женщин (44,5±4,4%) — генотип AG и у 18 женщин (14,1±3,1%) — генотип AA. Статистически значимых различий по распространенности генотипов в подгруппе женщин с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) и группе контроля выявлено не было.

Анализ генотипов гена *SCN10A* среди мужчин с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) также не показал статистически значимых отличий по сравнению с контрольной группой. Частота встречаемости гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди мужчин с ПБЛНПГ (БПВЛНПГ) составила 39,6±7,1% (19 человек), гетерозиготного генотипа AG — 43,8±7,2% (21 человек), гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю — 16,7±5,4% (8 человек). В контрольной группе 52 мужчины (38,5±4,2%) являлись носителями генотипа GG, 64 мужчины (47,4±4,3%) — носителями генотипа AG, 19 мужчин (14,1±3,0%) — носителями генотипа AA.

Обсуждение

Результаты проведенных исследований показали наличие взаимосвязи структурных изменений гена *SCN10A* с развитием идиопатических нарушений атрио-вентрикулярной и внутрижелудочковой (БПНПГ) проводимости. Гомозиготный генотип GG по распространенному аллелю статистически значимо преобладает среди здоровых лиц по сравнению с группами пациентов с АВБ и ПБЛНПГ (НБЛНПГ), что свидетельствует о его протективной роли в развитии указанных патологий. Кроме того, отмечается тенденция к увеличению числа носителей гомозиготного генотипа AA по редкому аллелю среди пациентов с АВБ, ПБЛНПГ (НБЛНПГ). Полученные данные в целом согласуются с данными литературы. Так, например, было установлено,

что ген *SCN10A* влияет на скорость атриовентрикулярного проведения у лиц европейского региона и Северной Америки [9]. Помимо того, были выявлены прямые корреляции между выраженностью замедления проведения по правой ножке пучка Гиса и ОНП гена *SCN10A* среди жителей различных регионов [10]. Необходимы дальнейшие исследования для уточнения предикторной роли редкого аллеля А гена *SCN10A* в развитии патологии проводящей системы сердца.

Заключение

ОНП G>A гена *SCN10A* может использоваться в качестве генетического маркера первичных НСП. Наличие у пациента гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю гена *SCN10A* статистически значимо снижает риск развития идиопатических нарушений атриовентрикулярной проводимости и замедления проведения по правой ножке пучка Гиса.

Литература

1. Anderson AG. Primary (genetically determined) cardiac conduction system diseases and its association with disturbances of sodium channels function. *Annals of Arrhythmology* 2005; 4(2): 50-5. Russian (А.Г. Андерсон. Первичные (генетически детерминированные) заболевания проводящей системы сердца и их взаимосвязь с нарушениями функции натриевого канала. *Анналы аритмологии* 2005; 4(2): 50-5).
2. Baruteau AE, Probst V, Abriel H. Inherited progressive cardiac conduction disorders. *Curr. Opin. Cardiol.* 2015. 30(1): 33-9.
3. Andreassen L, Nielsen JB, Darkner S, et al. Brugada syndrome risk loci seem protective against atrial fibrillation. *Eur. J. Hum. Genet.* 2014. 22(12): 1357-61.
4. Chambers JC, Zhao J, Terracciano CM, et al. Genetic variation in *SCN10A* influences cardiac conduction. *Nat Genet.* 2010; 42, 2: 149-52.
5. Jabbari J, Olesen MS, Yuan L. Common and Rare Variants in *SCN10A* Modulate the Risk of Atrial Fibrillation. *Circ. Cardiovasc. Genet.* 2015. 8(1): 64-73.
6. Behr ER, Savio-Galimberti E, Barc J, et al. Role of common and rare variants in *SCN10A*: results from the Brugada syndrome QRS locus gene discovery collaborative study. *Cardiovasc. Res.* 2015. Feb 17. pii: cvv042.
7. Bezzina CR, Barc J, Mizusawa Y. Common variants at *SCN5A-SCN10A* and *HEY2* are associated with Brugada syndrome, a rare disease with high risk of sudden cardiac death. *Nat Genet.* 2013; 45, 11: 1044-9.
8. Jeff JM, Ritchie MD, Denny JC, et al. Generalization of variants identified by genome-wide association studies for electrocardiographic traits in African Americans. *Ann. Hum. Genet.* 2013; 77(4): 321-32.
9. Delaney JT, Muhammad R, Shi Y, et al. Common *SCN10A* variants modulate PR interval and heart rate response during atrial fibrillation. *Europace.* 2014. 16(4): 485-90.
10. Fukuyama M, Ohno S, Makiyama T, et al. Novel *SCN10A* variants associated with Brugada syndrome. *Europace.* 2015 Apr 4. pii: euv078.

ВНИМАНИЮ АВТОРОВ!

Поскольку журнал переводит свой архив и текущие номера на новую издательскую платформу, просим каждого автора зарегистрировать свои данные на сайтах:

ResearcherID — <http://www.researcherid.com/Home.action>

ResearcherID позволяет решить проблему распознавания автора в рамках исследований научного сообщества. Каждому члену присваивается уникальный идентификатор, что позволит исследователям управлять списками их публикаций, отслеживать статистику цитирования и индекс Хирша, выявлять потенциальных партнеров для сотрудничества и избежать неверной идентификации автора. В дополнение, ваша информация ResearcherID интегрируется в *Web of Science* и совместима с ORCID, позволяя вам продемонстрировать публикации от одного аккаунта.

Поиск на ресурсе позволяет найти партнеров для сотрудничества, пересмотреть список публикаций и изучить, как исследование используется по всему миру.

ORCID — <http://orcid.org/>

ORCID предоставляет постоянный числовой идентификатор, который отличает вас от любого другого исследователя и, благодаря интеграции в ключевые исследования рабочих процессов — таких, как рукопись и предоставление гранта, поддерживает автоматизированные каналы связи между вами и вашей профессиональной деятельностью, гарантируя, что ваша работа признана.

УВАЖАЕМЫЕ АВТОРЫ!

Всем, кто ожидают публикацию в журнале “Кардиоваскулярная терапия и профилактика” и в “Российском кардиологическом журнале” в 2016 году (т.е. имеется подтверждение, что статья принята к печати, но в текущем году не будет опубликована), необходимо сделать подписку на 2016 год на указанный журнал (можно одну на весь авторский коллектив). Подписку можно оформить — <http://roscardio.ru/ru/subscription.html>

Издательство журнала не рассылает авторские экземпляры ни в бумажном, ни в электронном виде. По дополнительному запросу авторов мы можем передавать авторские экземпляры через нашу редакцию в ГНИЦ ПМ.

УВАЖАЕМЫЕ АВТОРЫ!

В 2016 году Российский кардиологический журнал принимает для публикации англоязычные статьи — как оригинальные, так и переводы уже напечатанных статей. Англоязычная часть журнала будет выходить 4 раза в год, размещаться в системе РИНЦ, Scopus и других системах, куда входит журнал. Приглашаем авторов!

Вслед за атеросклерозом и венозными тромбозами (ВТЭ), в механизме развития которых воспалительным реакциям стали отводить одну из ключевых ролей, подобные закономерности выявлены и для развития тромбоэмболических осложнений (ТЭО) при мерцательной аритмии (МА).

Ранее было установлено, что целый ряд факторов системы воспаления ассоциирован с развитием протромбогенного статуса при неклапанной МА [1]. Например, повышенный уровень С-реактивного белка (СРБ) у больных с низким и умеренным риском инсульта был ассоциирован с наличием тромба в ушке левого предсердия [2]. В трехлетнем проспективном исследовании выявлена независимая ассоциация высокого уровня фактора некроза опухоли (ФНО) с развитием ишемического инсульта (ИИ) у больных с постоянной формой МА [3]. Подобное прогностическое влияние установлено и для интерлейкина 6 (ИЛ-6) — одного из самых широко изучаемых цитокинов, характеризующегося как анти-, так и провоспалительной активностью, повышающего экспрессию тканевого фактора, фибриногена, фактора VIII и фактора Виллебранда [4].

Оценка влияния воспалительных маркеров на риск инсульта сопряжена с целым рядом проблем, обусловленных высокой лабильностью их уровней в плазме. Поэтому более перспективным представля-

ется изучение полиморфизма генов, кодирующих эти факторы. Ранее уже были установлены ассоциации целого ряда полиморфных маркеров генов ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-1 β , ИЛ-13 с риском развития ВТЭ [5, 6]. При этом, у больных с МА влияние врожденных особенностей функционирования системы воспаления на риск развития ТЭО практически не изучалось.

Целью настоящей работы явилось выявление полиморфных маркеров генов факторов системы воспаления, ассоциированных с риском развития неблагоприятного исхода у больных МА.

Материал и методы

В наблюдательное исследование было включено 258 больных с неклапанной МА (впервые выявленной, пароксизмальной, персистирующей, постоянной) госпитализированных в стационар или обратившихся амбулаторно по любым причинам. Критериями не включения являлись только: 1) отсутствие согласия больного на участие в наблюдении, 2) невозможность дальнейшего контакта с больным и 3) очевидные признаки ревматического поражения клапанов сердца или протезирование клапанов сердца в анамнезе.

Клиническая характеристика включенных больных представлена в таблице 1. Средний возраст пациентов составил $68,5 \pm 0,67$ лет, примерно равное коли-

Таблица 1

Клиническая характеристика

Параметр	n (%)
Мужчины/женщины	128 (49,6)/130 (50,4)
Возраст, лет	$68,5 \pm 0,67$
Артериальная гипертензия	235 (91,1)
ИБС	170 (65,9)
ПИКС	55 (21,3)
Атеросклеротический аортальный стеноз	31 (12)
Форма МА: постоянная/персистирующая/пароксизмальная/впервые выявленная	110 (42,6)/48 (18,6)/73 (28,3)/27 (10,5)
ЗСН/бессимптомное снижение ФВ менее 40%	131 (50,8)/2 (0,8)
НМК в анамнезе	49 (19)
СД 2 типа	49 (19)
Атеросклероз сосудов н/к/аорты/БЦА	46 (17,8)/105 (40,7)/15 (5,8)
Курение /курение в анамнезе	37 (14,3)/39 (15,1)
ВТЭ	21 (8,1)
Индекс CHA ₂ DS ₂ -VASc:	
0	0
1	16 (6,2)
2	41 (15,9)
3	56 (21,7)
4	68 (26,4)
5	39 (15,1)
6	23 (8,9)
7	13 (5,0)
8	1 (0,4)
9	1 (0,4)

Сокращения: ИБС — ишемическая болезнь сердца, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, ЗСН — застойная сердечная недостаточность, НМК — нарушение мозгового кровообращения, СД — сахарный диабет, н/к — нижние конечности, БЦА — брахиоцефальные артерии, ВТЭ — венозные тромбозы.

чество мужчин и женщин, подавляющее число больных страдали артериальной гипертензией, более 65% имели в анамнезе ишемическую болезнь сердца (ИБС), более половины — застойную сердечную недостаточность. Все пациенты имели умеренный или высокий риск развития инсульта, рассчитанный по шкале CHA₂DS₂-VASc.

За пациентами осуществлялось проспективное наблюдение (среднее время составило 489,6±11,71 дней). Регистрировали случаи смерти и развития всех типов артериальных и венозных тромботических/тромбоэмболических событий. Оценивалась частота развития двух типов “конечной точки” — 1) сумма всех ИИ, 2) сумма ИИ, инфарктов миокарда, венозных и артериальных тромбоемболий (“тромботическая конечная точка”).

Определялись три полиморфных маркера гена ФНО, один маркер гена интерлейкина-10 (ИЛ-10), два маркера гена ИЛ-6 и один маркер гена рецептора ИЛ-6. Информация по использованным праймерам и зондам суммирована в таблице 2. Выделение ДНК осуществлялось на автоматической станции QiaCube. Амплификацию полиморфных участков генов проводили с помощью полимеразной цепной реакции “в реальном времени” на термоциклере “ABI StepOnePlus” (Applied Biosystems) в 20 мкл реакционной смеси следующего состава: 70 мМ Трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфат аммония, 0,01%-ный Твин-20, 2 мМ хлорид магния, 200 нМ каждого dNTP, 500 нМ праймеров, 250 нМ флуоресцентных зондов, 1,5 ед. Таq ДНК-полимеразы, 50–100 нг геномной ДНК. Условия амплификации фрагментов ДНК: 95С/2 мин — 1-й цикл; 94С/10 сек, 54–66С/60 — 40 циклов. Анализ генотипов полиморфных маркеров ряда генов проводили методом детекции флуоресценции “по конечной точке” на термоциклере “ABI StepOnePlus” (Applied Biosystems) с помощью встроенных средств программного обеспечения SDS версии 2.2.

Частоты изученных полиморфных маркеров представлены в таблице 3. Распределение частот генотипов всех исследованных полиморфных маркеров соответствовало уравнению Харди-Вайнберга ($aa^2+2ab+bb^2=1$). Соответствие распределению рассчитывалось при помощи программного калькулятора Кнуда Кристенсена [<http://www.ihh.kvl.dk/htm/kc/porgen/genetik/applets/0.htm>].

Статистическая обработка данных проводилась при помощи программы SPSS 22.0. Для протяженных показателей был проведен анализ распределения и критериев его соответствия нормальному. Поскольку распределение всех изученных параметров не соответствовало нормальному, для анализа применяли непараметрические методы расчета. Для протяженных переменных рассчитывали средние величины и их ошибки ($M\pm m$). Для оценки достоверности их различия использовали непараметрический тест Mann-

Таблица 2

Последовательности праймеров и зондов, использованных для определения полиморфных маркеров

Маркер	Последовательности праймеров и зондов
ИЛ-6 G(-174)C	FJ — GACCTAAGCTGCACATTTTC RJ — GGTTGAGACTCTAATATTGAGAC FAM — TGTCTTGCCATGCTAA — BHQ-1 VIC — TGTCTTGCCATGCTAA — BHQ-2
ИЛ-6 G(-572)C	FJ — GAGACGCCTTGAAGTAAC RJ — GCCTGGGATTATGAAGAAG FAM — AACAGCCCTCAGAC — BHQ-1 VIC — AACAGCCCTCAGAC — BHQ-2
рецептор ИЛ-6 rs2228145	FJ — TCCTCTTCTCTCTCTATC RJ — CTCAGAACATGGCAATG FAM — CTAGTGCAAGATTCTTCT — BHQ-1 VIC — CTAGTGCAAGCTTCTTCT — BHQ-2
ИЛ-10 C(-819)T	FJ — GCTTCTTATATGCTAGTCA RJ — CAAGGTTTCATTCTATGTG FAM — ATGTAATATCTCTGTGCC — BHQ-1 VIC — ATGTAACATCTCTGTGCC — BHQ-2
ФНОα G(-238)A	FJL — CCTACACACAATCAGTCA RJL — CAAGCATCAAGGATACCC FAM — CTGCTCCGATTCCG — BHQ-1 VIC — CTGCTCTGATTCCG — BHQ-2
ФНОα G(-308)A	FJL — CTGTCTGGAAGTTAGAAGG RJL — GACTGATTGTGTGTAGGA FAM — CCGTCCCATGCC — BHQ-1 VIC — CCGTCCCATGCC — BHQ-2
ФНОα rs180630	FJ — GGTAGGAGAATGTCACG RJ — GTCCCTGTATTCCATA FAM — ACCCCCACTTAACGA — BHQ-1 VIC — ACCCCCACTTAACGA — BHQ-2

Сокращения: ИЛ — интерлейкин, ФНО — фактор некроза опухоли.

Таблица 3

Частоты встречаемости изученных полиморфных маркеров генов системы воспаления

Маркер	Частоты генотипов, %
ИЛ-6 G(-174)C, n=239 GG/GC/CC	72 (30,1%)/110 (46,0%)/57 (23,9%)
ИЛ-6 G(-572)C, n=248 GG/GC/CC	215 (86,7%)/30 (12,1%)/3 (1,2%)
рецептор ИЛ-6 rs2228145, n=171 AA/AC/CC	81 (47,4%)/79 (46,2%)/11 (6,4%)
ИЛ-10 C(-819)T, n=257 CC/CT/TT	159 (61,9%)/87 (33,8%)/11 (4,3%)
ФНОα G(-238)A, n=250 GG/GA/AA	230 (92,0%)/19 (7,6%)/1 (0,4%)
ФНОα G(-308)A, n=247 GG/GA/AA	191 (77,3%)/54 (21,9%)/2 (0,8%)
ФНОα rs180630, n=249 CC/CA/AA	176 (70,7%)/57 (22,9%)/16 (6,4%)

Сокращения: ИЛ — интерлейкин, ФНО — фактор некроза опухоли.

Whitney. Дискретные величины сравнивали по критерию χ^2 Пирсона. В качестве основного анализируемого события рассматривали первое, наступившее у больного, неблагоприятное событие. Клинические показа-

Таблица 4

Сравнительная характеристика больных, получающих и не получающих антикоагулянты

Параметр	Антикоагулянты	Нет антикоагулянтов	p
Возраст	67,9±0,74	69,2±1,31	нд
≥75 лет	23,6%	35,6%	0,012
Пол	46,9%/53,1%	52,2%/47,8%	нд
АГ	91,1%	91,7%	нд
ПИКС	26,3%	27,5%	нд
СД 2 типа	18,5%	19,8%	нд
Первичный атеросклероз	28,0%	38,5%	нд
НМК в анамнезе	21,1%	19,6%	нд
ЗСН	48,4%	57,3%	нд
СН III-IV ФК NYHA на момент включения	21%	38,6%	0,017

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, НМК — нарушение мозгового кровообращения, ЗСН — застойная сердечная недостаточность.

Таблица 5

Результаты проспективного наблюдения в зависимости от приема антикоагулянтов

Все пациенты, n=258	Антикоагулянты, n=157	Нет антикоагулянтов, n=101	p
Смерть от любой причины	3 (1,9%)	19 (18,8%)	<0,0001
Фатальный инфаркт	0	1	
Фатальный инсульт	1	9	
Внезапная смерть	1	1	
Декомпенсация ЗСН	0	4	
ВТЭ	0	1	
Другие причины	1	3	
Нефатальный ОКС	3 (1,9%)	7 (6,9%)	0,019
ОИМ	2	1	
НС	1	5	
неуточненный	0	1	
Ишемический инсульт	5 (3,2%)	10 (9,9%)	0,02
Нефатальный	4	1	
Системные ТЭ	1 (0,6%)	3 (2,97%)	нд
Артериальные	0	2	
Венозные	1	1	
"Тромботическая" КТ	10 (6,4%)	21 (20,8%)	<0,0001

Сокращения: ЗСН — застойная сердечная недостаточность, ВТЭ — венозные тромбозы, ОКС — острый коронарный синдром, ОИМ — острый инфаркт миокарда, НС — нестабильная стенокардия, ТЭ — тромбоз, КТ — конечная точка.

тели, связь которых с исходами показала достоверный характер при однофакторном регрессионном анализе, включены в многофакторный регрессионный анализ в модели Кокса, проводимый пошаговым методом с включением переменных при $p < 0,05$.

Результаты

Несмотря на то, что риск развития инсульта у включенных в исследование больных на момент

включения определялся как умеренный и высокий, только 157 (60,9%) включенных больных получали адекватную антикоагулянтную терапию (АКТ) в течение всего периода проспективного наблюдения. Из них, варфарин с регулярным контролем МНО принимали 148 (94,3%) пациентов, 7 (4,5%) больных получали дабигатран (4 пациента в дозе 300 мг/день, 3 — в дозе 220 мг/день), 2 пациента — ривароксабан в дозе 20 мг/день.

По большинству клинических параметров группы больных, получающих и не получающих антикоагулянты, достоверно не различались (табл. 4). Анализ показывает, что прием антикоагулянтов определялся не риском инсульта (все включенные больные нуждались в приеме антикоагулянтов), а возможностью контроля МНО. Именно поэтому у пациентов, получавших антикоагулянты, чуть реже встречалась сердечная недостаточность III-IV ФК и среди них было меньше лиц старше 75 лет.

Результаты проспективного наблюдения за больными, получающими и не получающими АКТ, представлены в таблице 5. Факторы риска развития тромботических/ТЭО в этих группах существенно различались.

У не получающих АКТ больных ($n=101$) с риском развития ИИ оказались ассоциированы: СД 2 типа (ОШ 4,2, ДИ 1,45-12,34, $p=0,008$), ФВ ЛЖ (ОШ 0,91, ДИ 0,76-0,96, $p=0,037$), возраст ≥ 75 лет (ОШ 8,4, ДИ 1,68-42,49, $p=0,01$) и носительство аллеля С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 (ОШ 9,2, ДИ 1,1-77,6, $p=0,041$). При проведении многофакторного регрессионного анализа (модель Кокса) независимыми предикторами развития ИИ явились: носительство аллеля С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 (ОШ 13,25 ДИ 1,57-112,18, $p=0,018$), возраст ≥ 75 лет (ОШ 1,1, ДИ 1,008-1,2, $p=0,032$) и ФВ ЛЖ (ОШ 0,97 ДИ 0,94-0,99 $p=0,027$) (рис. 1). Ассоциаций с исходами других изученных полиморфных маркеров выявлено не было.

Аллель С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 оказался также ассоциирован с развитием любого тромботического или тромбоэмболического события у больных, не получавших антикоагулянты. По данным однофакторного анализа, достоверная связь с риском развития "тромботической конечной точки" выявлена для СД 2 типа (ОШ 4,5, ДИ 1,6-13,1, $p=0,005$), возраста ≥ 75 лет (ОШ 2,8, ДИ 1,03-7,5, $p=0,044$), ФВ ЛЖ (ОШ 0,97, ДИ 0,95-0,99, $p=0,004$), атеросклероза периферических артерий (ОШ 2,8, ДИ 1,1-7,5, $p=0,039$) и носительства аллеля С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 (ОШ 3,9, ДИ 1,3-12,2, $p=0,018$). При проведении многофакторного анализа (регрессия Кокса), независимыми предикторами развития "тромботической конечной точки" были СД 2 типа (ОШ 4,3 ДИ 1,46-12,45 $p=0,008$), ФВ ЛЖ (ОШ 0,96 ДИ 0,94-0,98,

$p < 0,0001$) и факт носительства аллеля С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 (ОШ 4,03 ДИ 1,07-15,26, $p = 0,04$) (рис. 2).

У больных, получающих адекватную АКТ, генетические факторы с неблагоприятными исходами ассоциированы не были. Единственным независимым предиктором развития ИИ оказался СД 2-го типа (ОШ 16,8, ДИ 1,63-173,32, $p = 0,018$), а предиктором развития “тромботической конечной точки” — перенесенный в анамнезе эпизод нестабильной стенокардии (ОШ 8,8, ДИ 1,11-68,87, $p = 0,039$).

Обсуждение

В работе впервые выявлена потенциальная прогностическая роль полиморфного маркера rs2228145 (А/С) гена рецептора ИЛ-6 у больных с МА.

К настоящему моменту клинических данных по изучению этого полиморфизма явно недостаточно. Ранее была продемонстрирована его связь с рядом воспалительных заболеваний — таких, как ревматоидный артрит [7] и бронхиальная астма [8]. При ревматоидном артрите изучалось влияние аллеля С на уровень сердечно-сосудистой смертности, но достоверных ассоциаций не установлено [9].

В ряде работ выявлена относительно протективная роль аллеля С в развитии атеросклероза (но не его осложнений!). Например, Harrison SC, et al. продемонстрировали ассоциацию носительства данного аллеля с более низким риском развития аневризмы брюшного отдела аорты [10]. В крупном мета-анализе, включившем данные 82 исследований (51441 пациент с ИБС, 136226 лиц без ИБС), установлено, что риск развития ИБС достоверно и независимо от традиционных факторов риска снижался на 3,4% (1,8%-5,0%) для каждой копии аллеля С в генотипе [11]. При этом исследователям из Китая не удалось продемонстрировать достоверной связи данного полиморфного маркера и раннего дебюта ИБС [12]. Таким образом, в настоящее время можно говорить о потенциальной ассоциации полиморфного маркера rs2228145 (А/С) гена рецептора ИЛ-6 с риском развития атеросклероза, но нет никаких данных о влиянии данного полиморфизма на риск тромботических или ТЭО. У больных с МА данный полиморфизм ранее не изучался.

Несмотря на малое число клинических данных по этому полиморфизму, его функциональное значение изучено неплохо. Ранее было установлено, что носительство аллеля С ассоциировано с более низким уровнем СРБ без изменения уровня ИЛ-6 [13]. В другой работе, существенно более масштабной (125222 участников), подтверждено влияние аллеля С на уровень СРБ, но также выявлено влияние на уровень ИЛ-6, фибриногена и рецептора ИЛ-6. Так, наличие в генотипе каждой копии аллеля С приводило к снижению средних концентраций СРБ на 7,5%, ИЛ-6 — на 14,6%, фибриногена — на 1,0%, при этом значи-

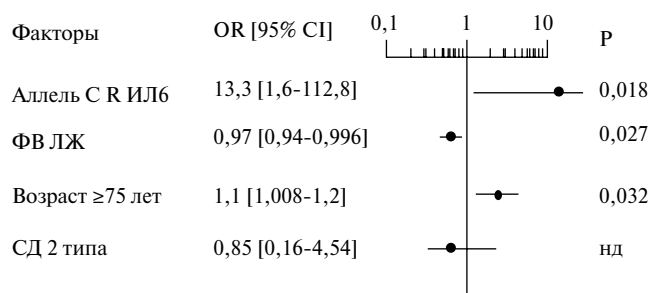


Рис. 1. Факторы, независимо ассоциированные с риском развития ИИ у пациентов, не получающих антикоагулянты.

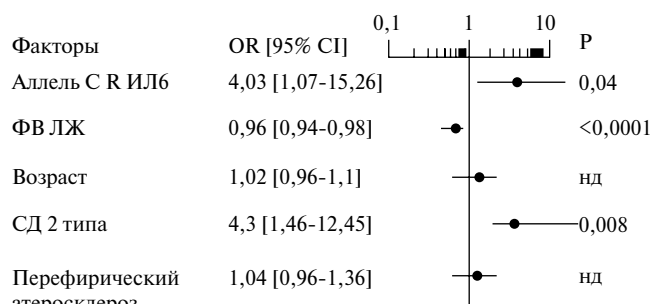


Рис. 2. Факторы, независимо ассоциированные с риском развития “тромботической” КТ у пациентов, не получающих антикоагулянты.

тельно — на 34,3% — увеличивалась концентрация рецептора ИЛ-6 [11].

Функциональное значение полиморфного маркера rs2228145 (А/С) гена рецептора ИЛ-6 определяется тем, что у носителей аллеля С белок-рецептор имеет меньшее сродство к цитоплазматической мембране, то есть большая часть рецептора переходит в растворимую форму [14]. Раньше считали, что причина этого заключается в альтернативном пути сплайсинга, однако сейчас показано, что внеклеточный домен рецептора отщепляется под действием двух протеаз — ADAM10 и ADAM17, сродство к которым у носителей аллеля С существенно выше [15].

Принципиально, что в отличие от большинства традиционных рецепторных систем, ИЛ-6 может связываться не только с мембранной, но и растворимой формами своего рецептора. Данная особенность приводит к тому, что увеличение доли растворимого рецептора не снижает ответ на ИЛ-6, а изменяет характер этого ответа, происходит переключение с классического на транс-сигнальный путь (рис. 3).

Классический путь включает в себя связывание двух молекул ИЛ-6 с двумя молекулами рецептора к ИЛ-6, закрепленного на цитоплазматической мембране, после чего происходит димеризация двух молекул гликопротеида 130 (gp130) с образованием гексамерного комплекса. Затем начинается фосфорилирование Янус-киназ, ассоциированных с gp130, фосфорилирование SH2-белков (Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase-2)

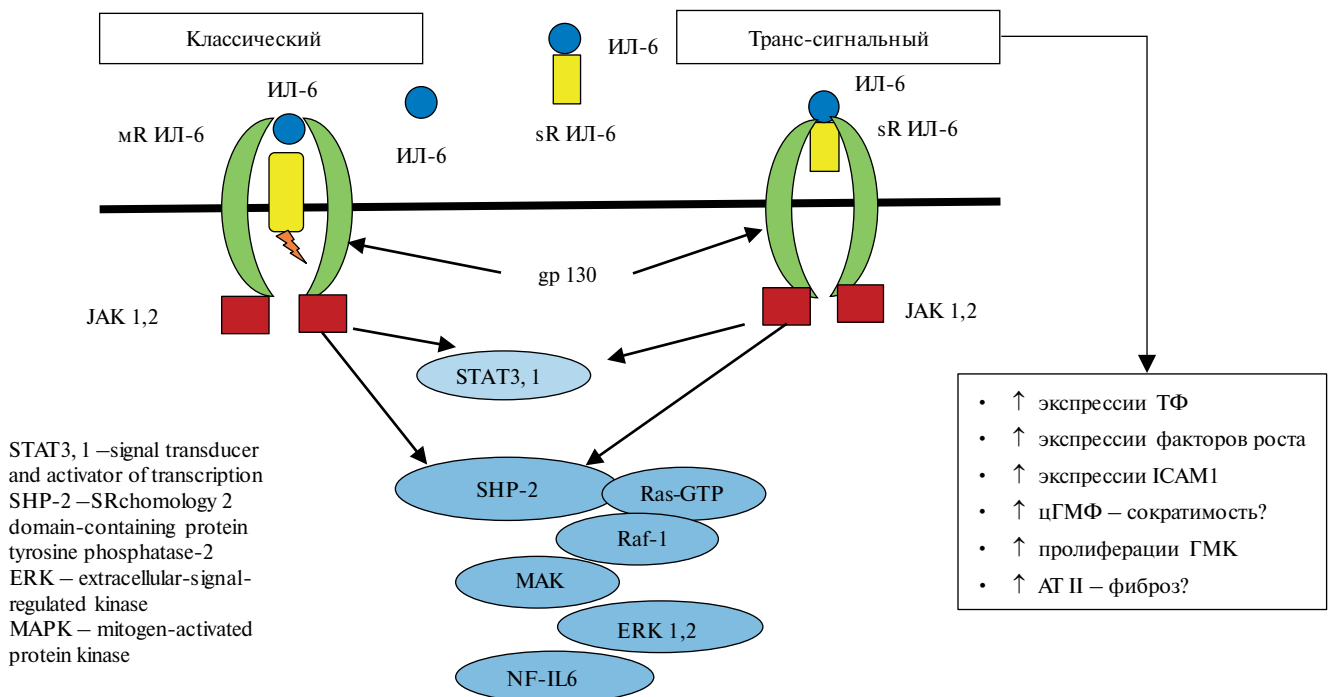


Рис. 3. Классический и транс-сигнальный рецепторные пути ИЛ-6.

и целого ряда транскрипционных факторов, в частности STAT 3,1 (signal transducer and activator of transcription). Особенностью классического пути является возможность реализации его только в клетках, экспонирующих на мембране рецептор ИЛ-6. К таким клеткам относятся гепатоциты и лейкоциты. В этих клетках стимуляция классического рецепторного пути ИЛ-6 осуществляет регуляцию реакций воспалительного каскада, приводит к повышению уровней СРБ, фибриногена и других белков острой фазы [16, 17].

В отличие от рецептора ИЛ-6, экспонированного на мембранах ограниченного типа клеток, gp 130 широко представлен в различных клетках и тканях. Так как переход рецептора ИЛ-6 в растворимое состояние не сказывается на его способности связываться с лигандом, в плазме образуется комплекс ИЛ-6/растворимый рецептор ИЛ-6, и этот комплекс способен образовывать связи с gp130. Образовавшийся комплекс ИЛ-6 растворимый рецептор ИЛ-6/gp130 вызывает фосфорилирование Янус-киназ, ассоциированных с gp130, то есть запускается каскад фосфорилирования различных транскрипционных факторов в клетках, не экспонирующих на своей мембране рецептор к ИЛ-6 и, в нормальных условиях, не отвечающих на этот интерлейкин. Такой путь был назван “транс-сигнальным”, физиологические последствия переключения работы ИЛ-6 с классического на этот путь только изучаются, предполагается, что он переключает режим работы ИЛ-6 с противо-, на провоспалительный [18]. Известно, что стимуляция клеток ИЛ-6 может приводить к повышению экспрессии тканевого фактора и факторов роста,

повышению экспрессии межклеточных молекул адгезии 1 типа (ICAM1), описано влияние ИЛ-6 на уровень цГМФ, пролиферацию гладкомышечных клеток, процессы фиброза. Можно предполагать, хотя строгих доказательств пока не получено, что подобные процессы, запускаемые в широком круге клеток и тканей (благодаря “транс-сигнальному” пути) могут явиться патогенетическим звеном развития тромботических осложнений.

Аллель С полиморфного маркера rs2228145 (A/C) гена рецептора ИЛ-6 приводит к образованию молекулы, слабее связанной с цитоплазматической мембраной, поэтому у носителей данного аллеля достоверно выше уровень растворимой формы рецептора и, соответственно, больше доля “транс-сигнального” пути [19, 20]. Мы предполагаем, что именно это объясняет выявленную в работе связь аллеля С с тромботическими и ТЭО у больных с МА. Если эта связь будет подтверждена в дальнейших работах и будет доказано, что переключение на “транс-сигнальный” путь является одним из патогенетических звеньев развития тромбоза при МА, появится еще один потенциальный механизм лечебного воздействия для снижения риска инсульта — блокада растворимого рецептора к ИЛ-6.

Таким образом, аллель С полиморфного маркера rs2228145 гена рецептора ИЛ-6 оказался ассоциирован с неблагоприятными исходами у больных, не получавших адекватной АКТ.

Потенциальное клиническое значение полученных в настоящей работе результатов, требующее,

естественно, подтверждения в специально спланированных исследованиях, определяется тем фактом, что данный маркер риска развития ИИ и любых тромботических/ТЭО позволяет отбирать больных для лечения антикоагулянтами. При подтверждении полученных результатов в более масштабных исследова-

ниях, выявление аллеля С полиморфного маркера rs2228145 (А/С) гена рецептора ИЛ-6 может явиться аргументом для назначения антикоагулянтов пациентам, у которых риск инсульта в настоящее время оценивается как низкий (нулевое значение индекса CHA₂DS₂-VASc).

Литература

- Zotova I, Zateyschikov D, Sidorenko B. Predictors of intracardiac thrombosis in patients with atrial fibrillation: factors of hemostasis, markers of inflammation and genetic factors. *Cardiology* 2007, 47(11): 46-54. Russian (Зотова И., Затеищиков Д., Сидоренко Б. Предикторы внутрисердечного тромбоза у больных с мерцательной аритмией: факторы гемостаза, маркеры воспаления и генетические факторы. *Кардиология* 2007, 47(11): 46-54).
- Ederhy S, Di Angelantonio E, Dufaitre G, et al. C-reactive protein and transesophageal echocardiographic markers of thromboembolism in patients with atrial fibrillation. *International journal of cardiology* 2012, 159(1): 40-6.
- Pinto A, Tuttolomondo A, Casuccio A, et al. Immuno-inflammatory predictors of stroke at follow-up in patients with chronic non-valvular atrial fibrillation (NVAf). *Clin Sci (Lond)* 2009, 116(10): 781-9.
- Roldan V, Marin F, Martinez JG, et al. Relation of interleukin-6 levels and prothrombin fragment 1+2 to a point-based score for stroke risk in atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2005, 95(7): 881-2.
- Beckers MM, Ruven HJ, Haas FJ, et al. Single nucleotide polymorphisms in inflammation-related genes are associated with venous thromboembolism. *Eur J Intern Med* 2010, 21(4): 289-92.
- Zee RY, Glynn RJ, Cheng S, et al. An evaluation of candidate genes of inflammation and thrombosis in relation to the risk of venous thromboembolism: The Women's Genome Health Study. *Circ Cardiovasc Genet* 2009, 2(1): 57-62.
- Eyre S, Bowes J, Diogo D, et al. High-density genetic mapping identifies new susceptibility loci for rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2012, 44(12): 1336-40.
- Ferreira MA, Matheson MC, Duffy DL, et al. Identification of IL6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma. *Lancet* 2011, 378(9795): 1006-14.
- Ibrahim I, McAllister K, Plant D, et al. Investigation of an interleukin-6 receptor gene polymorphism (rs2228145) as a predictor of cardiovascular mortality in inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register. *Ann Rheum Dis* 2014, 73(4): 787-8.
- Harrison SC, Smith AJ, Jones GT, et al. Interleukin-6 receptor pathways in abdominal aortic aneurysm. *Eur Heart J* 2013, 34(48): 3707-16.
- Sarwar N, Butterworth AS, Freitag DF, et al. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet* 2012, 379(9822): 1205-13.
- Chen Z, Qian Q, Tang C, et al. Association of two variants in the interleukin-6 receptor gene and premature coronary heart disease in a Chinese Han population. *Mol Biol Rep* 2013, 40(2): 1021-6.
- Qi L, Rifai N, Hu FB. Interleukin-6 receptor gene, plasma C-reactive protein, and diabetes risk in women. *Diabetes* 2009, 58(1): 275-278.
- Stephens OW, Zhang Q, Qu P, et al. An intermediate-risk multiple myeloma subgroup is defined by sIL-6r: levels synergistically increase with incidence of SNP rs2228145 and 1q21 amplification. *Blood* 2012, 119(2): 503-12.
- Garbers C, Monhasery N, Aparicio-Siegmund S, et al. The interleukin-6 receptor Asp358Ala single nucleotide polymorphism rs2228145 confers increased proteolytic conversion rates by ADAM proteases. *Biochim Biophys Acta* 2014, 1842(9): 1485-94.
- Abeywardena MY, Leifert WR, Warnes KE, et al. Cardiovascular biology of interleukin-6. *Curr Pharm Des* 2009, 15(15): 1809-21.
- Schuetz H, Luchtefeld M, Grothusen C, et al. How much is too much? Interleukin-6 and its signalling in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2009, 102(2): 215-22.
- Rose-John S. IL-6 trans-signaling via the soluble IL-6 receptor: importance for the pro-inflammatory activities of IL-6. *Int J Biol Sci* 2012, 8(9): 1237-47.
- Reich D, Patterson N, Ramesh V, et al. Admixture mapping of an allele affecting interleukin 6 soluble receptor and interleukin 6 levels. *Am J Hum Genet* 2007, 80(4): 716-26.
- van Dongen J, Jansen R, Smit D, et al. The contribution of the functional IL6R polymorphism rs2228145, eQTLs and other genome-wide SNPs to the heritability of plasma sIL-6R levels. *Behav Genet* 2014, 44(4): 368-82.

Темы номеров Российского кардиологического журнала в 2016 году

Номер журнала	Тема	Ответственный редактор	Дополнительные материалы
1	Легочная гипертензия	Моисеева О. М.	Легочная гипертензия 2015 Pulmonary hypertension
2	Интервенционная кардиология и кардиохирургия	Белов Ю. В., Дземешкевич С. Л.	Кардиоонкология (Позиция ЕОК) 2015 Cardio-oncology (Position paper)
3	Ишемическая болезнь сердца	Галавич А. С.	Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST 2015 Acute coronary syndrome NSTEMI
4	Артериальная гипертензия, коморбидное ожирение и сахарный диабет	Чумакова Г. А., Недогода С. В.	Консенсус по ожирению
5	Перикардиты, миокардиты и эндокардиты (заболевания оболочек сердца)	Арутюнов Г. П., Демин А. А.	Заболевания перикарда 2015 Pericardial Diseases Инфекционные эндокардиты 2015 Infective endocarditis
6	Эпидемиология и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний	Бойцов С. А., Концевая А. В.	
7	Аритмии	Лебедев Д. С.	Желудочковые аритмии и внезапная сердечная смерть 2015 Ventricular Arrhythmias & Sudden Cardiac Death
8	Острая и хроническая сердечная недостаточность	Лопатин Ю. М.	
9	Конгресс	Таратухин Е. О.	Избранные статьи
10	Кардиогенетика	Костарева А. А., Заклязьминская Е. В.	
11	Клапанная болезнь сердца и соединительнотканная дисплазия	Чернявский А. М., Протопопов А. В.	
12	Методы исследования в кардиологии	Васюк Ю. А., Мацкеплишвили С. Т.	

КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ РИСКОМЕТР РАСЧЕТА РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У БОЛЬНЫХ С ФИБРИЛЛЯЦИЕЙ ПРЕДСЕРДИЙ

Аксютин Н. В.¹, Шульман В. А.¹, Никулина С. Ю.¹, Назаров Б. В.¹, Максимов В. Н.², Плита Е. В.¹, Котловский М. Ю.¹, Верещагина Т. Д.¹

Цель. Определить генетические аспекты в развитии ишемического инсульта при ФП и разработать аналитический программный комплекс для определения генетического риска возникновения ишемического инсульта у больного с ФП.

Материал и методы. Обследовано 43 пациента с ФП и ОНМК в анамнезе, 78 пациентов — с ФП без ОНМК. Контрольная группа состояла из 188 человек без сердечно-сосудистой патологии.

Обследуемым проводили: ЭКГ, ЭхоКГ, холтеровское ЭКГ-мониторирование, тест с физической нагрузкой, ЧПСП, анализ крови на гормоны щитовидной железы. Для подтверждения ишемической природы ОНМК у обследуемых пробандов проведена компьютерная томография головного мозга. У всех обследуемых проведено молекулярно-генетическое исследование.

Результаты. Согласно отношению шансов наличие аллеля А полиморфизма -455G>A гена *FGB* риск развития ишемического инсульта у больных с ФП увеличивает в 1,7 раз в сравнении с теми пациентами, у которых данный аллель отсутствует; наличие генотипов с редким аллелем Т в гомозиготном и гетерозиготном состоянии полиморфизма 807C>T гена *GPIIa* в 2,5 раз увеличивает риск развития ОНМК при ФП; при наличии аллеля С полиморфизма -5T>C гена *GPIIb* риск развития ОНМК у больных с ФП увеличивается в 1,9 раза по сравнению с пациентами, у которых данный аллель отсутствует; наличие генотипов с редким аллелем С в гомозиготном и гетерозиготном состоянии полиморфизма -5T>C гена *GPIIb* увеличивают риск развития инсульта в 2,3 раза; наличие аллеля А полиморфизма 10976G>A гена *FVII* снижает вероятность развития ОНМК в 2,6 раз.

Учитывая результаты исследования, разработан "Клинико-генетический рискометр развития ишемического инсульта при ФП". Посредством данного информационно-аналитического комплекса возможно рассчитать генетический риск возникновения ишемического инсульта у обследуемого.

Заключение. Таким образом, настоящее исследование показало, что гомозиготный генотип АА по редкому аллелю полиморфизма 455G>A гена *FGB*, гетерозиготный генотип СТ и гомозиготный генотип ТТ по редкому аллелю полиморфизма 807C>T гена *GPIIa*, гетерозиготный генотип ТС и гомозиготный генотип СС по редкому аллелю полиморфизма -5T>C гена *GPIIb* определены как генетические предикторы развития ишемического инсульта у больных с ФП. Аллель А полиморфизма 10976G>A гена *FVII* оказывает протективный эффект в развитии ишемического инсульта у больных с ФП. Зная показатели генетического исследования у больных с ФП, возможно рассчитать генетический риск развития ишемического инсульта при ФП посредством разработан-

ного нами аналитического программного комплекса "Клинико-генетический рискометр развития ишемического инсульта при ФП".

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 42–45

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-42-45>

Ключевые слова: генетический риск, ишемический инсульт, фибрилляция предсердий, генетический рискометр.

¹ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск; ²ФГБУ НИИТПМ СО РАМН, Новосибирск, Россия.

Аксютин Н. В. — к.м.н., ассистент кафедры внутренних болезней №1, Шульман В. А. — д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней №1, Никулина С. Ю. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой внутренних болезней №1, Назаров Б. В. — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней №1, Максимов В. Н. — д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-генетических исследований, Плита Е. В. — зав. лабораторией разработки и внедрения информационных технологий в медицинское образование и здравоохранение, Котловский М. Ю. — к.м.н., врач-терапевт лаборатории ЦНИЛ, Верещагина Т. Д. — к.м.н., доцент кафедры внутренних болезней №1.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): aks-n-v@yandex.ru

ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ОШ — отношение шансов, ФП — фибрилляция предсердий, ЧПСП — чреспищеводная стимуляция левого предсердия, ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография, А — аденин, С — цитозин, CHA₂DS₂-VASc — Congestive heart failure, Hypertension, Age over 75 years, Diabetes mellitus, Stroke-Vascular lesions, Age 65-74 years, Female gender, F7 — проковертин, FBG — β-цепь фибриногена, G — гуанин, GPIIa — гликопротеин интегрин α, GPIIb — α-цепь тромбоцитарного гликопротеина β, Т — тимин.

Рукопись получена 30.07.2015

Рецензия получена 03.08.2015

Принята к публикации 10.08.2015

CLINICAL-GENETIC RISKOMETER FOR THE ISCHEMIC STROKE RISK ASSESSMENT IN ATRIAL FIBRILLATION

Aksyutina N. V.¹, Shulman V. A.¹, Nikulina S. Yu.¹, Nazarov B. V.¹, Maksimov V. N.², Plita E. V.¹, Kotlovsky M. Yu.¹, Vereshchagina T. D.¹

Aim. To assess genetic issues in the ischemic stroke development in AF and to invent an analytical programmed complex for genetic risk estimation of stroke development in a patient with AF.

Material and methods. Totally 43 patients studied with AF and stroke in anamnesis, 78 — with AF and no stroke. Controls consisted of 188 persons without cardiovascular pathology.

The participants underwent ECG, EchoCG, Holter ECG-monitoring, exercise test, TELAS, thyroid gland hormones analysis. For confirmation of the ischemic nature of stroke in participating probands we performed computed tomography of the brain. All participants also underwent molecular genetic testing.

Results. According to the odds ratio, allele A polymorphism -455G>A of gene *FGB* increases the risk of ischemic stroke development in atrial fibrillation 1,7 times comparing to those patients without the allele; genotypes with the rare T allele in homo- and heterozygous state of polymorphism 807C>T of gene *GPIIa* increases 2,5 times the risk of stroke in AF, presence of allele C polymorphism -5T>C of gene *GPIIb* increases 1,9 times the risk of stroke comparing to its absence; presence of

the rare genotypes allele C in homo- and heterozygous state -5T>C of gene *GPIIb* increases 2,3 times stroke risk; allele A of the polymorphism 10976G>A gene *FVII* decreases the risk of stroke 2,6 times.

According to the results, there was a "Clinical-genetic riskometer of the ischemic stroke in AF" developed. Using this informational-analytic complex it is possible to estimate genetic risk of the stroke.

Conclusion. Therefore, the study has shown that homozygous genotype AA of the rare polymorphism 455G>A gene *FGB*, heterozygous genotype CT and homozygous genotype TT of the rare polymorphism allele 807C>T gene *GPIIa*, heterozygous genotype TC and homozygous genotype CC by the rare allele polymorphism -5T>C gene *GPIIb* are defined as genetic predictors of ischemic stroke development in atrial fibrillation. Allele A of polymorphism 10976G>A gene *FVII* is protective against ischemic stroke in patients with AF. Knowing the parameters of genetic assessment in AF, it is possible to calculate genetic risk of ischemic stroke development in AF via invented by us a "Clinical-Genetic riskometer of ischemic stroke in AF".

Key words: genetic risk, ischemic stroke, atrial fibrillation, genetic riskometer.

Фибрилляция предсердий (ФП) регистрируется приблизительно у 1,0–2,0% населения [1]. ФП не только ухудшает качество жизни, но и увеличивает показатели смертности практически в 2 раза [2]. ФП является наиболее значимой причиной кардиоэмболического инсульта [1].

Профилактика тромбоэмболических осложнений ФП и, прежде всего, ишемического инсульта — важная проблема современной кардиологии. В шкале CHA₂DS₂-VASc представлена количественная оценка различных факторов риска возникновения ишемического инсульта, однако в этой шкале не отражены генетические факторы риска развития инсульта вследствие их малой изученности [1].

В литературе представлены единичные исследования, направленные на выявление генетических предикторов развития кардиоэмболического инсульта при ФП. [3–8]. Однако данные этих исследований в значительной степени противоречивы. Это, вероятно, связано с тем, что исследования проводились в различных популяциях, различались по своей методологии и дизайну. Поэтому дальнейшие исследования, направленные на выявление генетических предикторов развития ишемического инсульта при ФП являются актуальными. Мы полагаем, что создание на основе полученных генетических предикторов аналитического программного комплекса позволит улучшить персонализированную профилактику развития ишемического инсульта у больных с ФП.

Материал и методы

Проведено обследование 43 пациентов с ФП и острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК) в анамнезе (18 мужчин и 25 женщин), 78 пациентов с ФП без ОНМК (42 мужчин и 36 женщин). Контрольная группа состояла из 188 человек без сердечно-сосудистой патологии (85 мужчин, 103 женщины).

Медиана возраста пробандов с ФП и ОНМК (58 лет [52; 65]) статистически значимо не отличается от медианы возраста пробандов с ФП без ОНМК (62 года (44,75; 71)) и от медианы возраста лиц контрольной группы (59 лет (53; 65,75)).

Пациентов с пароксизмальной ФП в группе с ФП без ОНМК статистически значимо больше, чем в группе с ФП и ОНМК (75,65% относительно 39,53%, $p < 0,001$). В группе больных с ФП и ОНМК статистически значимо преобладала постоянная ФП при сравнении с группой пациентов с ФП без ОНМК (58,14% относительно 10,26%, $p < 0,001$), (табл. 1).

Из имеющихся у больных факторов риска развития инсульта только ХСН статистически значимо преобладала у больных с ФП и ОНМК по сравнению с группой

больных с ФП без ОНМК (55,81% относительно 34,62%, $p < 0,05$). В то же время больных в возрасте старше 75 лет было статистически значимо больше среди больных с ФП без ОНМК (16,67% относительно 2,33%, $p < 0,05$), (табл. 2).

Учитывая то, что на период возникновения ишемического инсульта у больных с ФП и ОНМК ишемического инсульта в анамнезе не было диагностировано, этот фактор риска в таблицу 2 не внесен.

Статистически значимых различий по количеству пациентов, принимавших дезагреганты и антикоагулянты, при сравнении группы с ФП и ОНМК с группой ФП без ОНМК не получено, (табл. 3).

Таблица 1

Типы ФП у обследуемых пациентов

	ФП и ОНМК		ФП без ОНМК		p
	абс.	%	абс.	%	
Впервые выявленная	0	0	7	8,97	>0,05
Пароксизмальная	17	39,53	59	75,65	<0,001
Персистирующая	1	2,33	2	2,56	>0,05
Длительная персистирующая	0	0	2	2,56	>0,05
Постоянная	25	58,14	8	10,26	<0,001
Количество обследуемых	43	100	78	100	

Таблица 2

Наличие факторов риска (шкала CHA₂DS₂) возникновения инсульта у больных с ФП и ОНМК и у больных с ФП без ОНМК

Наличие факторов риска	ФП и ОНМК		ФП без ОНМК		p
	абс.	%	абс.	%	
Женский пол	25	58,14	36	46,15	>0,05
Заболевания сосудов	33	76,74	44	56,41	>0,05
Гипертоническая болезнь	34	79,07	49	62,82	>0,05
Сахарный диабет	8	18,60	8	10,26	>0,05
ХСН	24	55,81	27	34,62	<0,05
Возраст от 65 до 74 лет	12	27,91	24	30,77	>0,05
Возраст старше 75 лет	1	2,33	13	16,67	<0,05
Количество обследуемых	43	100	78	100	

Таблица 3

Антитромботическая терапия у пациентов основной группы

	ФП и ОНМК		ФП без ОНМК		p
	абс.	%	абс.	%	
Дезагреганты (ацетилсалициловая кислота)	23	53,49	38	48,72	>0,05
Антикоагулянт (варфарин)	19	44,18	35	44,87	>0,05
Новые оральные антикоагулянты (дабигатран этексилат)	1	2,33	5	6,41	>0,05
Количество обследуемых	43	100	78	100	

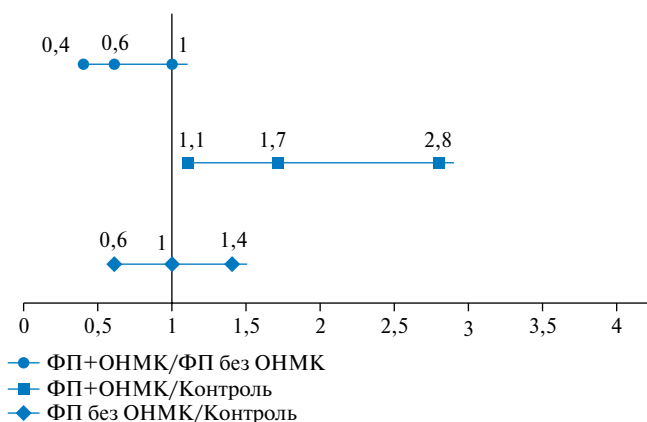


Рис. 1. Отношение шансов частоты встречаемости аллельных вариантов полиморфизма -455G>A гена *FGB*.

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

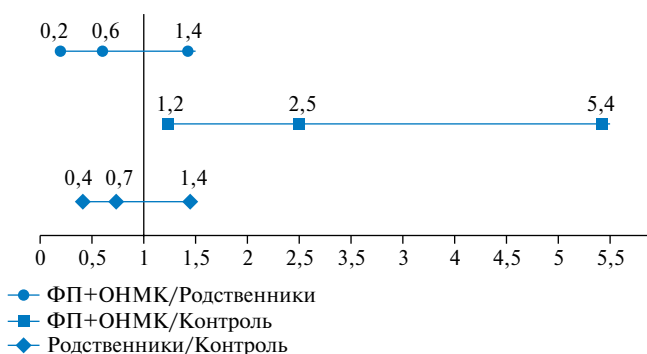


Рис. 2. Отношение шансов частоты генотипов полиморфизма 807C>T гена *GPIa* (CC относительно СТ+ТТ).

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

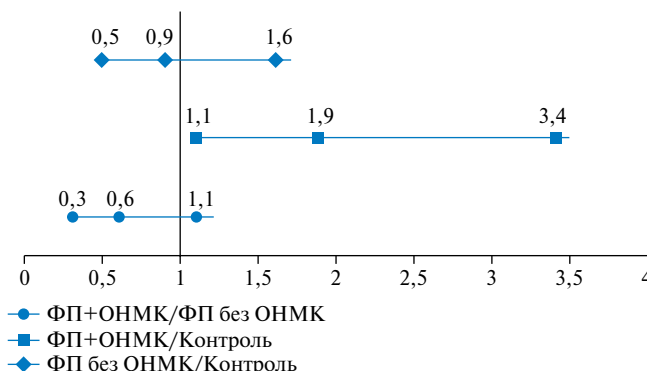


Рис. 3. Отношение шансов частоты встречаемости полиморфных аллельных вариантов -5T>C гена *GPIβa*.

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

Пациентам проведен определенный спектр клинико-инструментальных и лабораторных методов исследования: ЭКГ, ЭхоКГ, холтеровское ЭКГ-мониторирование, тест с физической нагрузкой, ЧПСПП, анализ крови на гормоны щитовидной железы. Для под-

тверждения ишемической природы ОНМК у обследуемых пробандов проведена компьютерная томография головного мозга.

У всех обследуемых проведено молекулярно-генетическое исследование, в частности анализ полиморфных аллельных вариантов: -455G>A гена β-цепи фибриногена (*FGB*), 807C>T гена гликопротеина интегрин α (*GPIa*), -5T>C гена α-цепи тромбоцитарного гликопротеина Iβ (*GPIβa*) и 10976G>A гена проконвертина (*FVII*).

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ “EXCEL”, “STATISTICA FOR WINDOWS 7.0” и “IBM SPSS 20”. При отсутствии нормального распределения описательная статистика представлена в виде медианы и перцентилей. Для оценки ассоциации между определенными генотипами и риском развития заболевания подсчитывали отношение шансов (ОШ — odds ratio) по стандартной формуле $ОШ = (a \times d) / (b \times c)$, где a — частота аллеля (генотипа) в выборке больных, b — частота аллеля (генотипа) в контрольной группе, c — сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных, d — сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке. ОШ указан с 95%-ым доверительным интервалом (Confidence interval CI).

Результаты

Согласно отношению шансов при наличии аллеля А полиморфизма -455G>A гена *FGB* риск развития ишемического инсульта у больных с ФП увеличивается в 1,7 раз в сравнении с теми пациентами, у которых данный аллель отсутствует (рис. 1).

Отношение шансов показало, что наличие генотипов с редким аллелем Т в гомозиготном и гетерозиготном состоянии полиморфизма 807C>T гена *GPIa* в 2,5 раза увеличивает риск развития ОНМК при ФП (рис. 2).

Отношение шансов показывает, что при наличии аллеля С полиморфизма -5T>C гена *GPIβa* риск развития ОНМК у больных с ФП увеличивается в 1,9 раза по сравнению с пациентами, у которых данный аллель отсутствует (рис. 3).

Согласно отношению шансов, наличие генотипов с редким аллелем С в гомозиготном и гетерозиготном состоянии полиморфизма -5T>C гена *GPIβa* увеличивают риск развития инсульта в 2,3 раза (рис. 4).

Отношение шансов показывает, что наличие аллеля А полиморфизма 10976G>A гена *FVII* снижает вероятность развития ОНМК в 2,6 раза (рис. 5).

Таким образом, настоящее исследование показало, что гомозиготный генотип АА по редкому аллелю полиморфизма 455G>A гена *FGB*, гетерозиготный генотип СТ и гомозиготный генотип ТТ по редкому аллелю полиморфизма 807C>T гена *GPIa*, гетерозиготный генотип ТС и гомозиготный генотип СС по редкому аллелю полиморфизма -5T>C гена *GPIβa* могут быть расценены как генетические предикторы развития ишемического инсульта у больных с ФП. В то же время

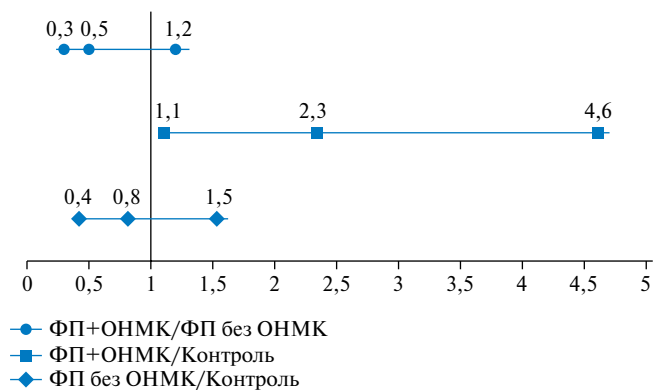


Рис. 4. Отношение шансов частоты встречаемости генотипов полиморфизма -5T>C гена *GPIIb/IIIa*.

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

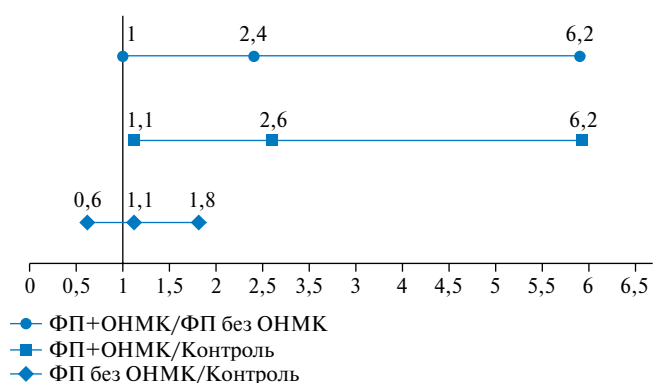


Рис. 5. Отношение шансов частоты встречаемости аллелей G/A полиморфизма 10976G>A гена *FVII*.

Сокращения: ФП — фибрилляция предсердий, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

аллель А полиморфизма 10976G>A гена *FVII* оказывает, по-видимому, протективный эффект в развитии ишемического инсульта у больных с ФП.

Заключительным этапом исследования явилась разработка нового информационного продукта “Клинико-генетического рискометра развития ишемического инсульта при ФП”, в который внесены полученные нами результаты. Аналитический программный комплекс является интерфейс-надстройкой над



Рис. 6. Клинико-генетический рискометр развития ишемического инсульта при ФП.

базой данных, который позволяет управлять структурированной информацией.

После авторизации на сайте <http://krasgmu.ru> нужно перейти по ссылке [http://krasgmu.ru/index.php?page\[self\]=risk](http://krasgmu.ru/index.php?page[self]=risk), [http://krasgmu.ru/index.php?page\[self\]=risk_add](http://krasgmu.ru/index.php?page[self]=risk_add), где вводятся данные о клинико-инструментальном и молекулярно-генетическом исследовании пациента (рис. 6).

Пошагово вносятся фамилия, имя и отчество пациента, наличие в анамнезе ФП, возраст, пол, другие показатели, представленные в шкале CHA₂DS₂-VASc и выявленные в ходе молекулярно-генетического исследования генотипы.

На последнем шаге производится сохранение внесенной информации в базу данных, и на экран выводится результат расчета генетического риска возникновения ишемического инсульта у обследуемого.

Используя показатели генетического исследования у больных с ФП, а также факторы риска по шкале CHA₂DS₂, можно рассчитать генетический риск развития ишемического инсульта при ФП посредством разработанного нами аналитического программного комплекса. Внедрение “Клинико-генетического рискометра” развития ишемического инсульта при ФП в центры здоровья и кардиологические отделения медицинских учреждений позволит улучшить прогнозирование и персонифицированную профилактику развития ишемического инсульта у больных с ФП.

Литература

1. Diagnostics and treatment of fibrillation of auricles. RCS, ARSA and ACVS recommendations. Russ J Cardiol. 2013; 4: Suppl. 3. Russian (Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации РКО, ВНОА и АССХ. Российский кардиологический журнал 2013, 4: приложение 3).
2. Tarzimanova AI, Fomina YG. Cardiovascular therapy and prevention. M.: Medicine; 2006. Russian (Тарзимова А.И., Фомина Ю.Г. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. М.: Медицина, 2006).
3. Roldan V, Marin F, Gonzalez-Conejero R, et al. Factor VII-323 decanucleotide D/I polymorphism in atrial fibrillation: Implications for the prothrombotic state and stroke risk. Ann. Med. 2008; 40, 7: 553-9.
4. Gretarsdottir S, Thorleifsson G, Manolescu A, et al. Risk variants for atrial fibrillation on chromosome 4q25 associate with ischemic stroke. Ann. Neurol. 2008; 64, 4: 402-9.
5. Wnuk M, Pera J, Jagiella J, et al. The rs2200733 variant on chromosome 4q25 is a risk factor for cardioembolic stroke related to atrial fibrillation in Polish patients. Neurol. Neurochir. Pol. 2011; 45, 2: 148-52.
6. Lemmens R, Buysschaert I, Geelen V, et al. The association of the 4q25 susceptibility variant for atrial fibrillation with stroke is limited to stroke of cardioembolic etiology. Stroke 2010; 41, 9: 1850-7.
7. Gudbjartsson DF, Holm H, Gretarsdottir S, et al. A sequence variant in ZFXH3 on 16q22 associates with atrial fibrillation and ischemic stroke. Nat. Genet. 2009; 41: 876-8.
8. Gilyarov M. Yu. Thromboembolic events in patients with atrial fibrillation: the factors influencing the risk of their development and the effectiveness of antithrombotic therapy: Dis. ... Dr. med. sciences: 14.01.05. M., 2011. 45 p. Russian (Гиляров М.Ю. Тромбоэмболические осложнения у больных с фибрилляцией предсердий: факторы, влияющие на риск их развития и эффективность анти тромботической терапии : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.05. Гиляров Михаил Юрьевич. М., 2011. 45 с.).

РОЛЬ ГЕНА *ROS1* В РАЗВИТИИ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Никулин Д. А., Никулина С. Ю., Чернова А. А., Шульман В. А., Третьякова С. С.

Цель. Изучить взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма G→C (rs619203) гена *ROS1* с развитием ишемического и геморрагического инсульта.

Материал и методы. Обследованы 152 пациента (92 мужчин, 60 женщин) с острым нарушением мозгового кровообращения (ОНМК), из них 124 пациента с ишемическим инсультом, 28 человек с геморрагическим инсультом и 475 здоровых лиц (320 мужчин, 155 женщин), составивших контрольную группу. Всем пациентам проведено стандартное неврологическое клинико-инструментальное обследование на базе СКЦ ФМБА (г. Красноярск) и молекулярно-генетическое исследование ДНК в НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН (г. Новосибирск). Статистическая обработка материала включала стандартный алгоритм статистических процедур.

Результаты. Полученные результаты показали статистически значимое преобладание распространенного генотипа GG гена *ROS1* среди пациентов с ОНМК по ишемическому типу по сравнению с контрольной группой.

Заключение. Гомозиготный генотип GG гена *ROS1* является фактором риска развития ишемического инсульта.

Ключевые слова: ген *ROS1*, ишемический инсульт, геморрагический инсульт.

ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ, Красноярск, Россия.

Никулин Д. А. — ассистент кафедры нервных болезней с курсом медицинской реабилитации, Никулина С. Ю.* — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней № 1, Чернова А. А. — д.м.н., доцент кафедры внутренних болезней № 1, Шульман В. А. — д.м.н., профессор кафедры внутренних болезней № 1, Третьякова С. С. — ординатор кафедры внутренних болезней № 1.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): nicoulina@mail.ru

АД — артериальное давление, КТ — компьютерная томография, ОИМ — острый инфаркт миокарда, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ТГ — триглицериды, УЗДС — ультразвуковое дуплексное сканирование, ХС — холестерин, ЭКГ — электрокардиография.

Рукопись получена 22.06.2015

Рецензия получена 29.06.2015

Принята к публикации 06.07.2015

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 46–49

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-46-49>

THE ROLE OF *ROS1* GENE IN DEVELOPMENT OF STROKE

Nikulina D. A., Nikulina S. Yu., Chernova A. A., Shulman V. A., Tretyakova S. S.

Aim. To study the relation of mononucleotide polymorphism G→C (rs619203) of *ROS1* gene with the risk of ischemic and hemorrhagic stroke development.

Material and methods. Totally 152 patients studied (92 males, 60 females) with acute brain circulation disorder (stroke), of those 124 with ischemic stroke, and 28 with hemorrhagic, and 475 healthy people (320 males, 155 females) of controls. All patients underwent standard neurological, clinical and instrumental investigation in SCC FMBA (Krasnoyarsk city) and molecular-genetic investigation of DNA in SRI of Therapy and Prevention Medicine of SD RAMS (Novosibirsk city). Statistics included standard algorithm of statistical procedures.

Results. The results of the study showed statistical predominance of prevalent genotype GG of *ROS1* gene in ischemic stroke patients, comparing to control group.

Conclusion. Homozygous genotype of GG gene of *ROS1* is a risk factor for ischemic stroke.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 46–49

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-46-49>

Key words: gene *ROS1*, ischemic stroke, hemorrhagic stroke.

SBEI HPE Krasnoyarsk State Medical University n.a. Voyno-Yasenetsky of the Healthcare Ministry, Krasnoyarsk, Russia.

Церебральный инсульт — это мультифакторное полигенное заболевание, предрасположенность к которому определяется аллельными вариантами генов, детерминирующими риск развития болезни при взаимодействии с определенными внешними факторами [1]. Результаты многочисленных научных исследований последних лет позволили выделить несколько групп генов-кандидатов, определяющих предрасположенность к ОНМК: гены системы гемостаза, гены ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, продукции оксида азота, гены гомоцистеинового и липидного обмена [2–9]. Тем не менее, поиск новых генетических маркеров указанного заболевания продолжается, и в этом аспекте представляет интерес ген рецептора тирозинкиназы (*ROS1*), расположенный на 6 хромосоме (6q22).

Ген *ROS1* (rs 619203) кодирует интегральный мембранный белок I типа. Белок ROS1 обладает каталитической активностью и является сильным стимулятором репарации ткани, т.е. стимулирует пролиферацию фибробластов и гладкомышечных клеток сосудистой стенки, а также синтез компонентов соединительной ткани — гликозаминогликанов и коллагена. Указанные процессы играют ключевую роль в патогенезе атеросклероза, а, значит, могут определять развитие острого нарушения мозгового кровообращения. Большинство проведенных исследований доказали взаимосвязь гена *ROS1* (ОИП-маркер rs619203) с повышенным риском развития ОИМ [10–12]. Однако опубликованные результаты работы японских ученых свидетельствуют о роли гена *ROS1* в развитии тромбозомболического инсульта. В указанном исследовании приняли участие 1362 пациентов

с инсультом (822 с тромбоэмболическим инсультом, 333 с внутримозговым кровоизлиянием и 207 с субарахноидальным кровоизлиянием) и 2070 лиц группы контроля. Было проанализировано 50 полиморфизмов в 38 кандидатных генов методами полимеразной цепной реакции и секвенирования. Установлено, что полиморфизм rs619203 (G→C (Cys2229Ser) гена *ROS1* ассоциирован с тромбоэмболическим инсультом [13].

Цель работы — изучить взаимосвязь однонуклеотидного полиморфизма G→C (rs619203) гена *ROS1* с развитием ишемического и геморрагического инсульта.

Материал и методы

В исследовании принимали участие 152 пациента с острым нарушением мозгового кровообращения и 475 здоровых лиц (группа контроля). Пациенты с ОНМК находились на лечении в неврологическом учреждении здравоохранения — Сибирском клиническом центре Федерального медико-биологического агентства г. Красноярск, где им было проведено стандартное клиничко-инструментальное обследование и забор крови для молекулярно-генетического исследования. Все обследуемые пациенты подписывали информированное согласие, утвержденное локальным этическим комитетом КрасГМУ. Основная группа была подразделена на 2 подгруппы в зависимости от механизма ОНМК: 1 подгруппа — больные с ишемическим инсультом, 2 подгруппа — больные с геморрагическим инсультом. В первой подгруппе было 124 человека, средний возраст — $58,41 \pm 11,39$ лет, из которых было 75 мужчин, средний возраст — $57 \pm 11,51$ лет и 49 женщин, средний возраст — $60,46 \pm 11,04$. Во второй подгруппе было 28 больных, средний возраст — $54,61 \pm 11,98$ лет, из которых было 17 мужчин, средний возраст — $52,35 \pm 12,17$ лет и 11 женщин, средний возраст — $58,09 \pm 11,36$ лет. Клиничко-инструментальное обследование основной группы включало оценку неврологических симптомов, исследование соматического статуса, контроль АД, запись ЭКГ, рентгенографию органов грудной клетки, общий и биохимический анализы крови, УЗИ сонных артерий, КТ головного мозга. Молекулярно-генетические исследования проводились на базе лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН (г. Новосибирск).

Группа контроля представлена популяционной выборкой здоровых лиц, жителей г. Новосибирск, обследованных в рамках программы ВОЗ “MONICA”. В контрольной группе было 475 человек, средний возраст — $57,41 \pm 7,23$ лет, из которых было 320 мужчин, средний возраст — $57,01 \pm 7,03$ лет и 155 женщин, средний возраст — $58,24 \pm 7,57$ лет. Обследование контрольной группы включало: измерение артериального давления, антропометрию (рост, вес), соци-

ально-демографические характеристики, опрос о курении, потреблении алкоголя (частота и типичная доза), уровне физической активности, оценку липидного профиля (общий холестерин, триглицериды и холестерин липопротеидов высокой плотности), опрос на выявление стенокардии напряжения (Rose), ЭКГ покоя в 12-ти отведениях с оценкой по Миннесотскому коду, атропиновый тест для исключения CCCY, молекулярно-генетическое исследование полиморфизма гена *ROS1*.

Статистическая обработка материала проводилась с использованием пакета прикладных программ “Excel”, “Statistica for Windows 7.0” и “SPSS 13” и стандартного алгоритма статистических процедур. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимался равным 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа CG полиморфизма среди больных инсультом и в контрольной группе представлены в таблице 1. Согласно результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди больных с ишемическими инсультами ($62,9 \pm 4,3\%$) была статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой ($49,3 \pm 2,3\%$, $p=0,009$). Таким образом, генотип GG является фактором риска развития ишемического инсульта, отношение шансов носителя генотипа GG в группе с ишемическим инсультом составляет 1,459 по сравнению с носителями двух других генотипов. Частоты генотипов CC были статистически незначимо меньше у больных с ишемическим инсультом ($7,3 \pm 2,3\%$), чем в группе контроля ($8,0 \pm 1,2\%$, $p=0,931$) (табл. 1).

Нами было проанализировано распределение генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди женщин, имеющих ишемический инсульт. По результатам исследования установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у данной группы женщин ($58,0\% \pm 7,0$) была выше по сравнению с контрольной группой ($47,7 \pm 4,0\%$), но результаты не были достоверными. Частота гетерозиготных носителей CG среди женщин с ишемическим инсультом ($30,0 \pm 5,4\%$) была несколько ниже в сравнении с группой контроля ($45,2 \pm 4,0\%$). Такая же тенденция наблюдалась и у носителей гомозиготного генотипа по редкому аллелю CC — в группе контроля ($7,1 \pm 2,1\%$) в сравнении с группой женщин с ишемическим инсультом ($12,0 \pm 3,8\%$), но результаты статистически не значимы.

В таблице 2 представлено распределение генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди мужчин с ишемическим инсультом и лиц контрольной

Таблица 1

**Распределение частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1*
среди больных с ишемическим инсультом и лиц контрольной группы**

Генотипы:	Ишемический инсульт (n=124)		Контроль (n=475)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	78	62,9±4,3	234	49,3±2,3	0,009
CG	37	29,8±4,1	203	43,7±2,3	0,012
CC	9	7,3±2,3	38	8,0±1,2	0,931
Аллели:					
Аллель G	193	77,8±4,2	671	70,6±1,5	0,030
Аллель C	55	22,2±4,2	279	29,4±1,5	0,030
ОШ; 95% ДИ	1,459; 1,048-2,031				
Генотип GG	78	62,9±4,3	234	49,3±2,3	0,009
Генотипы CG+CC	46	37,3±4,3	241	50,7±2,3	0,009
ОШ; 95% ДИ	1,746; 1,163-2,622				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля.

Таблица 2

**Распределение частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1*
среди мужчин с ишемическим инсультом и лиц контрольной группы**

Генотипы:	Мужчины с ишемическим инсультом (n=74)		Контроль (n=320)		p
	n	%±m	n	%±m	
GG	49	66,2±5,5	160	50,0±2,8	0,017
CG	22	29,7±4,1	133	41,6±2,8	0,081
CC	3	4,1±1,8	27	8,4±1,6	0,299*
Аллели:					
Аллель G	120	81,1±3,2	453	70,8±1,8	0,015
Аллель C	28	18,9±3,2	187	29,2±1,8	0,015
ОШ; 95% ДИ ОШ	1,769; 1,133-2,761				
Генотип GG	49	66,2±5,5	160	50,0±2,8	0,017
Генотипы CG+CC	25	33,8±5,5	160	50,0±2,8	0,017
ОШ; 95% ДИ	1,960; 1,155-3,327				

Примечание: p — уровень значимости при сравнении распределения генотипов с показателями группы контроля, * — уровень значимости, достигнутый точным критерием Фишера.

группы. Как видно из представленных данных, частота гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у мужчин с ишемическим инсультом составила 66,2±5,5%, гетерозиготного генотипа CG — 29,7±4,1 и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 4,1±1,8%. Таким образом, установлено, что частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю среди мужчин с ишемическими инсультами (66,2±5,5%) была статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (50,0±2,8%, p=0,017) (табл. 2).

При анализе распределения частот генотипов и аллелей rs619203 гена *ROS1* среди больных с геморрагическим инсультом и лиц контрольной группы были получены следующие результаты. Частота гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю у больных с геморрагическим инсультом составила 63,0±9,3%, гетерозиготного генотипа CG — 29,6±7,3% и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю — 7,4±4,2%. В контрольной группе 49,3±2,3% являлись

носителями гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю, 42,7±2,3% — носителями гетерозиготного генотипа CG и 8,0±1,2% — носителями гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю. Суммарное значение частот гетерозиготного генотипа CG и гомозиготного генотипа CC по редкому аллелю (носители других генотипов) встречалось у 37,0±9,3% больных с геморрагическим инсультом, в группе контроля — 50,7±2,3%, (ОШ=0,571; 95% ДИ 0,256-1,273). Таким образом, не установлено статистически значимого преобладания ни по одному из генотипов между больными с геморрагическим инсультом и лицами группы контроля.

В подгруппе женщин с геморрагическим инсультом частота носителей гомозиготного генотипа GG по распространенному аллелю составила 63,6±14,5%, в группе контроля — 47,7±4,0%. Частота гетерозиготных носителей CG среди женщин с геморрагическим инсультом (27,3±13,4%) была несколько ниже в сравнении с группой контроля (45,2±4,0%). Кроме того,

наблюдалось незначительное преобладание носителей гомозиготного генотипа *CC* по редкому аллелю ($9,1 \pm 8,7\%$) в сравнении с группой контроля ($7,1 \pm 2,1\%$). Однако результаты статистически не значимы. Частота носителей аллеля *G* среди женщин с геморрагическим инсультом составила $77,3 \pm 8,9\%$, у лиц контрольной группы — $70,3 \pm 2,6\%$. Частоты носителей аллеля *C* распределились следующим образом: женщины с геморрагическим инсультом — $22,7 \pm 8,9\%$ и контрольная группа — $29,7 \pm 2,6\%$. Таким образом, не выявлено статистически значимых отличий ни по одному генотипу между женщинами с геморрагическим инсультом и группой контроля.

В подгруппе мужчин с геморрагическим инсультом $62,5 \pm 12\%$, являлись носителями распространенного генотипа *GG*; $31,3 \pm 11,6\%$ — носителями гетерозиготного генотипа *CG* и $6,3 \pm 6,1\%$ — носителями редкого генотипа *CC*. В группе контроля соответственно частота генотипа *GG* составила $50,0 \pm 2,8\%$, генотипа *CG* — $41,6 \pm 2,8\%$, генотипа *CC* — $8,4 \pm 1,6\%$ ($p > 0,05$). Частота носителей аллеля *G* среди мужчин с геморрагическим инсультом составила $78,1 \pm 7,3\%$, у лиц контрольной группы — $70,8 \pm 1,8\%$. Частоты носителей аллеля *C* распределились следующим образом: мужчины с геморрагическим инсультом — $21,9 \pm 7,3\%$ и контрольная группа — $29,2 \pm 1,8\%$. Таким образом, не выявлено статистически значимых отличий ни по одному генотипу между мужчинами с геморрагическим инсультом и группой контроля.

Литература

1. Torshin IYu. Bioinformatics in the post-genomic era: physiology and medicine. N.Y. (USA): Nova Biomedical Book; 2007.
2. Ataman OV, Polonikov OV, Garbuzova VYu, et al. Analysis of the association of G-7A polymorphism of matrix Gla-protein (MGP) with ischemic atherothrombotic stroke in individuals with different its risk factors. Cytology and genetics 2013; 47(5): 33-40. Russian (О. В. Атаман, О. В. Полоников, В. Ю. Гарбузова и др. Анализ ассоциации G-7A полиморфизма гена матричного Gla-протеина (MGP) с ишемическим атеротромботическим инсультом у лиц с разными факторами его риска. Цитология и генетика 2013; 47(5): 33-40).
3. Ovsyannikova AN, Mashin VV, Belova LA, et al. Analysis of gene polymorphisms of the hemostatic system in the development of acute cerebral ischemia in young and middle-aged patients. Modern problems of science and education 2014; 5: 511. Russian (А. Н. Овсянникова, В. В. Машин, Л. А. Белова и др. Анализ полиморфизма генов системы гемостаза в развитии острой ишемии мозга у пациентов молодого и среднего возраста. Современ. проблемы науки и образования 2014; 5: 511).
4. Platunova IM, Nikulina SYu, Cherkashina II, et al. Association of RS699 polymorphism of the GENE of angiotensinogen (AGT) with hemorrhagic and ischemic stroke. Sib. med. review 2013; 3 (81): 26. Russian (И. М. Платунова, С. Ю. Никулина, И. И. Черкашина и др. Ассоциация полиморфизма RS699 гена ангиотензиногена (AGT) с геморрагическим и ишемическим инсультами. Сиб. мед. обозрение 2013; 3 (81): 26).
5. Shklovsky VM, Villanov VB, Remennik AY, et al. Interaction of polymorphisms ANKK1 RS1800497 and RS 2075654 DRD2 in patients with ischemic and hemorrhagic stroke. J. of rehabilitation medicine 2014; 3:117-8. Russian (В. М. Шкловский, В. Б. Вильянов, А. Ю. Ременник и др. Взаимодействие полиморфизмов RS1800497 ANKK1 и RS 2075654 DRD2 у больных с ишемическим и геморрагическим инсультом. Вестн. восстанов. медицины 2014; 3: 117-8).
6. Shishkova VN, Remennik AYu, Bugaeva ON, et al. Influence of different variants of the polymorphisms on the development of ischemic stroke in the Moscow population. Consilium Medicum 2014; 16(1): 30-2. Russian (В. Н. Шишкова, А. Ю. Ременник, О. Н. Бугаева и др. Влияние разных вариантов полиморфизмов генов на развитие ишемического инсульта в московской популяции. Consilium Medicum 2014; 16(1): 30-2).
7. Murzaliev AM, Yusupov FA, Abdykalykova NS, et al. Genetic polymorphism lipoproteincholesterol phospholipase A2 and development of strokes. Neurological journal 2012; 17(1): 50-4. Russian (А. М. Мурзалиев, Ф. А. Юсупов, Н. С. Абдыкалыкова и др. Генетический полиморфизм липопротеинассоциированной фосфолипазы A2 и развитие инсультов. Неврол. журн. 2012; 17(1): 50-4).
8. Shishkova V, Remennik A, Shklovsky V, et al. Development of the 1st of ischemic stroke and the prevalence of different variants of the gene polymorphism of apolipoprotein E in the Moscow population. Doctor 2013; 12: 81-2. Russian (В. Шишкова, А. Ременник, В. Шкловский и др. Развитие 1-го ишемического инсульта и распространенность различных вариантов полиморфизма гена аполипопротеина Е в московской популяции. Врач 2013; 12: 81-2).
9. Net JB, van der Oosterveer DM, Versmissen J, et al. Replication study of 10 genetic polymorphisms associated with coronary heart disease in a specific high-risk population with familial hypercholesterolemia. Eur. Heart. J. 2008; 29(18): 2195-201.
10. Chan K, Patel RS, Newcombe P, et al. Association of variation in the chromosome 9p21 locus with myocardial infarction versus chronic coronary artery disease. Circ. Cardiovasc. Genet. 2008; 1(2): 85-92.
11. Horne BD, Carlquist JF, Muhlestein JB, et al. Associations with myocardial infarction of six polymorphisms selected from a three-stage genome-wide association study. Am. Heart J. 2007; 154(5): 969-75.
12. Shiffman D, Ellis SG, Rowland CM, et al. Identification of four gene variants associated with myocardial infarction. Am. J. Hum. Genet. 2005; 77(4): 596-605.
13. Yamada Y, Metoki N, Yoshida H, et al. Genetic factors for ischemic and hemorrhagic stroke in Japanese individuals. Stroke 2008; 39(8): 2211-18.

Заключение

Однонуклеотидный полиморфизм $G \rightarrow C$ (rs619203) гена *ROS1* может использоваться в качестве генетического маркера острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу. Наличие у пациента гомозиготного генотипа *GG* по распространенному аллелю статистически значимо повышает риск развития ишемического инсульта.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ИНГИБИТОРА АКТИВАТОРА ПЛАЗМИНОГЕНА В ОЦЕНКЕ РИСКА РАЗВИТИЯ ТРОМБОЗОВ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Субботовская А. И., Цветовская Г. А., Слепухина А. А., Лифшиц Г. И.

Цель. Оценка вклада генетического полиморфизма rs1799889 гена *PAI-1* в развитие гипофибринолиза, с учетом изменения уровня белкового продукта гена у пациентов с тромбозами различной локализации.

Материал и методы. Исследовано 50 пациентов с тромбозами различной этиологии и локализации в анамнезе и 25 пациентов группы контроля — практически здоровых доноров, проживающих на территории г. Новосибирска и Новосибирской области. Всем пациентам проведено генотипирование по полиморфизму -6754G/5G гена *PAI-1* и измерена концентрация уровня ингибитора активатора плазминогена (PAI-1) в плазме крови.

Результаты. В группах пациентов изучена встречаемость полиморфных вариантов гена *PAI-1* -6754G/5G и определено содержание ингибитора активатора плазминогена (PAI-1), выявлено влияние генотипов на уровень продуцируемого белка. Выявление сочетания аллельного варианта 4G и высокого уровня белка PAI-1 высокоинформативно при оценке риска развития тромботических событий.

Заключение. Генотипы 4G/4G и 5G/4G гена *PAI-1* в сочетании с повышенным уровнем в крови PAI-1 являются диагностически значимыми маркерами нарушения функционального состояния эндотелия, состояния гипофибринолиза и, как следствие, являются предикторами процесса тромбообразования.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 50–53

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-50-53>

Ключевые слова: ингибитор активатора плазминогена, PAI-1, полиморфизм гена *PAI-1*, концентрация PAI-1 в крови, тромбоз.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия.

Субботовская А. И. — к.м.н., зав. лабораторией генной диагностики, Цветовская Г. А. — к.б.н., с.н.с. лаборатории генной диагностики, Слепухина А. А. — м.н.с. лаборатории персонализированной медицины, Лифшиц Г. И. — д.м.н., зав. лабораторией персонализированной медицины.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
creobrain@gmail.com

AUC (area under curve) — площадь под кривой, PAI-1 — ингибитор активатора плазминогена 1, ИИ — ишемический инсульт, ТГВ — тромбоз глубоких вен, ТЭЛА — тромбоэмболия легочной артерии.

Рукопись получена 08.06.2015

Рецензия получена 10.06.2015

Принята к публикации 17.06.2015

PLASMINOGEN ACTIVATOR INHIBITOR GENE POLYMORPHISM IN EVALUATION OF THE VARIOUS LOCALIZATION THROMBOSIS RISKS (PILOT STUDY)

Subbotovskaya A. I., Tsvetovskaya G. A., Slepukhina A. A., Lifshitz G. I.

Aim. Assessment of the impact of genetic polymorphism of rs1799889 gene of *PAI-1* in hypofibrinolytic state development, with the inclusion of the protein product amount shifts, in patients with thrombosis of different localizations.

Material and methods. Totally 50 patients studied with thrombosis of different localization and etiology in anamnesis, and 25 controls — almost healthy donors, living on the territory of Novosibirsk city and the region. All patients underwent genotyping of polymorphism -6754G/5G of the *PAI-1* gene, and concentration of plasminogen activator inhibitor (PAI1) in blood plasma measurement.

Results. In the groups of patients the prevalence studied of the gene *PAI-1* variants -6754G/5G, and the level of PAI1 measured, the influence of genotypes on the level of protein assessed. Assessment of allele variant 4G and high level of PAI1 is highly informative for the estimation of thrombosis risk.

Conclusion. Genotypes 4G/4G and 5G/4G of gene *PAI1*, together with increased level of PAI1 are diagnostically important markers of endothelium dysfunction, hypo fibrinolysis condition and hence are predictors of clotting.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 50–53

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-50-53>

Key words: plasminogen activator inhibitor, PAI1, *PAI-1* gene polymorphism, PAI blood concentration, thrombosis.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SD RAS, Novosibirsk, Russia.

Тромбозы различной локализации, венозные тромботические осложнения, объединяющие тромбоз глубоких вен (ТГВ), тромбоэмболию легочной артерии (ТЭЛА), ишемический инсульт (ИИ) представляют огромную проблему современной медицины, являясь одной из основных причин инвалидизации и смертности трудоспособного населения [1]. Венозные тромбозы — частое осложнение хирургических вмешательств, травм, беременности, а также многих острых и хронических заболеваний (инфаркт миокарда, ишемический инсульт, злокачественные образования, инфекции и т.д.) [2–4]. Эмболический механизм, по данным разных

авторов, является причиной развития ишемических нарушений мозгового кровообращения в 50–90% случаев [5, 6].

Особого внимания ученых заслуживают наследственные формы недостаточности ингибиторов свертывания или аномалии коагуляционных протеинов, обуславливающих состояние предтромбоза и предрасположенности к тромбозу, поскольку встречаются у лиц молодого возраста и зачастую протекают без клинических проявлений. При этом особое внимание уделяется нарушениям функциональных свойств сосудистой стенки и снижению фибринолитической активности крови [4, 6–8].

В то же время литературные данные о роли генов-кандидатов тромбофилий в патогенезе тромбоэмболических осложнений остаются крайне противоречивыми.

В работах, ранее опубликованных нами, показано, что при решении вопроса о наличии генетически обусловленной тромбофилии, необходимо обязательное тестирование полиморфизмов генов всех звеньев системы гемостаза [9, 10].

В задачи настоящей работы входило исследование роли генетической составляющей в оценке гипофибринолиза — одного из значимых факторов риска развития тромботических осложнений различной локализации.

С этой целью выполнено генотипирование по генному полиморфизму *PAI-1* -675 5G/4G образцов венозной крови у жителей Западно-Сибирского региона (г. Новосибирска и Новосибирской области) — практически здоровых и с верифицированным диагнозом тромбозов различной локализации — и измерение содержания белкового продукта гена *PAI-1*, ингибитора активатора плазминогена. Проведен анализ ассоциации показателей и оценка риска развития венозных и артериальных тромбозов по содержанию *PAI-1* в крови.

Материал и методы

В исследовании приняли участие 75 пациентов в возрасте от 16 до 65 лет, из них 16 мужчин и 59 женщин, проживающих на территории г. Новосибирска и Новосибирской области. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Получено письменное информированное согласие каждого участника исследования. В зависимости от предшествующего исследованию анамнеза пациенты были разделены на 2 группы: группа I — 25 практически здоровых доноров, не отметивших клинических проявлений тромбозов; группа II — 50 пациентов с тромбозами различной этиологии и локализации в анамнезе. Анализируемые группы были сопоставимы по полу и возрасту (табл. 1).

Под наблюдением находились 13 больных с ТЭЛА, у 5-ти пациентов отмечены неоднократные эпизоды ТЭЛА, у 37 пациентов тромботические осложнения проявились в виде ТГВ.

Всем пациентам, принявшим участие в исследовании, было проведено генотипирование полиморфных вариантов гена *PAI-1* методом Real-time ПЦР с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, специфичных полиморфному участку ДНК, тестирование проводилось с использованием амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США). Определение содержания белка *PAI-1* проводилось в цитрат — стабилизированной плазме венозной крови методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием ком-

Таблица 1

Поло-возрастная характеристика пациентов, включённых в исследование

	Группа I, n=25	Группа II, n=50	
Женщины, n (%)	21 (84,0)	38 (76,0)	$\chi^2 = 0,704$
Мужчины, n (%)	4 (16,0)	12 (24,0)	$p=0,553$
Возраст, г (X±SD)	37,4±10,9	39,2±12,2	$p=0,471$ по критерию Манна - Уитни

Таблица 2

Частота встречаемости полиморфных вариантов гена *PAI-1* в исследуемых группах

Генотип	Группа I, n (%)	Группа II, n (%)	χ^2	p
5G5G	14 (58,3)	7 (14,3)	20,83	$p<0,0001$
5G4G	9 (37,5)	17 (34,7)		
4G4G	1 (4,2)	25 (51,0)		

мерческой тест-системы “Technoclone *PAI-1* Antigen ELISA” (Technoclone, Германия).

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ SPSS v.20.0. Для данных, распределенных по нормальному закону, вычисляли средне-выборочные характеристики: $\bar{x}$ — среднее арифметическое, s — среднее квадратичное отклонение, m — ошибку среднего; при непараметрическом распределении — M — медиану и 25-й и 75-й квартили [Q25:Q75]. Для оценки достоверности различий 2 выборок использовали критерии Манна-Уитни для независимых выборок. Для оценки достоверности различий 3 и более выборок использовали критерии Краскела-Уоллиса для независимых выборок. Значимость различий качественных данных оценивали с использованием критерия χ^2 и точного теста Фишера (при частоте встречаемости исследуемого признака менее 5). Различия считались значимыми при уровне значимости $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Известно, что инсерционно-делеционный полиморфизм 5G/4G в промоторном регионе гена *PAI-1* находится в гомозиготном состоянии примерно у 25% общей популяции. При сравнении групп доля гомозиготного варианта 4G/4G в группе пациентов, имеющих тромбоз в анамнезе, составила 51,0%, что статистически значимо выше встречаемости данного генотипа в группе здоровых доноров 4,2% ($\chi^2=20,83$, $p<0,0001$), (табл. 2).

Также нами были использованы данные, характеризующие распределение генотипов *PAI-1* -675 4G/5G в популяции Западно-Сибирского региона (6339 чел., f.var. 5G=0,45), полученные в нашем институте в течение последних лет и подходящих в качестве популяционного контроля. Распределение частот не откло-

Таблица 3

Уровень PAI в зависимости от полиморфного варианта гена PAI-1

Генотип	PAI-1, нг/мл М [Q25:Q75]	p по критерию Манна-Уитни	p по критерию Краскела-Уоллиса
5G5G, (1)	26,14 [16,98: 45,00]	$p_{12}=0,037$	$p<0,0001$
5G4G, (2)	45,36 [21,08: 55,44]	$p_{23}=0,059$	
4G4G, (3)	53,47 [43,11: 66,05]	$p_{13}<0,0001$	

Таблица 4

Характеристики ROC-кривой. Прогностическая роль уровня белка PAI-1 в плазме у пациентов с тромботическими эпизодами в анамнезе

Показатель	Точка отсечения	AUC	p	Чувствительность, %	Специфичность, %
PAI, нг/мл	37,1	0,959	$p<0,0001$	93,2	99,2

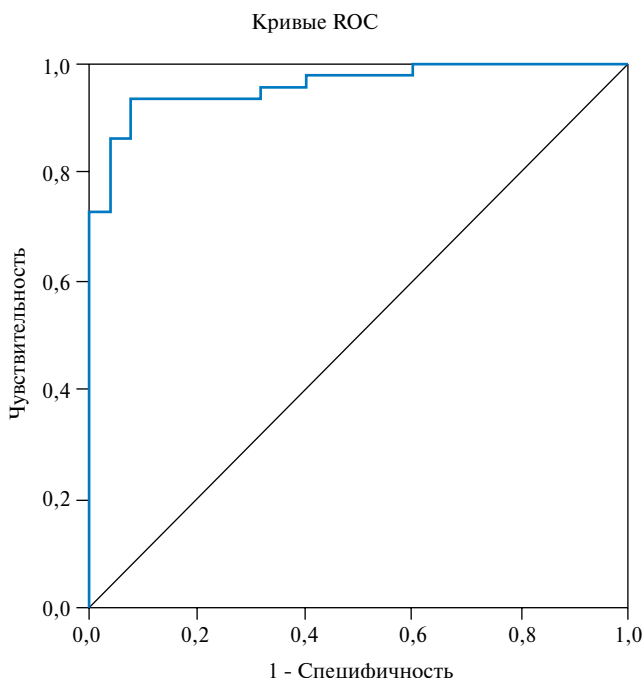


Рис. 1. ROC-анализ уровня PAI-1 у пациентов с тромбозом в анамнезе.

няется от равновесия Харди-Вайнберга. При сравнении группы II с популяционным контролем получаем значимые отличия встречаемости аллельных вариантов 4G и 5G в группах, встречаемость варианта 4G у пациентов с тромбозами выше (ОШ=1,764, ДИ=1,151-2,705, $\chi^2=6,97$, $p=0,00830$), как и генотипа 4G/4G, в сравнении с генотипом 5G/5G: ОШ=2,411, ДИ=1,040-5,591; $\chi^2=4,48$, $p=0,03430$.

Таким образом, наличие у пациента аллельного варианта 4G гена PAI-1, генотипа 4G/4G может расцениваться как фактор риска развития тромбоза у пациентов — жителей Сибирского региона. Обращает на себя внимание мета-анализ

объемом 9200 человек, где исследователи изучают роль полиморфизма -675 4G/5G гена PAI-1 на различных моделях сравнения, считая вариантом риска тромбоэмболизма указанные выше аллель и генотип с ОШ более 2 по нескольким признакам выделения групп [11].

Аллельный вариант 4G, который сопровождается повышенной экспрессией гена и приводит к повышению в крови концентрации белка PAI-1 [12], зарегистрирован нами в 85,7% случаев обследованных пациентов с тромбозами.

PAI-1 относится к семейству сериновых протеаз и играет ключевую роль в системе фибринолиза, ингибируя генерацию плазмина. Основной функцией его является расщепление фибринового сгустка, тем самым замедляя процессы фибринолиза и потенциально способствуя более длительной персистенции тромба. В проведенном исследовании получено, что у пациентов с тромбозом в анамнезе уровень PAI-1 в плазме в 2,4 раза выше (50,34 vs 21,24), чем в группе условно-здоровых доноров ($p<0,0001$, по критерию Манна Уитни).

Исследуемый полиморфизм гена PAI-1 расположен в промоторной области и, соответственно, оказывает влияние на уровень белкового продукта в крови. Было показано, что промоторный вариант 5G в отличие от варианта 4G содержит дополнительный сайт связывания супрессора транскрипции, тем самым ингибируя синтез белкового продукта [13]. Анализ содержания белка PAI-1 в плазме венозной крови в зависимости от полиморфного варианта гена PAI-1 выявил статистически значимо более высокий уровень белкового продукта у носителей аллеля 4G (табл. 3).

Возможность использования содержания белка PAI-1 в плазме венозной крови для оценки риска развития тромбоза была проверена с использованием ROC-анализа (рис. 1). Площадь под кривой (AUC)

для уровня белка PAI-1 составила 0,959, что позволяет расценивать исследуемый показатель в качестве классификатора риска развития тромботических осложнений (табл. 4).

При этом значение концентрации белка PAI-1 более 37,1 нг/мл значительно повышает риск развития тромбоза с чувствительностью 93,2% и специфичностью 99,2% (табл. 4).

Заключение

Молекулярно-генетическое тестирование генного полиморфизма — 6755G/4G *PAI-1* вносит весомый вклад при решении вопроса о наличии риска гипофибринолиза, как одного из компонентов состояния тромботической готовности. Пациенты, у которых наблюдается сочетание минорного аллеля с другими тромбогенными факторами, должны быть включены в группы риска развития тромботических осложне-

ний, даже если на момент обследования данных за наличие тромбинемии у них не выявляется.

Генотип 4G/4G достоверно приводит к повышению уровня PAI-1 в крови. В то же время сочетание аллельного варианта 4G гена *PAI-1* и повышение концентрации в плазме белка PAI-1 более 37,1 нг/мл является диагностически значимым маркером состояния гипофибринолиза и высокого риска тромбообразования, что впервые показано нами на пациентах, перенесших тромбозы, — жителях г. Новосибирска и области [14].

Благодарности. Работа выполнена в рамках Госконтракта “Разработка портативного устройства для мультипараметрического контроля функциональных свойств систем свертывания крови человека”, соглашение № 14.607.21.0066, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60714X0025.

Литература

1. Søgaard KK, Schmidt M, Pedersen L, et al. 30-year mortality after venous thromboembolism: a population-based cohort study. *Circulation*. 2014; 130(10): 829-36.
2. Vorob'yova NM, Panchenko EP, Andriyashkin VV, et al. Factors responsible for the effectiveness of anticoagulation therapy in patients with venous thromboembolism. *Flebologiya* 2010; 4(3): 13-20. Russian (Н.М. Воробьева, Е.П. Панченко, В.В. Андрияшкин и др. Факторы, определяющие эффективность антикоагулянтной терапии у больных с венозными тромбозомболическими осложнениями. *Флебология*. 2010; 4 (3): 13-20).
3. Buesing KL, Mullapudi B, Flowers KA. Deep venous thrombosis and venousthromboembolism prophylaxis. *Surg Clin North Am*. 2015 Apr; 95(2): 285-300.
4. Makatsaria AD, Saidov AD, Zavolovskaya MU, et al. The role of genetic thrombophilia in the structure of thrombotic-related complications in gynecological patients high-risk perioperative. *Med. Science*. 2008; 1: 7-10. Russian (Макацария А.Д., Саидова А.Д., Заволовская М.Ю. и др. Роль генетической тромбофилии в структуре тромботических осложнений у гинекологических больных высокой группы риска в периоперационном периоде. *Мед. Науки*. 2008; 1: 7-10).
5. Ovcharenko SI, Sleep EA, Okisheva EA, et al. Thrombophilia as a cause of pulmonary artery thrombosis. *Trudniy pacient*. 2008; 2-3 URL: <http://t-patient.ru/articles/6288/> Russian (Овчаренко С.И., Сон Е.А., Окишева Е.А. и др. Тромбофилия как причина тромбоза лёгочных артерий. *Трудный пациент*. 2008; 2-3. URL: <http://t-patient.ru/articles/6288/>).
6. Suslin ZA, Yerofeyev AV, Tanashyan MM, et al. Ischemic strokes: hemostasis and factors of cerebral embolism. *Stroke: Appendix to the Neuroscience and Behavioral Physiology*, 2006; 16: 3-9. Russian (Суслина З.А., Ерофеева А.В., Танащян М.М. и др. Ишемические инсульты: состояние гемостаза и факторы церебральной эмболии. *Инсульт: Приложение к Журналу неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2006; 16: 3-9).
7. Rabinovich A, Cohen JM, Kahn SR. The predictive value of markers of fibrinolysis and endothelial dysfunction in the post thrombotic syndrome. A systematic review. *Thromb Haemost*. 2014; 111(6): 1031-40.
8. Abdullah WZ, Idris SZ, Bashkar S, et al. Role of fibrinolytic markers in acute stroke. *Singapore Med J*. 2009; 50(6): 604-9.
9. Tsvetovskaya GA, Chikova ED, Lifshits GI, et al. Genetic risk factors of thrombophilia for women of childbearing age in west-siberian region. *Fundamental research*. 2010; 10: 72-9. Russian (Цветовская Г.А., Чикова Е.Д., Лифшиц Г.И. и др. Генетические факторы риска тромбофилии у женщин репродуктивного возраста в западно-сибирском регионе. *Фундаментальные исследования*. 2010; 10: 72-9).
10. Tsvetovskaya GA, Chikova ED, Koh NV, et al. The value of molecular-genetic methods of diagnostics in the prevention of ischemic stroke. *Fundamental research*. 2014; 7(5): 1039-43. Russian (Цветовская Г.А., Чикова Е.Д., Кох Н.В. и др. Значение молекулярно-генетических методов диагностики в профилактике ишемических инсультов. *Фундаментальные исследования*. 2014; 7(5): 1039-43).
11. Wang J, Wang C, Chen N, et al. Association between the plasminogen activator inhibitor-1 4G/5G polymorphism and risk of venous thromboembolism: a meta-analysis. *Thromb Res*. 2014; 134(6): 1241-8.
12. Huang J, Sabater-Lleal M, Asselbergs FW, et al. Genome-wide association study for circulating levels of PAI-1 provides novel insights into its regulation. *Blood*. 2012; 120(24): 4873-81.
13. Burzotta F, Di Castelnuovo A, Amore C, et al. 4G/5G promoter PAI-1 gene polymorphism is associated with plasminic PAI-1 activity in Italians: a model of gene-environment interaction. *Thromb Haemost*. 1998; 79(2): 354-8.
14. Novikova YaV, Shevela AI, Lifshits GI. Polymorphic variant *CYP2C9* and *VKORC1* in patients with pathology of the venous system of legs. *Outpatient surgery*. 2007; 4: 153-4. Russian (Новикова Я.В., Шевела А.И., Лифшиц Г.И. Полиморфные варианты *CYP2C9* и *VKORC1* у пациентов с патологией венозной системы нижних конечностей. *Амбулаторная хирургия*, 2007; 4: 153-4).

РОЛЬ С-РЕАКТИВНОГО БЕЛКА И ПОЛИМОРФИЗМОВ ЕГО ГЕНА-КАНДИДАТА В РАЗВИТИИ ГОСПИТАЛЬНЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ ПОСЛЕ ПРОВЕДЕНИЯ КОРОНАРНОГО ШУНТИРОВАНИЯ

Барбараш О.Л., Байракова Ю.В., Понасенко А.В., Иванов С.В., Казачек Я.В., Хуторная М.В., Баздырев Е.Д., Груздева О.В., Кузьмина А.А., Барбараш Л.С.

Цель. Оценить прогностическое значение предоперационной концентрации СРБ и полиморфных сайтов гена *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205) для развития ранних сердечно-сосудистых осложнений после прямой реваскуляризации миокарда.

Материал и методы. Обследовано 249 пациентов с ИБС, подвергшихся плановому коронарному шунтированию (КШ). Концентрацию СРБ определяли с помощью высокочувствительного иммунотурбидиметрического метода, генотипирование осуществляли в 96-луночном формате методом TaqMan до проведения КШ.

Результаты. Риск развития периоперационных ССО повышался при наличии таких факторов, как возраст пациента 65 лет и старше ($p=0,037$), предоперационная концентрация СРБ более 5 мг/мл ($p=0,026$), выявление гомозиготного генотипа GG в промоторном регионе гена СРБ (rs3093077) ($\chi^2=9,08$, $p=0,0011$) при прочих равных условиях (наличии или отсутствии фибрилляции предсердий (ФП), сахарного диабета (СД) 2 типа, длительности артериальной гипертензии (АГ)). У пациентов старше 65 лет риск ССО возрастал почти в три раза: ОШ=2,8 (95% ДИ=1,07-7,34), а при определении сывороточных концентраций СРБ выше 5 мг/мл — в два с половиной раза: ОШ=2,5 (95% ДИ=1,11-5,77). Носительство гомозиготного генотипа GG rs3093077 *CRP* увеличивает риск развития ССО в госпитальном периоде КШ более чем в 2 раза.

Заключение. Для прогнозирования ССО при выполнении КШ необходимо оценивать не только клинично-анамнестическую характеристику пациента, но и уровень предоперационного СРБ, а также генетические полиморфизмы его генов.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 54–60

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-54-60>

Ключевые слова: коронарное шунтирование, сердечно-сосудистые осложнения, С-реактивный белок, полиморфные сайты гена *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205).

ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово, Россия.

Барбараш О.Л.* — д.м.н., профессор, директор, Байракова Ю.В. — к.м.н., с.н.с. лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза, Понасенко А.В. — к.м.н., и.о. зав. лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, Иванов С.В. — д.м.н., зав. лабораторией реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза, Казачек Я.В. — в.н.с. лаборатории реконструктивной хирургии мультифокального атеросклероза отдела мультифокального атеросклероза, Хуторная М.В. — м.н.с. лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии, Баздырев Е.Д. — к.м.н., с.н.с. лаборатории нейрососудистой патологии отдела мультифокального атеросклероза, Груздева О.В. — к.м.н., зав. лабораторией исследований гомеостаза отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, Кузьмина А.А. — м.н.с. лаборатории исследований гомеостаза отдела диагностики сердечно-сосудистых заболеваний, Барбараш Л.С. — д.м.н., профессор, г.н.с., академик РАН.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): olb61@mail.ru

АГ — артериальная гипертензия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИК — искусственное кровообращение, ИЛ — интерлейкины, КШ — коронарное шунтирование, ОНП — однонуклеотидный полиморфизм, СД — сахарный диабет, СРБ — С-реактивный белок, ССО — сердечно-сосудистые осложнения, ФП — фибрилляция предсердий, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Рукопись получена 11.06.2015

Рецензия получена 18.06.2015

Принята к публикации 25.06.2015

THE ROLE OF C-REACTIVE PROTEIN AND POLYMORPHISMS OF ITS CANDIDATE GENES IN THE DEVELOPMENT OF IN-HOSPITAL CARDIOVASCULAR COMPLICATIONS IN PATIENTS AFTER CORONARY BYPASS SURGERY

Barbarash O.L., Bayrakova Yu. V., Ponasenko A.V., Ivanov S.V., Kazachek Ya. V., Khutornaya M.V., Bazdyrev E.D., Gruzdeva O.V., Kuzmina A.A., Barbarash L.S.

Aim. To assess the prognostic significance of preoperation C-r.p. concentration and polymorphic site of the gene *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205) for the development of early cardiovascular complications after direct myocardial revascularization.

Material and methods. Totally 249 patients studied with CHD, underwent coronary bypass surgery (CBG). Concentration of C-r.p. was assessed with high-sensitive immune-turbidimetric method, genotyping was done by 96-hole format via TaqMan method, before CBG.

Results. The risk of perioperational CVC increased in presence of such factors as age more than 65 y.o. ($p=0,037$), preoperational C-r.p. concentration higher than 5 mg/mL ($p=0,026$), homozygous genotype GG in promoter region of CRP gene (rs3093077) ($\chi^2=9,08$, $p=0,0011$) within all other conditions different (presence or absence of atrial fibrillation (AF), diabetes mellitus (DM) 2 type, duration of hypertension anamnesis (AH)). In patients older than 65 y.o. the CVC risk increased almost 3 times: OR=2,8 (95% CI=1,07-7,34), and in serum concentrations of C-r.p.

more than 5 mg/mL — two and a half times: OR=2,5 (95% CI=1,11-5,77). The carriage of genotype GG rs3093077 *CRP* increases the risk of CVC in in-hospital period of CBG for more than 2 times.

Conclusion. For prediction of CVC in CBG it is necessary to evaluate not only clinical and anamnestic characteristics of a patient, but also the level of preoperation CRP, and genetic polymorphisms of their genes.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 54–60

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-54-60>

Key words: coronary bypass, cardiovascular complications, C-reactive protein, polymorphic sites of the gene *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205).

FSBSI Scientific-Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo, Russia.

Хирургическая реваскуляризация миокарда является эффективным методом лечения ишемической болезни сердца (ИБС), улучшающим качество жизни, а для определенной категории пациентов — прогноз заболевания [1]. Однако и в настоящее время проблема послеоперационных осложнений в госпитальном периоде после кардиохирургического вмешательства является актуальной [2].

В настоящее время хорошо изучены традиционные факторы риска и предикторы развития сердечно-сосудистых осложнений (ССО), возникающих после коронарного шунтирования (КШ). Однако существуют и другие, менее изученные маркеры риска, способные повышать вероятность возникновения послеоперационных осложнений, — в частности, факторы воспаления. Получено множество данных, подтверждающих важную роль высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) в патогенезе атеросклероза и ССО [3].

Данные о влиянии медиаторов воспаления на развитие и течение атеросклеротического процесса привлекли интерес ученых к изучению генов, кодирующих структуру этих биологически активных белков [4]. В настоящее время сделать однозначные выводы о значении вклада в развитие и прогрессирование атеросклероза, в течение послеоперационного периода КШ тех или иных генов-кандидатов весьма проблематично, что позволяет считать дальнейшее их исследование особенно актуальным.

Цель исследования — оценить прогностическое значение предоперационной концентрации СРБ и полиморфных сайтов гена *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205) для развития ранних ССО после прямой реваскуляризации миокарда у пациентов различных возрастных групп.

Материал и методы

Обследовано 249 пациентов с ИБС в возрасте от 36 до 76 лет, 72 (28,92%) женщины и 177 (71,08%) мужчин, подвергшихся плановому КШ. Пациенты внесены в регистр “Электронный архив пациентов, перенёсших операцию КШ (свидетельство о Гос. регистрации базы данных №2012620868 от 27.08.2012г).

Включение больного в исследование осуществлялось после получения информированного согласия, в том числе — на проведение генетического тестирования. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом НИИ.

Критериями включения являлись: наличие ИБС, хроническая сердечная недостаточность (ХСН) не более IIА стадии по Василенко-Стражеско, функциональный класс ХСН — от I до III. Критериями исключения служили: несердечно-сосудистые послеоперационные осложнения, тяжелые сопутствующие заболевания, аутоиммунные болезни, клапанные пороки сердца,

диагностированные опухоли, психические заболевания, отказ от генетического тестирования.

Исследуемую когорту разделили на две группы в зависимости от наличия ССО: (60 человек — 24,10%) в раннем послеоперационном периоде и неосложненных пациентов (189 человек — 75,90%). В структуру ССО вошли: пароксизмы фибрилляции предсердий (ФП) и трепетания предсердий — у 43 (69,35%) человек; у 5 (8,06%) пациентов — нарушения сердечного ритма в виде клинически значимых экстрасистол, у 5 (8,06%) пациентов — гидроперикард, инфаркт миокарда в первые двое суток после КШ перенесли 2 (3,23%) пациента, в одном случае — Q-образующий, закончившийся летальным исходом. У четверых (6,45%) пациентов развилась транзиторная ишемическая атака, у 2 (3,23%) — острое нарушение мозгового кровообращения, у одного (1,62%) — сердечная недостаточность, потребовавшая инотропной поддержки.

Медикаментозное лечение в до- и послеоперационном периодах соответствовало современным рекомендациям и включало короткодействующие нитраты, статины, бета-блокаторы, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, антитромбоцитарные средства, по показаниям — мочегонные, антиаритмические препараты, антагонисты ионов кальция.

Выделение геномной ДНК производилось методом фенол-хлороформной экстракции с протеиназой K из цельной венозной крови. Генотипирование осуществляли в 96-луночном формате методом TaqMan в формате учета прохождения полимеразной цепной реакции в реальном времени (Pт-ПЦР) по протоколу производителя на анализаторе (Applied Biosystems, США). Для контроля качества 10% случайно выбранных образцов были подвергнуты повторному генотипированию.

В исследование включены полиморфные сайты гена *CRP* (C-reactive protein — *CRP*: rs3093077, rs1130864, rs1205) с заменой одного нуклеотида, зарегистрированные в международной базе (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), частотой редкого аллеля более 5% для европеоидных популяций, имеющие последствия на молекулярном уровне.

Концентрацию СРБ определяли с помощью высокочувствительного иммунотурбодиметрического метода с использованием стандартных тест-систем фирмы Thermo Fisher Scientific (Финляндия) на автоматическом биохимическом анализаторе Konelab 30i (Финляндия) до проведения КШ.

Статистическая обработка осуществлялась с помощью программы Statistica 6,0. (StatSoft Inc., США). Выявили, что не во всех случаях данные имели признаки Гаусова распределения (критерий Шапиро-Уилка). Использовали методы непараметрической статистики.

Таблица 1

Клинико-anamnestическая характеристика пациентов (n=249)

Показатели	Группы		P
	Без осложнений n=189	ССО n=60	
Мужчины, n (%)	140 (74,07)	37 (61,66)	0,09
Возраст, лет	57 [53; 62]	61 [56; 66]	0,001
ИМТ, кг/м ²	28,34 [24,57; 31,55]	29,74 [25,73; 32,41]	0,19
АГ в анамнезе, n (%)	164 (86,77)	55 (91,67)	0,43
Длительность АГ, лет	5 [3; 15]	10 [5; 20]	0,013
Гиперхолестеринемия, n (%)	95 (50,27)	30 (50,00)	0,13
СД 2 типа в анамнезе, n (%)	15 (7,94)	16 (26,67)	0,0001
Курение, n (%)	72 (38,01)	17 (28,33)	0,95
ИМ в анамнезе, n (%)	118 (62,43)	33 (55,00)	0,36
ПИКС, n (%)	118 (62,43)	32 (53,33)	0,49
Наличие МФА, n (%)	31 (16,4)	8 (13,3)	0,98
ФП, n (%)	12 (6,35)	13 (21,66)	0,0001
ФК стенокардии	2 [2; 3]	3 [2; 3]	0,23
ФК ХСН	2 [2; 3]	2 [2; 3]	0,18
Прием статинов более чем 3 месяца до операции, n (%)	83 (43,92)	25 (41,67)	0,29
ОНМК/ТИА в анамнезе, n (%)	17 (8,99)	9 (15,00)	0,74
КЭЭ в анамнезе, n (%)	6 (3,18)	3 (5,00)	0,52
EuroSCORE, баллы	2 [2; 4]	3 [2; 4]	0,08
EuroSCORE, %	1,57 [1,22; 2,65]	2,3 [1,39; 3,05]	0,025
Операция в условиях ИК, n (%)	169 (89,42)	56 (93,33)	0,52
Длительность ИК, мин.	88,00 [70,50; 91,00]	100,00 [86,00; 116,00]	0,003
Длительность пережатия аорты, мин.	55,50 [45,00; 71,00]	66,00 [55,00; 78,00]	0,005
Количество кардиоплегий	3 [2; 3]	3 [2; 4]	0,03
Количество наложенных шунтов	2 [2; 3]	3 [2; 3]	0,025
Количество выполненных анастомозов	2 [2; 3]	3 [2; 3]	0,01
Полная реваскуляризация миокарда, n (%)	163 (86,24)	57 (95,00)	0,11
Общая длительность операции, n (%)	4,00 [3,30; 4,40]	4,05 [3,40; 5,00]	0,09
Кровопотеря во время операции, мл	500,00 [500,0; 600,0]	500,00 [500,0; 600,0]	0,36
Концентрации СРБ до операции, мг/мл	2,6 [1,14; 5,83]	4,70 [3,01; 7,10]	0,007

Сокращения: АГ — артериальная гипертензия, ИК — искусственное кровообращение, ИМТ — индекс массы тела, КЭЭ — каротидная эндартэктомия, МФА — мультифокальный атеросклероз, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, ПИКС — постинфарктный кардиосклероз, СД — сахарный диабет, ТИА — транзиторная ишемическая атака, ФК — функциональный класс, ФП — фибрилляция предсердий, ХСН — хроническая сердечная недостаточность.

Использованы U-критерий Манна-Уитни и метода χ^2 (таблица 2x2) с поправкой Йетса на непрерывность. Выражение центральной тенденции в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (25Q; 75Q)).

Анализ результатов генотипирования проводился посредством SNPStats (<http://bioinfo.iconcologia.net/snpstats>). Равновесие Харди-Вайнберга — при помощи критерия χ^2 Пирсона с одной степенью свободы. Для оценки риска вычислялись отношение шансов (ОШ) и 95%-е доверительные интервалы (95% ДИ). Проведена логистическая регрессия с пошаговым включением и исключением предикторов (MedCalc Software, Бельгия) с построением для полученной модели ROC-кривой и вычислением площади под этой кривой.

Различия признавались статистически значимыми при вероятности отклонить верную нулевую гипотезу $p < 0,05$.

Результаты

Клинико-anamnestические данные, параметры оперативного вмешательства, а также лабораторные показатели содержания СРБ до операции представлены в таблице 1.

Группы были сопоставимы по гендерному признаку. Пациенты с послеоперационными ССО были старше, имели более длительную в анамнезе артериальную гипертензию (АГ), а также коморбидный фон в виде сахарного диабета (СД), ФП. Кроме того, пациенты с развившимися в послеоперационном периоде ССО в дооперационном периоде имели достоверно в 2 раза более высокие показатели СРБ.

В предоперационном периоде информативным в отношении оценки риска возникновения ССО оказался критерий шкалы EuroSCORE в процентах

(в группе ССО данный показатель был выше), тогда как в баллах статистически значимых различий зарегистрировано не было.

Не имелось разницы между количеством пациентов, которым было проведено КШ в условиях искусственного кровообращения (ИК), а также между временем операции. Время пережатия аорты и ИК были более продолжительными в группе ССО при равнозначной кровопотере. Операционный период пациентов с ССО характеризовался большим количеством кардиоплегий, наложенных анастомозов и выполненных шунтов, однако полная реваскуляризация миокарда была проведена одинаковому количеству пациентов в двух группах. Пациенты с ССО в послеоперационном периоде имели более высокий сердечно-сосудистый риск, отражением которого явилось более частое выявление традиционных факторов риска, а также высоких исходных значений концентрации СРБ.

Далее был проведен анализ общеклинических данных у пациентов различных возрастных групп в зависимости от наличия в госпитальном периоде ССО. Возраст пациента закономерно явился фактором, повышающим риск развития ССО в послеоперационном периоде. У пожилых пациентов чаще развивались в госпитальном периоде ССО ($p=0,0016$). В возрастной группе 65 лет и старше был более чем в 3 раза повышен риск возникновения ССО (ОШ=3,26 (95% ДИ 1,6-6,61), $p=0,0011$). Еще одним важным фактором, повышающим риск развития ССО, явилось, вне зависимости от возраста пациента, наличие в предоперационном периоде различных форм ФП (ОШ=4,08 (95% ДИ=1,75-9,53), $p=0,0012$). Полезной для прогнозирования послеоперационных осложнений оказалась и длительность АГ более 10-ти лет, что увеличивало частоту их возникновения в 2 раза (ОШ=2,33 (95% ДИ=1,29-4,21), $p=0,005$). Факт наличия СД вне зависимости от возраста пациента также значительно увеличивал риск развития ССО в послеоперационном периоде (ОШ=4,24 (95% ДИ=1,95-9,24), $p=0,003$).

Однако традиционная шкала EuroScore оказалась малоинформативной в прогнозировании осложнений. У пациентов в возрасте до 65 лет в зависимости от наличия ССО показатели составили 1,51% [1,03;2,27] и 1,89% [1,22; 2,60], соответственно, ($p=0,15$). В старшей возрастной группе также не выявлено таких различий — 3,05% [1,81;5,22] и 2,51% [2,2;3,25] ($p=0,31$).

Дооперационная концентрация СРБ была наименьшей в подгруппе неосложненных пациентов в возрасте до 65 лет, у осложненных того же возраста данный показатель оказался более чем в 1,5 раза выше ($p=0,007$). У пациентов 65 лет и старше сохранялась та же закономерность: осложненные больные имели предоперационную концентрацию СРБ почти в 4 раза выше, чем неосложненные ($p=0,0025$) (рис. 1). У пациентов старше

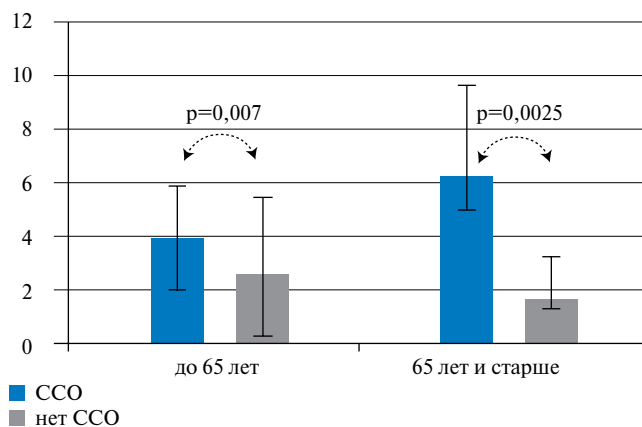


Рис. 1. Предоперационная концентрация СРБ в зависимости от наличия ССО и возраста.

65 лет, имевших предоперационную концентрацию СРБ более 5 мг/мл, риск развития ССО возрастал в четыре раза (ОШ=4,25 (95% ДИ=1,09-16,16), $p=0,038$).

Для оценки вклада генотипов гена *CRP* в развитие послеоперационных ССО в обработку были взяты параметры, показавшие статистически значимую разницу у пациентов разных групп: наличие ССО, возраст пациента (моложе 65 лет, 65 лет и старше), длительность АГ (до 10 лет, 10 лет и более), наличие СД, сопутствующая ФП и генотипы трех полиморфных сайтов *CRP* (rs3093077, rs1130864, rs1205).

Распределение частот аллелей и генотипов для всех анализируемых полиморфизмов было равновесным, согласно закону Харди-Вайнберга ($p \geq 0,5$), что говорит о возможности соотнесения выборки к популяции в целом.

Оцененные в пяти моделях наследования (с введенными поправками на возраст, наличие ФП и СД2, а также длительность АГ) вероятные ассоциации развития ССО при условии обнаружения мутаций в одном из анализируемых полиморфных сайтов *CRP* не показали статистически значимых рисков (табл. 2).

В ходе исследования был проведен анализ предоперационного уровня СРБ среди пациентов с различными генотипами исследуемых полиморфизмов гена *CRP*. Статистически значимых различий в концентрациях между различными аллельными вариантами гена зарегистрировано не было (табл. 3).

Анализ распределения частот гаплотипов *CRP* по полиморфизмам rs3093077, rs1130864 и rs1205 показал отсутствие статистически значимых различий встречаемости сочетаний аллелей исследуемых полиморфизмов у пациентов разных групп.

Далее был проведен анализ носительства определенного генотипа одного из полиморфных сайтов *CRP* в зависимости от возраста и ССО. Выявлено, что гомозиготное носительство аллеля G rs3093077 было ассоциировано с двукратным ($p=0,0043$) риском развития ССО у лиц старше 65 лет.

Таблица 2

Распределение частот генотипов полиморфных сайтов *CRP*, n (%)

Модели наследования	Генотипы	Группы		ОШ (95% ДИ)	p	AIC
		Без осложнений, n=189	ССО, n=60			
rs3093077						
–	G/G	170 (90%)	57 (95%)	1,00	0,44	259,2
	G/T	19 (10,1%)	3 (5%)	0,61 (0,16-2,28)		
s1130864						
Кодоминантная	C/C	85 (45%)	30 (50%)	1,00	0,26	259,1
	T/C	82 (43,4%)	26 (43,3%)	0,73 (0,37-1,42)		
	T/T	22 (11,6%)	4 (6,7%)	0,40 (0,12-1,38)		
Доминантная	C/C	85 (45%)	30 (50%)	1,00	0,19	258,1
	T/C-T/T	104 (55%)	30 (50%)	0,65 (0,34-1,23)		
Рецессивная	C/C-T/C	167 (88,4%)	56 (93,3%)	1,00	0,18	258
	T/T	22 (11,6%)	4 (6,7%)	0,46 (0,14-1,53)		
Овердоминантная	C/C-T/T	107 (56,6%)	34 (56,7%)	1,00	0,59	259,5
	T/C	82 (43,4%)	26 (43,3%)	0,84 (0,44-1,61)		
Лог-аддитивная	–	–	–	0,67 (0,41-1,10)	0,11	257,3
rs1205						
Кодоминантная	C/C	66 (34,9%)	18 (30%)	1,00	0,85	261,5
	C/T	92 (48,7%)	33 (55%)	1,22 (0,60-2,49)		
	T/T	31 (16,4%)	9 (15%)	1,17 (0,45-3,05)		
Доминантная	C/C	66 (34,9%)	18 (30%)	1,00	0,58	259,5
	C/T-T/T	123 (65,1%)	42 (70%)	1,21 (0,61-2,38)		
Рецессивная	C/C-C/T	158 (83,6%)	51 (85%)	1,00	0,94	259,8
	T/T	31 (16,4%)	9 (15%)	1,03 (0,44-2,40)		
Овердоминантная	C/C-T/T	97 (51,3%)	27 (45%)	1,00	0,64	259,6
	C/T	92 (48,7%)	33 (55%)	1,16 (0,62-2,17)		
Лог-аддитивная	–	–	–	1,10 (0,70-1,75)	0,68	259,7

Таблица 3

Уровень СРБ у пациентов с различными генотипами *CRP*

Полиморфизмы гена <i>CRP</i>						p
rs3093077		rs1130864		rs1205		
Генотип	Концентрации СРБ (мг/л)	Генотип	Концентрации СРБ (мг/л)	Генотип	Концентрации СРБ (мг/л)	
AA		AA	4,62 [1,34; 14,2]	CC	2,31 [1,24; 5,87]	0,41
AC	4,64 [1,55; 8,5]	AG	2,91 [1,27; 5,46]	CT	3,15 [1,42; 6,08]	0,47
CC	3,01 [1,34; 5,90]	GG	3,2 [1,43; 5,9]	TT	3,63 [1,43; 7,2]	0,18
AC vs CC p=1,00		AA vs AG p=0,31 AA vs GG p=0,48		CC vs CT p=0,23 CC vs TT p=0,14		

Несмотря на поправки, введенные при статистическом анализе, интерпретация полученных данных должна осуществляться с осторожностью, так как необходимо учитывать небольшое количество наблюдений в данном исследовании.

Для оценки вклада в развитие ССО различных параметров, имеющих статистически значимые различия у осложненных и неосложненных пациентов разных возрастов, провели логистическую регрессию, в модель которой включены принадлежность пациента к одной из анализируемых групп, пол, возраст, наличие в анамнезе ФП, СД, длительность АГ,

предоперационные концентрации СРБ и генотипы трех полиморфизмов гена *CRP* (rs3093077, rs1130864 и rs1205).

В модели с пошаговым исключением для отнесения пациента к одной из клинических групп (с ССО и без ССО) наиболее статистически значимыми являлись: возраст пациента 65 лет и старше ($p=0,037$), предоперационная концентрация СРБ более 5 мг/мл ($p=0,026$) и гомозиготный генотип GG в промоторном регионе гена СРБ (rs3093077) ($\chi^2=9,08$, $p=0,0011$) при прочих равных условиях (в зависимости от наличия ФП, СД2, длительности АГ). При этом у пациен-

тов старше 65 лет риск ССО возрастал почти в 3 раза (ОШ=2,8 (95% ДИ=1,07-7,34), а при определении концентрации СРБ выше 5 мг/мл — в 2,5 раза (ОШ=2,5 (95% ДИ=1,11-5,77). Площадь под ROC-кривой (AUC) равнялась 0,63 (95% ДИ=0,55-0,72), стандартное отклонение от среднего для AUC=0,06.

Обсуждение

Несмотря на достигнутые в нашей стране и за рубежом успехи коронарной хирургии, возникновение послеоперационных осложнений, уровень госпитальной летальности в группах больных высокого риска оперативного вмешательства являются одной из самых актуальных проблем. Оптимизация результатов хирургического лечения возможна только при многостороннем глубоком анализе предоперационного статуса больного, создания алгоритмов принятия решения на основе прогностических шкал.

Шкала EuroSCORE используется для прогнозирования риска госпитальной летальности у пациентов, подвергшихся КШ [5]. Шкала проста в практическом применении. Однако в последнее время появились данные, указывающие на “занижение” этой шкалой риска развития послеоперационных осложнений [6]. В одном из исследований [7] доказано, что для определения группы риска по шкале EuroSCORE целесообразнее учитывать не только значения сывороточного креатинина, но и расчетную скорость клубочковой фильтрации. Последующая оценка роли этого показателя в развитии отдаленных осложнений у пациентов после прямой реваскуляризации миокарда позволит точнее определить его прогностическую ценность. В другом исследовании продемонстрировано [6], что повысить эффективность шкалы EuroSCORE можно путем ее модификации — добавления в рубрику “поражение экстракраниальных артерий” наличие стенозов от 30% и более.

В настоящем исследовании показано, что такие общепринятые факторы риска, как СД, пожилой возраст пациента, наличие АГ, имеют прогностическое значение в отношении развития послеоперационных осложнений. Эти факторы учитываются и в традиционной для пациентов перед КШ шкале EuroSCORE. Однако, такой важный анамнестический факт, как наличие различных форм ФП, не входящий в оценку данной шкалы, в нашем исследовании показал свою прогностическую значимость в отношении возникновения ССО после КШ.

В последнее время уделяется много внимания роли субклинического воспаления и его маркеров — СРБ, различных интерлейкинов (ИЛ) в развитии нарушений сердечного ритма, в частности, ФП. В одном из ранее проведенных нами исследований [8, 9] показано, что пациенты с осложненным послеоперационным периодом в виде пароксизмов ФП отличались достоверно более высокими исходными пре-

доперационными значениями маркера воспаления — ИЛ-12, а предоперационный уровень СРБ также имел тенденцию к повышению в группе пациентов, послеоперационный период которых осложнился ФП. В другом исследовании [10] показано, что пациенты с развитием ССО имели более высокие исходные значения СРБ по сравнению с пациентами без таковых. Наибольшие различия были достигнуты при сравнении пациентов с развитием послеоперационной ФП.

Известно, что повышенный предоперационный уровень СРБ связан с риском ранних и отсроченных осложнений после операции КШ. Lafitte M, et al. доказали прогностическую роль дооперационной концентрации СРБ в отношении отдаленных исходов у пациентов, подвергшихся КШ [11], что было показано и другими авторами [12]. Таким образом, высокая концентрация СРБ до операции КШ позволяет выделить группу пациентов с высокой вероятностью развития ССО, что является основанием для использования СРБ в качестве интегрального маркера сердечно-сосудистого операционного риска. Возможно, данный показатель следует включить в параметры учета шкалы EuroSCORE.

В то же время выраженность экспрессии молекул воспалительного ответа детерминирована разнообразием аллельных вариантов генов, их кодирующих. Некоторые варианты гена, кодирующего СРБ, связаны с изменением базального уровня СРБ у амбулаторных пациентов. Влияние варианта *CRP* на уровень СРБ при воспалительных состояниях, в частности, во время операций на сердце, практически не изучено [13]. Тем не менее, Brull, et al. в 2003г [14] попытались проверить гипотезу о влиянии распространенных вариантов *CRP* как на базальные, так и на послеоперационные уровни СРБ при кардиохирургических вмешательствах. Полиморфизм rs3091244 *CRP* может быть маркерным аллелем для варианта истинного функционального *CRP* вследствие тесной взаимосвязи с полиморфизмами rs3116653, rs3122012, rs1417938 и rs1130864 ($r^2 \leq 0,93$). Доказано, что rs3091244 находится в сцеплении с rs1130864 ($r^2 \leq 0,94$) — полиморфизмом *CRP*, оказывающим похожий эффект на послеоперационные уровни СРБ у пациентов, перенесших КШ [14].

В крупнейшем когортном кардиохирургическом исследовании, посвященном изучению ассоциаций полиморфизмов *CRP*, представлены новые доказательства ассоциаций SNP *CRP* и уровней СРБ после КШ [13]. Авторы [13] продемонстрировали связь между 17 SNP гена-кандидата *CRP* (rs1572970, rs876537, rs876538, rs2794520, rs3093077, rs2808630, rs1205, rs1130864, rs1800947, rs3091244, rs2794521, rs3093059, rs3122012, rs2794517, rs3116654, rs3116653) и периоперационным СРБ у пациентов, перенесших КШ.

Однако, в работе Ammitzboll CG, et al. [15] исследовали ассоциации полиморфизмов *CRP* rs1800947,

rs2808632, rs876538, rs3093077, rs1205, rs1130864, rs1800947 с активностью воспаления у пациентов с ревматоидным артритом, не получающих лечения. Обследуемые пациенты были отобраны из двух рандомизированных контролируемых исследований (CIMESTRA и OPERA). Ассоциации генотипов и гаплотипов с уровнями СРБ авторы оценивали с помощью линейной регрессии с учетом возраста, пола и лечения. Полученные в ходе нашего исследования результаты вполне согласуются с результатами группы ученых во главе с Ammitzboll CG. Авторы данного исследования так же, как и мы, показали, что генотипы и гаплотипы *CRP* лишь отчасти связаны с концентрацией СРБ и не согласуются с активностью воспаления. В ходе нашей работы также не было выявлено ассоциаций полиморфизмов гена СРБ rs3093077, rs1130864, rs1205 с рисками развития ССО. Однако показано, что в одном из изучаемых нами полиморфизмов носительство гомозиготного генотипа GG rs3093077 способствует повышению риска развития ССО у пожилых пациентов более чем 2 раза.

Таким образом, помимо традиционных факторов риска развития послеоперационных осложнений можно предполагать, что вклад генетических маркеров, в частности, наличие того или иного аллеля полиморфизмов rs3093077, rs1130864 и rs1205 *CRP*

у пациентов пожилого возраста могут быть не менее значимыми для развития ССО после КШ. В настоящее время в генетических исследованиях, как правило, анализируются когорты с участием более 500 субъектов, что позволяет повысить достоверность маркеров. Мы считаем, что для подтверждения полученных нами данных необходима дальнейшая работа по анализу и определению значения генетических маркеров для течения послеоперационного периода, а также для прогрессирования атеросклеротического процесса после проведения КШ.

Заключение

К числу независимых предикторов возникновения ССО в госпитальном периоде КШ относятся пожилой возраст пациента, наличие различных форм ФП, СД, длительность АГ более 10-ти лет и определяемые в предоперационном периоде концентрации СРБ выше 5 мг/мл. Носительство гомозиготного генотипа GG rs3093077 *CRP* увеличивает риск развития ССО в госпитальном периоде КШ более чем в 2 раза. Причем, наибольшие риски имеют пациенты пожилого возраста с ФП или СД 2-го типа, а определяемые на дооперационном этапе концентрации СРБ выше 5 мг/мл дополнительно увеличивают эти риски более чем в 2 раза.

Литература

1. Bokerija LA, Zarubina EJu. Possibilities of prediction of postoperative atrial fibrillation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Grudnaja i serdechno-sosudistaja hirurgija*. 2006; 2: 21-9. Russian (Бокерия Л.А., Зарубина Е.Ю. Возможности прогнозирования развития послеоперационной фибрилляции предсердий у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование. *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. 2006; 2: 21-9).
2. Vasil'ev AV, Nesterova JuV, Belousova SV. Efficiency is traditionally used antiarrhythmic drugs and cardioversion of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery. *Narushenija ritma serdca*. 2009; 2: 79-81. Russian (Васильев А.В., Нестерова Ю.В., Белоусова С.В. Эффективность традиционно применяемых антиаритмических препаратов и кардиоверсии при фибрилляции предсердий после операций коронарного шунтирования. *Нарушения ритма сердца*. 2009; 2: 79-81).
3. Kolz M, Koenig W, Muller M, et al. DNA variants, plasma levels and variability of C-reactive protein in myocardial infarction survivors: results from the AIRGENE study. *Eur. Heart J*. 2008; 29(10): 1250-8.
4. Hamm CW, Heeschen C, Falk E, et al. Acute coronary syndromes: pathophysiology, diagnosis and risk stratification. In: *The ESC Textbook of cardiovascular medicine*. 2009. Ch. 12. P. 333-65.
5. Nilsson J, Algotsson L, Höglund P, et al. Comparison of 19 pre-operative risk stratification models in open heart surgery. *Eur. Heart J*. 2006; 27: 867-74.
6. Shafranskaja KS, Barbarash OL, Barbarash LS, et al. The ability to use a modified EuroSCORE scale for evaluating the annual forecast of coronary artery bypass grafting in patients with multifocal atherosclerosis. *Patologija krovoobrashhenija i kardiologija*. 2010; 2: 52-6. Russian (Шафранская К.С., Барбараш О.Л., Барбараш Л.С. и др. Возможность использования модифицированной шкалы EuroSCORE для оценки годового прогноза коронарного шунтирования у пациентов с мультифокальным атеросклерозом. *Патология кровообращения и кардиология*. 2010; 2: 52-6).
7. Shafranskaja KS, Zikov MV, Bykova IS, et al. Communication with renal dysfunction hospital complications in patients with coronary artery disease undergoing coronary artery bypass grafting. *Kreativnaja kardiologija*. 2013; 2: 5-14. Russian (Шафранская К.С., Зыков М.В., Быкова И.С. и др. Связь почечной дисфункции с госпитальными осложнениями у пациентов с ишемической болезнью сердца, подвергшихся коронарному шунтированию. *Креативная кардиология*. 2013; 2: 5-14).
8. Bajrakova JuV, Ivanov SV, Kazachek JaV, et al. Risk factors for supraventricular arrhythmias in-hospital after coronary bypass surgery. *Sibirskij medicinskij zhurnal*. 2011; 5: 44-7. Russian (Байракова Ю.В., Иванов С.В., Казачек Я.В. и др. Факторы риска развития суправентрикулярных нарушений ритма в госпитальном периоде после коронарного шунтирования. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 5: 44-7).
9. Bajrakova JuV, Bazdyrev ED, Kazachek JaV, et al. Perioperative dynamics of inflammatory markers in patients with coronary artery disease undergoing coronary artery bypass grafting. *Citokiny i vospalenie*. 2012; 1: 55. Russian (Байракова Ю.В., Баздырев Е.Д., Казачек Я.В. и др. Периоперационная динамика маркеров воспаления у пациентов ишемической болезнью сердца, подвергшихся коронарному шунтированию. *Цитокины и воспаление*. 2012; 1: 55).
10. Bajrakova JuV, Kazachek JaV, Gruzdeva OV, et al. Perioperative dynamics of C-reactive protein in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Klinicheskaja i laboratornaja diagnostika*. 2013; 3: 3-6. Russian (Байракова Ю.В., Казачек Я.В., Груздева О.В. и др. Периоперационная динамика С-реактивного белка у пациентов, подвергшихся коронарному шунтированию. *Клиническая и лабораторная диагностика*. 2013; 3: 3-6).
11. Lafitte M, Tastet S, Perez P, et al. High sensitivity C reactive protein, fibrinogen levels and the onset of major depressive disorder in post-acute coronary syndrome. *BMC Cardiovasc. Disord*. 2015; 15(1): 23.
12. Bajrakova JuV, Grigor'ev AM, Bazdyrev ED, et al. The role of subclinical inflammation in the development of cardiovascular complications in patients undergoing coronary bypass surgery. *Kardiologija i serdechno-sosudistaja hirurgija*. 2013; 3: 18-22. Russian (Байракова Ю.В., Григорьев А.М., Баздырев Е.Д. и др. Роль субклинического воспаления в развитии сердечно-сосудистых осложнений у пациентов после коронарного шунтирования. *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2013; 3: 18-22).
13. Perry TE, Muehlschlegel JD, Liu K-Y, et al. C-Reactive protein gene variants are associated with postoperative C-reactive protein levels after coronary artery bypass surgery. *BMC Med. Genet*. 2009; 10: 38.
14. Brull DJ, Serrano N, Zito F, et al. Human CPB gene polymorphism influences CPB levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2003; 23(11): 2063-9.
15. Ammitzboll CG, Steffensen R, Bøgsted M, et al. CRP genotype and haplotype associations with serum C-reactive protein level and DAS28 in untreated early rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res. Ther*. 2014; 16(5): 475.

ДНК-ДИАГНОСТИКА И СПЕКТР МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *FBN1* ПРИ СИНДРОМЕ МАРФАНА

Рогожина Ю. А., Румянцева В. А., Букаева А. А., Заклязьминская Е. В.

Цель. Разработка оптимального протокола диагностического поиска мутаций с использованием секвенирования нового поколения (NGS) и оценка спектра мутаций в российской выборке больных с синдромом Марфана.

Материал и методы. В исследование включены 32 пациента с синдромом Марфана. Для 24 человек было проведено прямое секвенирование по Сэнгеру 24–32 экзонов гена *FBN1*. Для 10 человек был проведен анализ кодирующих экзонов и прилегающих интронных областей гена *FBN1* путем приготовления фрагментных библиотек и проведения NGS на платформе IonTorrent. Для 12 человек поиск мутаций осуществлялся с использованием автоматически разработанной панели праймеров Ampliseq для мультиплексной амплификации кодирующих областей генов, ответственных за развитие соединительно-тканной дисплазии.

Результаты. При исследовании 24–32 экзона гена *FBN1* были обнаружены 3 замены (p.C921R, p.C950S и p.I1048T). При полном анализе последовательности гена *FBN1* фрагментным анализом замены найдено 4 преждевременных стоп-кодона (p.Y181*, p.R516*, p.Q1811*, p.R2776*) и 3 новые миссенс-варианта (p.C739W, p.C1095S, p.C2468R). Так же была выявлена делеция со сдвигом рамки считывания и появлением стоп-кодона в 9 экзоне (c.661delT). У одной пациентки была обнаружена замена c.4942+4A>G, клиническое значение которой не определено. При полном анализе гена *FBN1* с использованием панели Ampliseq было обнаружено 2 преждевременных стоп-кодона (p.Q520*, p.K2838*) и 2 делеции со сдвигом рамки считывания (c.40_49del, c.6751del). У 6 из 12 обнаружены миссенс-замены (p.N2144S, p.A986T, p.C2390S, p.C2276W, p.C1777R и p.C2363G).

Заключение. В отсутствии "горячих" экзонов, внедрение NGS позволяет оптимизировать поиск мутаций даже в таких протяженных генах как ген *FBN1*. Медико-генетическая консультация и ДНК-диагностика являются интегральными методами для оказания мультидисциплинарной помощи.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 61–64
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-61-64>

Ключевые слова: синдром Марфана, фибриллин, *FBN1*.

ФГБНУ Российский научный центр хирургии имени академика Б. В. Петровского, Москва, Россия.

Рогожина Ю. А. — научный сотрудник лаборатории медицинской генетики, Румянцева В. А. — врач-генетик лаборатории медицинской генетики, Букаева А. А. — младший научный сотрудник лаборатории медицинской генетики, Заклязьминская Е. В. — заведующая лабораторией медицинской генетики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 uar8o@yandex.ru

FBN1 — ген, кодирующий белок фибриллин-1, NGS — new generation sequencing, секвенирование нового поколения, VUCS — variant of unknown clinical significance, вариант с неизвестным клиническим значением, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, кДНК — комплементарная ДНК, мРНК — матричная РНК, РНК — рибонуклеиновая кислота, СМ — синдром Марфана.

Рукопись получена 26.05.2015

Рецензия получена 28.05.2015

Принята к публикации 04.06.2015

DNA DIAGNOSTICS AND MUTATION SPECTRUM OF THE GENE *FBN1* IN MARFAN'S SYNDROME

Rogozhina Yu. A., Rumyantseva V. A., Bukaeva A. A., Zaklyazminskaya E. V.

Aim. The development of an optimal protocol for diagnostic search for mutations with the use of the new generation sequencing technique (NGS) and evaluation of the mutation spectrum in Russian selection of the patients with Marfan syndrome.

Material and methods. Totally 32 patients included with Marfan syndrome. For 24 the direct sequencing was done by Sanger, of 24–32 exons *FBN1*. For 10 persons the analysis performed of coding exons and close introns regions of the gene *FBN1* with the preparation of fragmented libraries and performing of NGS on the IonTorrent platform. For 12 persons the mutations search was done with the use of automatically developed panel of Ampliseq primers for multiplex amplification of coding regions of genes that are responsible for the connective tissue development.

Results. In investigation of 24–32 exons of *FBN1* we found 3 replacements (p.C921R, p.C950S and p.I1048T). In complete analysis of *FBN1* gene by fragmentation check of replacements we found 4 premature stop-codons (p.Y181*, p.R516*, p.Q1811*, p.R2776*) and 3 missense variants (C739W, p.C1095S, p.C2468R). In addition, there was deletion with the shift of translation frame and occurrence of stop-codon in the 9th exon (c.661delT). In one female patient there

was replacement variant c.4942+4A>G, with non-defined clinical significance. With the complete analysis of *FBN1* using Ampliseq there were 2 premature codons found (p.Q520*, p.K2838*) and 2 deletions with the translation frame shift (c.40_49del, c.6751del). In 6 from 12 there were missense replacements found (p.N2144S, p.A986T, p.C2390S, p.C2276W, p.C1777R and p.C2363G).

Conclusion. In the case of absence of the "hot spot" exons, invention of NGS allows for optimization the search of mutations even in such long genes as the *FBN1*. Medical-genetic consultation and DNA-diagnostics are the integral methods for multidisciplinary care.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 61–64

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-61-64>

Key words: Marfan's syndrome, fibrillin, *FBN1*.

FSBSI Russian Scientific Center of Surgery n.a. B. V. Petrovsky, Moscow, Russia.

Синдром Марфана (СМ) — одно из самых частых заболеваний из группы дисплазий соединительной ткани. Для этого синдрома характерны поражение сердечно-сосудистой системы, аномалия глаз (подвывих хрусталика, миопия) и изменения скелета (длинные конечности, деформация позвоночника и грудной клетки). Основными факторами ограничения продолжительности жизни являются

осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы. Сердечно-сосудистые проявления включают дилатацию аорты на уровне синусов Вальсальвы, высокий риск аневризм/разрывов аорты и других крупных сосудов, пролапс митрального клапана с регургитацией или без нее, пролапс трехстворчатого клапана и расширение проксимальных отделов легочной артерии.

По данным, представленным европейскими и американскими авторами, СМ встречается в популяции с частотой 2-3 на 10 000 человек [1], однако в России масштабных эпидемиологических исследований не проводилось.

Диагноз СМ ставится на основании Гентских критериев (2010) [2], учитывающих комбинацию больших и малых диагностических признаков в нескольких системах органов. В отсутствие семейной истории, сочетание дилатации аорты на уровне синусов Вальсальвы ($Z > 2$) и подвывиха хрусталика считается достаточным для постановки диагноза. Кроме того, впервые в 2010г в Гентские критерии [2] было введено выявление патогенной мутации в гене *FBN1* в качестве большого диагностического критерия заболевания.

Классическая форма синдрома Марфана вызвана мутациями в гене *FBN1*, расположенным на 15-й хромосоме (15q21.1). Ген *FBN1* — очень протяженный, содержит 66 экзонов (из них 65 кодирующих). При этом в *FBN1* нет “горячих” замен и экзонов, которые бы позволили эффективно и с малыми затратами проводить молекулярно-генетическое подтверждение диагноза. Условно “горячими” считают экзоны 24-32, по данным литературы на них может приходиться 20% найденных мутаций [3]. Только у 75% больных прослеживается отягощённый семейный анамнез и передача мутации от одного из родителей, у 25% мутация возникает *de novo*.

Ген *FBN1* кодирует белок фибриллин-1. Это внеклеточный гликопротеин, который образует микрофибриллы. Микрофибриллы участвуют в формировании эластичных тканей, поддержании их гомеостаза и создании клеточного каркаса. Эластические волокна распространены по всему организму, но наибольшее их число сосредоточено в аорте и связках. При СМ эти волокна становятся менее прочными из-за нарушения структуры фибриллина. Фибриллин-1 содержит связывающие сайты для рецепторов интегрин [4]. Кроме того, фибриллин-1 способен регулировать биодоступность трансформирующего фактора роста (TGF β) [5], который опосредует сигнальный каскад, важный для дифференцировки и созревания соединительнотканых структур.

Клинический полиморфизм проявлений СМ, которые встречаются при разных мутациях, чрезвычайно широк — от изолированной эктопии хрусталика или ПМК с минимальными скелетными проявлениями марфаноидного фенотипа до тяжелых неонатальных форм СМ с продолжительностью жизни около двух лет.

Цель исследования — разработка оптимального протокола диагностического поиска мутаций с использованием секвенирования нового поколения (NGS) и оценка спектра мутаций в российской выборке больных с синдромом Марфана.

Материал и методы

Согласно рекомендациям Consensus Statement [6], всем пациентам с подозрением на наследственное сердечно-сосудистое заболевание рекомендовано медико-генетическое консультирование (класс рекомендаций I). В ФГБНУ РНЦХ им. акад. Б. В. Петровского были проконсультированы 279 пациентов с дисплазией соединительной ткани. Из них для 32 пациентов выполнялись Гентские критерии синдрома Марфана (2010), и им была проведена ДНК-диагностика. Два пациента с неонатальной формой СМ наблюдались в перинатальном кардиологическом центре. Для 30 пациентов был поставлен диагноз “классическая форма СМ”: 29 человек госпитализированы в отделение хирургии аорты и ее ветвей, один — в отделение хирургического лечения дисфункций миокарда и сердечной недостаточности. Все пациенты дали информированное согласие на проведение клинического и генетического обследования и хирургического лечения.

Анализ последовательности гена *FBN1* в силу большой протяженности проводился в несколько этапов и с использованием различных методов. Случайным образом пациенты с достаточной для диагноза комбинацией Гентских критериев были разбиты на 3 группы. Первую группу составили 24 пациента, у которых методом прямого секвенирования по Сенгеру были исследованы только 24-32 экзоны гена *FBN1*. Во второй группе было 10 человек (из них 7 человек без обнаруженных мутаций перешли из 1 группы). Им был проведен анализ кодирующих экзонов и прилегающих интронных областей гена *FBN1* путем приготовления фрагментных библиотек и проведения NGS на платформе IonTorrent. Третья группа включала в себя 12 человек (из них 7 человек без мутаций в 24-32 экзонах из 1 группы), для которых поиск мутаций осуществлялся с использованием автоматически разработанной панели праймеров Ampliseq для мультиплексной амплификации кодирующих областей генов, ответственных за развитие соединительно-тканной дисплазии. Все непокрытые участки и найденные замены у всех обследованных больных были проанализированы капиллярным секвенированием по Сенгеру.

Все выявленные новые генетические варианты были проанализированы с помощью биоинформатических ресурсов NetGene2, SpliceSitePredictor, PolyPhen2, Provean и Sift для оценки *in silico* их функционального значения. Окончательное заключение о клинической значимости замен делалось в соответствии с Гентскими критериями патогенности мутаций [2] и в сочетании с результатами анализа *in silico*.

По запросу 5 семей был выполнен каскадный семейный скрининг (проведён поиск найденных мутаций у родственников пробанда).

Результаты

В первой группе из 24 пробандов исследовали только 24–32 экзоны гена *FBN1*. У 3 больных были обнаружены 3 замены (p.C921R, p.C950S и p.I1048T). Миссенс-замены p.C921R и p.C950S являются новыми, мутация p.I1048T описана в литературе как патогенная при синдроме Марфана [7].

Во второй группе при полном анализе последовательности гена фрагментным анализом замены были обнаружены у 9 из 10 пробандов (90%). Найдено 4 преждевременных стоп-кодона (p.Y181*, p.R516*, p.Q1811*, p.R2776*) и 3 новые миссенс-варианта (p.C739W, p.C2468R). Замена p.C1095S обнаружена у пациентки с неонатальной формой СМ [8]. Также была выявлена делеция со сдвигом рамки считывания и появлением стоп-кодона в 9 экзоне (c.661delT). У одной пациентки была обнаружена замена c.4942+4A>G, клиническое значение которой не определено. Процент обнаруженных замен в этой группе составил 90%.

В третьей группе из 12 пробандов проводился полный анализ гена *FBN1* с использованием панели Ampliseq. Было обнаружено 2 преждевременных стоп-кодона (p.Q520*, p.K2838*) и 2 малые делеции со сдвигом рамки считывания (c.40_49del, c.6751del). У 6 из 12 обнаружены миссенс-замены (p.N2144S, p.A986T, p.C2390S, p.C2276W, p.C1777R и p.C2363G). Процент обнаруженных замен в этой группе составил 84%.

Все найденные замены представлены в таблице 1.

Обсуждение

Мутации в гене *FBN1* как причина СМ были описаны в 1991г. Однако, в связи с большим размером, поиск мутаций в этом гене проводился в небольшом числе специализированных лабораторий в мире. Подавляющее число мутаций в *FBN1* обусловлены точковыми заменами или небольшими делециями/инсерциями, обнаружение которых требует полного анализа гена. Большая протяженность гена *FBN1* делает диагностику синдрома Марфана дорогостоящей и трудоемкой. Поэтому данные о спектре мутаций ограничены.

Широкое применение методов высокоэффективного секвенирования приводит к выявлению большого числа неописанных замен, и квалификация этих замен, заключение о связи выявленной замены с заболеванием требует большой осторожности. Необходим аккуратный анализ вновь выявленных вариантов, так как не все аминокислотные замены являются мутациями. В 2010 году предложены Гентские критерии патогенности мутаций [2], которые облегчают квалификацию генетических находок. По этим критериям клинически значимыми следует считать следующие генетические варианты:

- Замены, ранее описанные для синдрома Марфана.

Таблица 1

Результаты поиска мутаций в гене *FBN1*
у обследованных пробандов VUCS

	Генетические изменения	Изменения белка	Экзон	Клиническое значение
1	c.40_49 del	p.T14fs	2	мутация
2	c.543C>G/N	p.Y181*	7	мутация
3	c.661delT/N	p.221fs	7	мутация
4	c.1558C>T/N	Q520*	13	мутация
5	c.1546C>T/N	p.R516*	13	мутация
6	c.2217T>G/N	p.C739W/N	19	мутация
7	c.2761T>C/N	p.C921R	24	мутация
8	c.2849G>C/N	p.C950S	24	мутация
9	c.2956G>A/N	p.A986T	25	VUCS*
10	c.3143T>C/N	p.I1048T	26	мутация
11	c.3284G>C/N	p.C1095S	27	мутация
12	c.5329T>C/N	p.C1777R	44	мутация
13	c.5431G>T/N	p.E1811*	45	мутация
14	c.6431A>G/N	p.N2144S	53	VUCS*
15	c.6828T>G/N	C2276W	56	мутация
16	c.6751delT/N	p.C2251fs	56	мутация
17	c.7168T>A/N	p.C2390S	58	мутация
18	c.7087T>G/N	p.C2363G	58	мутация
19	c.7402T>C/N	p.C2468R	60	мутация
20	c.8512A>T/N	p.K2838*	66	мутация
21	c.8326C>T/N	p.R2776*	66	мутация
22	c.4942+4A>G/N	нет данных		VUCS*

Сокращение: VUCS — variants of uncertain clinical significance (вариант с неизвестным клиническим значением).

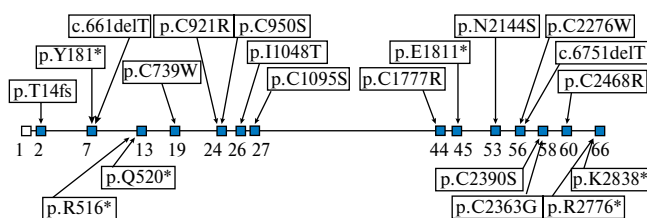


Рис. 1. Схема расположения найденных замен относительно экзонов гена *FBN1*.

- Мутации *de novo* (с доказанным отцовством и отсутствием заболевания у родителей).
- Нонсенс-мутации.
- Мутации, приводящие к сдвигу рамки считывания.
- Мутации сайта сплайсинга, влияющие на каноническую последовательность гена или для которых экспериментально установлены изменения на уровне мРНК/кДНК.
- Миссенс — замены, затрагивающие или создающие цистеин в белковой последовательности.
- Миссенс — замены, влияющие на консервативные участки в последовательности EGF-домеина ((D/N)X(D/N)(E/Q)Xm(D/N)Xn(Y/F) где m и n — переменное число остатков; D — аспарагиновая кислота, N —

аспарагин, Е — глутаминовая кислота, Q — глутамин, Y — тирозин, F — фенилаланин).

- Другие миссенс-мутации: при сегрегации в семье (если это возможно) + отсутствие замены в 200 образцах здоровых доноров (400 контрольных хромосом). Если нет семейной истории, то отсутствие данной замены в 400 контрольных хромосомах.

- Сегрегация совместно с заболеванием выявленного гаплотипа в гене *FBNI* в $n \geq 6$ мейозов в семье.

При таком анализе найденных вариантов, у 32 пациентов нашей выборки в 24-32 экзонах обнаружено всего 4 патогенных мутации и 1 VUCS. Таким образом, диагностическая эффективность поиска в девяти экзонах составила 15,6% в общей группе, 100% — у больных с неонатальной формой СМ.

Из 32 пациентов мутации или VUCS обнаружены у 22 человек (69%). Полный анализ гена *FBNI* был проведен для 22 пациентов, патогенные замены или VUCS обнаружены у 19 человек (86%).

В нашей выборке замены распределены неравномерно (рис. 1). Не обнаружено мутаций на участке с 28 по 43 экзон. Между 40 и 41 экзонами находится замена с.4942+4A>G, но ее клиническое значение неопределенно и требуется дополнительный анализ. Неравномерность может быть связана с небольшой выборкой и специфичностью группы пациентов (большинство госпитализировано в отделение хирургии аорты и ее ветвей).

Частичный анализ последовательности *FBNI* описано не дал значительных результатов. При анализе 14% кодирующей последовательности (экзоны 24-32) мутации были выявлены у 15,6% пациентов. При необходимости полного анализа всей последовательности, секвенирование по Сенгеру становится крайне дорогостоящим методом. Применение технологий

секвенирования нового поколения упрощает анализ таких протяженных генов, как *FBNI*. При этом надо учитывать ограничения данного метода, такие как невозможность полного покрытия всего гена и неравномерность прочтения участков. При использовании панели AmpliSeq есть стабильно непокрываемые участки. Для оптимизации диагностики такие участки сразу отправлялись на секвенирование по Сенгеру. В нашей выборке финальное покрытие экзонов было неравномерно для каждого пациента, что определяется в том числе качеством анализируемой ДНК. При больших пробелах в индивидуальном прочтении после AmpliSeq, можно готовить эти образцы на фрагментный анализ, который позволит достоверно проанализировать оставшиеся экзоны и удешевить диагностику. Подтверждение найденных замен производится с помощью секвенирования по Сенгеру как единственного сертифицированного метода для клинической диагностики.

Заключение

Согласно европейским рекомендациям по диагностике и лечению заболеваний аорты (2014) [9], пациентов с СМ и другими дисплазиями соединительной ткани выделяют в отдельную категорию больных, имеющих особенности при выборе тактики хирургического вмешательства. Нахождение патогенной мутации в гене *FBNI* является одним из больших критериев для постановки диагноза. В отсутствие “горячих” экзонов, внедрение NGS позволяет оптимизировать поиск мутаций даже в таких протяженных генах как ген *FBNI*. Медико-генетическая консультация и ДНК-диагностика являются интегральными методами для оказания мультидисциплинарной помощи.

Литература

1. Collod-Beroud G, et al. Marfan syndrome in the third Millennium. Eur J Hum Genet, 2002; 10: 673-81.
2. Loeys BL, et al. The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. J Med Genet, 2010; 47: 476-85.
3. Faivre L, et al. Clinical and mutation-type analysis from an international series of 198 probands with a pathogenic *FBNI* exons 24-32 mutation. Eur J Hum Genet, 2009; 17: 491-501.
4. Olivieri J, et al. Fibrillin assemblies: extracellular determinants of tissue formation and fibrosis. Fibrogenesis & Tissue Repair, 2010; 3:24.
5. Chaudhry SS, et al. Fibrillin-1 regulates the bioavailability of TGFβ1. JCB, 2007; 176 (3): 355.
6. Ackerman MJ, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies this document was developed as a partnership between the Heart Rhythm Society (HRS) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). Heart Rhythm, 2011; Aug 8(8): 1308-39.
7. Kirschner R, Hubmacher D, et al. Classical and Neonatal Marfan Syndrome Mutations in Fibrillin-1 Cause Differential Protease Susceptibilities and Protein Function. The Journal of biological chemistry, 2011; 286, 37: 32810-23.
8. Rumyantseva VA, et al. Neonatal Marfan Syndrome: clinical description and complex approach to diagnostics and treatment. Russ J Cardiol, 2014; 5(109): 55-60. Russian (Румянцева В.А. и др. Неонатальная форма синдрома Марфана — клиническое описание и комплексный подход к диагностике и лечению. Российский кардиологический журнал, 2014; 5(109): 55-60).
9. Erbel R, Aboyans V, Boileau C, et al.; ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of aortic diseases. Eur Heart Jour, 2014; Nov1,35(41):2873-926.

ПОЛИМОРФИЗМЫ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ 2 И 9 У ПАЦИЕНТОВ С АНЕВРИЗМОЙ ВОСХОДЯЩЕГО ОТДЕЛА АОРТЫ

Гаврилюк Н. Д.¹, Иртюга О. Б.¹, Дружкова Т. А.¹, Успенский В. Е.¹, Малашичева А. Б.^{1,2}, Костарева А. А.¹, Моисеева О. М.¹

Цель. Изучить роль однонуклеотидных полиморфизмов генов матриксных металлопротеиназ *MMP2* и *MMP9* в развитии аневризмы восходящего отдела аорты (АВОА).

Материал и методы. В исследование включено 287 пациентов с АВОА и 227 человек контрольной группы. Всем пациентам выполнено эхокардиографическое исследование и определение однонуклеотидных полиморфизмов генов *MMP2* (rs2285053) и *MMP9* (rs11697325, rs2274755, rs17577) с помощью ПЦР в реальном времени.

Результаты. Подтверждена ассоциация полиморфизма *MMP9* (rs11697325) с формированием АВОА. Генотип АА достоверно чаще встречался среди пациентов с АВА ($\chi^2=7,2$; $p=0,01$). Носители генотипа АА имели больший диаметр восходящей аорты по сравнению с лицами с другими вариантами ($p=0,02$). Установлена связь между полиморфизмом *MMP2* (rs2285053) и развитием АВОА. Лица с генотипом СС преобладали в группе больных с патологией аорты ($\chi^2=7,0$; $p=0,03$).

Заключение. Генетические варианты генов *MMP9* и *MMP2* могут быть дополнительными факторами риска развития аневризмы восходящего отдела аорты. Поэтому исследование полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ можно использовать для стратификации риска пациентов с расширением восходящего отдела аорты.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 65–69
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-65-69

Ключевые слова: аневризма восходящего отдела аорты, наследственность, матриксные металлопротеиназы, однонуклеотидный полиморфизм.

¹ФГБУ Северо-западный федеральный медицинский исследовательский центр, Санкт-Петербург; ²Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург, Россия.

Гаврилюк Н. Д.* — н.с. НИЛ кардиомиопатий, Иртюга О. Б. — к.м.н., в.н.с. НИЛ кардиомиопатий, Дружкова Т. А. — аспирант НИЛ кардиомиопатий; Успенский В. Е. — к.м.н., с.н.с. НИЛ пороков и ишемической болезни сердца, Малашичева А. Б. — к.б.н., заведующая НИЛ молекулярной кардиологии, Костарева А. А. — к.м.н., директор Института молекулярной биологии и генетики, Моисеева О. М. — д.м.н., заведующая отделом НКО некоронарогенных заболеваний.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
Gavrilyuk_ND@almazovcentre.ru

АВОА — аневризма восходящей аорты, БАК — бicuspidальный аортальный клапан, ММП — матриксные металлопротеиназы, ПЦР — полимеразная цепная реакция, ТАК — трикуспидальный аортальный клапан, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, SNP — однонуклеотидный полиморфизм.

Рукопись получена 26.05.2015

Рецензия получена 01.06.2015

Принята к публикации 07.06.2015

POLYMORPHISMS OF MATRIX METALLOPROTEASES 2 AND 9 GENES IN ASCENDING AORTA ANEURISM PATIENTS

Gavrilyuk N. D.¹, Irtiyuga O. B.¹, Druzhkova T. A.¹, Uspensky V. E.¹, Malashicheva A. B.^{1,2}, Kostareva A. A.¹, Moiseeva O. M.¹

Aim. To study the role of mononucleotide polymorphisms of the matrix metalloproteases genes *MMP2* and *MMP9* in the development of ascending aorta aneurism (AOA).

Material and methods. Totally 287 patients included with AOA and 227 persons of control group. All patients underwent echocardiography and assessment of mononucleotide gene polymorphisms of *MMP2* (rs2285053) and *MMP9* (rs11697325, rs2274755, rs17577) real-time, by PCR.

Results. The association of *MMP9* (rs11697325) is confirmed for the formation of AOA. AA genotype was significantly more prevalent among AOA patients ($\chi^2=7,2$; $p=0,01$). AA genotype carriers had higher ascending aorta diameter comparing to other persons with different variants ($p=0,02$). The relation is shown of the polymorphism *MMP2* (rs2285053) and AOA development. Persons with CC genotype were more prevalent in the group of the aorta pathology patients ($\chi^2=7,0$; $p=0,03$).

Conclusion. Genetic variants *MMP9* and *MMP2* can be additional risk factors of ascending aorta aneurism development. Therefore the assessment of different polymorphisms of matrix metalloproteases genes is useful for the risk stratification of the patients with ascending aorta dilation.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 65–69
http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-65-69

Key words: ascending aorta aneurism, heredity, matrix metalloproteases, mononucleotide polymorphism.

¹FSBI North-Western Federal Medical Investigation Center, Saint-Petersburg;
²Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia.

Аневризма грудной аорты является социально значимой патологией и занимает 15 место среди причин смерти в популяции старше 65 лет [1]. При развитии расслоения аневризмы восходящего отдела аорты (АВОА) без оперативного вмешательства летальность в первые сутки составляет около 50%, и даже при хирургическом лечении может достигать 18–26% [2].

В связи с тем, что только 5% больных имеют клинические проявления, которые в большинстве случаев не являются специфичными, наибольшую сложность представляет ранняя диагностика заболевания. Благодаря совершенствованию методов визуализации, выявляемость аневризм грудной аорты на доклинической стадии неуклонно растет. Вместе с тем, прогнозировать дальнейшее развитие данной патоло-

гии у каждого отдельного индивидуума ввиду отсутствия полного представления обо всех процессах, происходящих в сосудистой стенке и их пусковых механизмах, достаточно трудно. Согласно существующим рекомендациям [3], решение вопроса о необходимости оперативного лечения зависит от размера аорты. Однако пациенты с аневризмой грудной аорты составляют неоднородную группу, и такой подход не учитывает индивидуальные особенности течения аневризм различной этиологии.

Патогенез формирования аневризмы восходящего отдела аорты изучен не до конца. Говоря о факторах, предрасполагающих к ее развитию, необходимо отметить традиционные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — такие, как курение, дислипидемия, сахарный диабет. Однако в отличие от аневризмы брюшного отдела аорты, в основе формирования которой чаще всего лежит атеросклероз, аневризмы восходящего отдела имеют иную природу.

По данным Йельского Университета, в котором есть база данных о более чем 3000 больных с аневризмой грудной аорты, в 21% случаев у пациентов с аневризмой или диссекцией восходящего отдела аорты имелись родственники первой линии с данной патологией. В настоящее время известно большое количество генов, ассоциированных с АВОА. Часть из них связана с развитием синдромов, в которых АВОА выступает в качестве одного из компонентов. Однако, несмотря на большое число выявленных мутаций, они объясняют лишь 20% случаев семейной АВОА. При этом до конца неизвестно — за счет чего же реализуется наследственная предрасположенность в остальных семьях и есть ли генетические предикторы заболевания у больных с несемейной АВОА?

Матриксные металлопротеиназы (ММП) — группа желатиназ, часть которых (например, ММП-2 и ММП-9), обладает эластолитической активностью. В настоящее время получены убедительные доказательства роли ММП в формировании АВОА. Нами и другими авторами ранее показано повышение активности ММП 2 и 9 типа в тканях и клетках у больных с АВОА [4, 5]. Но, несмотря на это, открытым остается вопрос об их месте в цепочке патогенеза данной патологии. Следует ли рассматривать повышение ММП как типовой процесс, отражающий патологические изменения в стенке сосуда, или как основной механизм формирования АВОА? Поэтому большой интерес представляет изучение вклада однонуклеотидных полиморфизмов генов *MMP2* и *MMP9* в развитие АВОА, что и послужило целью данной работы. Основными задачами были: сопоставление генотипов пациентов с АВОА и контрольной группой, сравнение подгрупп с БАК и ТАК, а также оценка влияния генотипа на степень расширения аорты.

Материал и методы

В исследование включено 287 пациентов с аневризмой восходящей аорты (средний возраст — $50,4 \pm 10,3$, м:ж=2,8:1) и 227 человек (средний возраст — $56,5 \pm 10,5$, м:ж=2,4:1) из группы контроля. Клиническая характеристика больных представлена в таблице 1. Все участники подписали добровольное информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом Северо-Западного медицинского исследовательского центра. Пациенты старше 70 лет, больные с синдромом Марфана и другими моногенными нарушениями соединительной ткани, а также пациенты с аневризмами аорты воспалительного генеза в исследование не включались.

Всем исследуемым проведено анкетирование, антропометрия, забор образцов крови и эхокардиография по стандартной методике (Vivid 7, GE, США). Пациентам с АВОА выполнялась мультисрезовая компьютерная томография аорты с контрастным усилением.

Из образцов крови, используя набор QIAamp blood mini kit (Qiagen, Germany), выделена ДНК. С помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени на приборе Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System, с применением TaqMan® Universal PCR Master Mix, исследованы полиморфизм гена *MMP2* (rs2285053) и 3 полиморфизма гена *MMP9* (rs11697325, rs2274755, rs17577).

Статистическая обработка осуществлялась с использованием прикладных статистических программ Statistica for Windows ver. 10.0 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Результаты представлены в виде среднего арифметического (M), средней арифметической ошибки (m) и количества признаков в группе. Достоверность различий показателей в группах оценивалась с помощью непараметрических критериев Вилкоксона и Манна-Уитни для независимых групп. Для оценки корреляций между признаками применялся корреляционный анализ Спирмена. Для анализа влияния различных генотипов применялся критерий Фишера. Различия считались достоверными при значениях $p < 0,05$.

Результаты

Сбор материала осуществлялся в СЗФМИЦ в период с 2012-2014гг. В исследование включены пациенты, обратившиеся в СЗФМИЦ по поводу АВОА и соответствующие критериям отбора. Все больные с АВОА условно разделены на 2 группы в зависимости от морфологического варианта аортального клапана (на основании интраоперационных данных и/или данных эхокардиографического исследования): пациенты с бicuspidальным (БАК) и с tricuspidальным (ТАК) аортальным клапаном. Больные с АВОА не отличались друг от друга по возрасту, полу и наличию факторов риска ССЗ. Во всех группах

преобладали мужчины (м:ж=2,6:1). Максимальный диаметр аорты в группе больных с АВОА составил $54,2 \pm 0,6$ мм и был сопоставим в группах с БАК и ТАК.

У 43 пациентов (15%) имело место сочетание АВОА с аневризмами других локализаций (брюшной аорты, брахиоцефальных артерий и пр.). У 3 исследуемых помимо АВОА имелся дефект межпредсердной перегородки и у 1 больного — дефект межжелудочковой перегородки. В 2 случаях АВОА сочеталась с открытым артериальным протоком и в 1 случае — с коарктацией аорты. Аортальный стеноз встречался у 19% пациентов, преимущественно у больных с БАК (соотношение больных с БАК и ТАК = 13:1) ($\chi^2=44,9$; $p<0,001$).

В качестве основной терапии 50% больных получали ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, 49% — сартаны. Бета-адреноблокаторы назначались в 51% случаев.

По результатам исследования трех полиморфизмов генов *MMP2* и *MMP9* не выявлено различий в распределении генотипов между больными с АВОА, имеющими ТАК и БАК.

Однако установлено, что вне зависимости от морфологии аортального клапана АА вариант полиморфизма гена *MMP9* (rs11697325) достоверно чаще встречался у пациентов с АВОА (табл. 2) ($\chi^2=7,2$; $p=0,01$). Интересен тот факт, что лица с разными генотипами имели также отличия в диаметре восходящего отдела аорты. Наибольший диаметр был выявлен у пациентов с генотипом АА ($58,2 \pm 3,1$ мм) ($p=0,02$). Напротив, носители генотипов АГ и ГГ имели меньший диаметр аорты ($49,8 \pm 0,8$ мм и $48,8 \pm 1,2$ мм, соответственно). Распределение полиморфных вариантов других SNP *MMP9* (rs2274755, rs17577) в группе больных АВОА принципиально не отличалось от распределения в группе контроля (табл. 2).

Полиморфизм *MMP2* (rs2295053) также ассоциировался с АВОА. При этом генотип СС достоверно чаще встречался в группе больных с АВОА ($\chi^2=7,0$; $p=0,03$) (табл. 2).

Обсуждение

Несмотря на большое количество исследований, до сих пор нет единой картины патогенеза АВОА. Из всех наследуемых синдромов наиболее изучен синдром Марфана, в основе которого лежит мутация гена *FBN1*, кодирующего белок фибриллин 1. Данная патология выявляется у 5% больных АВОА. Однако некоторые SNP гена *FBN1* могут проявляться расширением аорты [6]. К другим наследственным нарушениям соединительной ткани относятся синдром Лойса-Дитца и Элерса-Данло, которые связаны с мутациями в генах *TGFBR1*, *TGFBR2* и коллагена, соответственно.

Наиболее распространенной причиной развития АВОА является БАК как самая частая врожденная аномалия сердца.

Расширение восходящего отдела аорты выявляется в 45-50% случаев БАК, из них около 8% осложняется диссекцией [7]. Также при БАК достаточно часто формируется аортальный стеноз. Считается, что возможная причина частого сочетания АВОА с аортальным стенозом заключена в ассоциации обоих заболеваний с БАК [8]. При этом, учитывая наличие изолированных форм АВОА и аортального стеноза, а также отсутствие прямой корреляционной связи между степенью дилатации восходящей аорты и максимальным градиентом на аортальном клапане, все больше ученых приходит к выводу о том, что данные заболевания являются различными проявлениями БАК и не имеют четкой причинной связи между собой. Тот факт, что в нашем исследовании АВОА сочеталась с аортальным стенозом только у 4 больных с ТАК (2%) в сравнении с 52 пациентами с БАК (47%), подтвер-

Таблица 1

Клиническая характеристика больных

	Пациенты с ТАК M±m n=176	Пациенты с БАК M±m n=111	Контроль M±m n=227
Демографические данные			
Средний возраст, лет	57,2±0,9	52,1±1	56,5±1,4
Мужчины, n (%)	126 (72%)	85 (77%)	147 (65%)
ИМТ, кг/м ²	28,5±0,4	28,0±0,5	29,3±0,8
Курение, n (%)	81 (46%)	50 (45%)	132 (58%)
АГ, n (%)	146 (83%)	80 (72%)	166 (73%)
Сахарный диабет, n (%)	13 (7%)	10 (9%)	43 (19%)
Офисное САД, мм рт.ст.	130±1	125±1	126±3
Офисное ДАД, мм рт.ст.	78±1	78±1	80±1
Эхокардиографические данные			
Максимальный диаметр аорты	53,7±0,9	51,9±0,9	34,4±0,5
Индекс диаметра аорты	24,6±0,7	25,5±0,8	17,7±0,3
Аортальный стеноз	4 (2%)	52 (47%)	-

Таблица 2

Распределение генотипов полиморфизмов генов *MMP2* и *MMP9*

Ген	SNP	Генотипы	Группа	Контроль	χ^2	p
<i>MMP9</i>	rs11697325	AA	31	40	7,2	0,01
		AG	201	174		
		GG	55	43		
	rs17577	AA	8	5	0,27	0,87
		AG	90	61		
		GG	205	125		
<i>MMP2</i>	rs2274755	GG	191	132	0,1	0,9
		GT	87	64		
		TT	9	6		
		CC	256	174	7	0,03
<i>MMP2</i>	rs2285053	CT	45	55		

ждает современные представления об отсутствии “постстенотического расширения” аорты [8]. Более того, у всех 4 пациентов имел место грубый кальциноз аортального клапана, при котором невозможно определить истинное количество створок. Таким образом, тяжелый аортальный стеноз у больных с ТАК не является фактором риска развития АВОА, а все случаи упоминания сочетания аортального стеноза с АВОА относятся к больным с БАК.

На примере пациентов с БАК показано влияние гемодинамического компонента на развитие аортопатии. В данном случае речь идет о механическом воздействии на стенку аорты, оказываемом турбулентным и асимметричным током крови, зависящим в большей степени от конфигурации клапана, чем от градиента на нем [9]. Аневризма грудной аорты иногда сочетается и с другими врожденными аномалиями сердца: коарктацией аорты (нередко вместе с БАК), тетрадой Фалло, транспозицией магистральных артерий, открытым артериальным протоком, синдромом Тернера-Шерешевского. Остается неясным, какой фактор — биомеханический или генетический — играет ведущую роль в развитии патологии аорты при данных дефектах.

В одной из работ Ikonomidis JS, et al. выявлены различия в степени повышения содержания и активности матриксных металлопротеиназ (ММП) в стенке аорты у пациентов с БАК в зависимости от того, какие створки аортального клапана срослись [10]. Вместе с тем, открытым остается вопрос, с чем связаны различия в профиле ММП: с генетическими особенностями, которые приводят к разным типам сращений, или отличиями в биомеханике клапанов с неодинаковой конфигурацией и, соответственно, разным ударом о стенку сосуда?

ММП 2 типа — один из важнейших участников формирования АВОА — синтезируется преимущественно гладкомышечными клетками. Клетки этого типа могут менять фенотип с контрактильного на синтетический под воздействием различных факторов — таких, как повышение артериального давления. У пациентов с БАК процесс смены фенотипа протекает быстрее, что, по мнению некоторых авторов, опять же связано с наследственной предрасположенностью.

Вместе с тем, роль наследственности в изменении баланса ММП лучше изучена на примере аневризмы брюшного отдела аорты [11], тогда как для АВОА данные исследования единичны [12, 13]. Группа исследователей из Японии занималась изучением связи полиморфизмов 95 генов с дальнейшим течением заболевания у пациентов, поступивших экстренно с аневризмой грудной аорты. Соответственно, большую часть выборки составляли пациенты с диссекцией. Из 95 генов к семейству ММП принадлежал только полиморфизм гена *ММП1* (rs514921), и именно он имел влияние на прогноз больных в плане выжи-

вания и развития осложнений [12]. В другом исследовании также показана связь полиморфизма гена *ММП1* с АВОА [13]. Показано также увеличение жесткости сосудистой стенки и повышение уровня ММП9 в периферической крови у здоровых лиц — носителей минорного аллеля одного из SNP гена *ММП9*. В рамках настоящего исследования установлена связь между полиморфизмом rs11697325 гена *ММП9* и АВОА с преобладанием генотипа АА в группе больных с патологией аорты. Этот полиморфизм расположен в некодируемом регионе вблизи 5' конца ДНК. Замена нуклеотида в этом участке, по мнению некоторых авторов, может оказывать влияние на транскрипционную активность. При этом не уточняется, происходит ли ее повышение или понижение у лиц с полиморфным вариантом.

Наши результаты вступают в противоречие с исследованием LeMaire A, et al., в котором больные с предрасположенностью к АВОА и диссекции имели другой генотип указанного SNP [14]. Данное отличие может быть связано с целым рядом факторов. Прежде всего, в исследование LeMaire A включено меньшее количество испытуемых (88 больных и 111 контрольных лиц). Кроме того, в группе с АВОА подавляющее большинство (66 человек) было представлено больными с диссекцией аорты, для которых наиболее значимым параметром был исходный диаметр аорты и, следовательно, наличие аневризмы, предшествующей расслоению. Эти данные лишь подтверждают факт необходимости дополнительных исследований, в том числе с изучением активности ММП в тканях у лиц с разными генотипами данного полиморфизма.

В настоящем исследовании впервые выявлена связь между генетическими вариантами полиморфизма гена *ММП2* (rs2285053) и развитием АВОА. Данный полиморфизм расположен в промоторном регионе гена *ММП2*. Доказано, что замена цитозина на тимин в этом участке проявляется в снижении транскрипционной активности, что и обуславливает теоретически более высокий уровень ММП2 у носителей нормального аллеля [15].

Несмотря на отличия в профиле ММП в тканях больных с БАК и ТАК, по данным предыдущих исследований [4, 5], нами не выявлено различий в генотипах между этими подгруппами.

Заключение

Генетические варианты полиморфизмов генов *ММП2* и *ММП9* могут быть дополнительными факторами риска развития аневризмы восходящего отдела аорты, так как достоверно чаще встречаются у лиц с данной патологией. Полиморфизмы генов матриксных металлопротеиназ *ММП* могут иметь прогностическую ценность, о чем свидетельствует ассоциация генотипа АА гена *ММП9* с большим диаметром аорты.

Литература

1. WISQARS Leading Causes of Death Reports, 1999–2006. // HTTP://webappa.cdc.gov : National Center for Injury Prevention and Control. URL: <http://webappa.cdc.gov/sasweb/ncipc/leadcaus10.html> (дата обращения: 22.04.2015).
2. Ehrlich MP, et al. Results of immediate surgical treatment of all acute type A dissections. *Circulation* 2000; 19 (Suppl III): 248-52.
3. Hiratzka LF, et al. Guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 4: 127-29.
4. Irtiyuga OB, Gavriluk ND, Voronkina IV, et al. Pathogenetic mechanisms of ascending aortic aneurysm of varied aetiology. *Russ J Cardiol*. 2013; 99(1): 14-8. Russian (Иртыга О. Б., Гаврилюк Н. Д., Воронкина И. В. и др. Механизмы формирования аневризмы восходящего отдела аорты различной этиологии. *Российский кардиологический журнал*. 2013; 99(1): 14-8).
5. Kostina DA, Voronkina IV, Smagina LV, et al. Functional properties of smooth muscle cells in ascending aortic aneurysm. *Cytologia* 2013; 55(10) 725-31
6. Iakoubova OA, Elefteriades JA, et al. Genetic Variants in FBN-1 and Risk for Thoracic Aortic Aneurysm and Dissection. *PLoS One* 2014; 4: 438-512.
7. Yetman AT, Graham T. The dilated aorta in patients with congenital cardiac defects. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 6: 461-67.
8. Linhartová K, et al. Aortic stenosis severity is not a risk factor for poststenotic dilatation of the ascending aorta. *Circ J*. 2007; 1: 84-8.
9. Robicsek F, et al. The congenitally bicuspid aortic valve: how does it function? Why does it fail? *Ann Thorac Surg*. 2004; 1: 177-85.
10. Ikonomidis JS, et al. Aortic dilatation with bicuspid aortic valves: cusp fusion correlates to matrix metalloproteinases and inhibitors. *Ann Thorac Surg*. 2012; 2: 457-63.
11. Duellman T, Warren CL, Peissig P, et al. Matrix metalloproteinase-9 genotype as a potential genetic marker for abdominal aortic aneurysm. *Circ Cardiovasc Genet*. 2013; 5: 529-37.
12. Yamada Y, et al. Association of a matrix metalloproteinase 1 gene polymorphism with long-term outcome of thoracic aortic aneurysm. *International journal of molecular medicine* 2012; 3: 125-32.
13. Rodríguez I, et al. Low transcriptional activity haplotype of matrix metalloproteinase 1 is less frequent in bicuspid aortic valve patients. *Gene* 2012; 3: 304-8.
14. LeMaire A, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase 9 gene (-8202A/G) is associated with thoracic aortic aneurysms and thoracic aortic dissection. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 5: 1045-52.
15. Price SJ, Greaves DR, Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem* 2001; 5: 7549-58.

Подписка на 2016 г. через сайт издательства*

Российский кардиологический журнал 2016		
Электронная версия (скачивается с сайта в любом из трех предложенных форматов, в течение 2 месяцев после получения уведомительного письма)	12 номеров (годовая подписка)	1080-00 руб
Бумажная версия** (присылается по почте)	12 номеров (годовая подписка)	2280-00 руб
Бумажная версия** + Электронная версия	12 номеров (годовая подписка)	3000-00 руб
Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2016		
Электронная версия (скачивается с сайта в любом из трех предложенных форматов, в течение 2 месяцев после получения уведомительного письма)	6 номеров (годовая подписка)	570-00 руб
Бумажная версия*** (присылается по почте)	6 номеров (годовая подписка)	1140-00 руб
Бумажная версия + Электронная версия	6 номеров (годовая подписка)	1550-00 руб

* Стоимость подписки по прайсу издательства. Подписка осуществляется через сайт www.rosccardio.ru. Оплата подписки осуществляется наличными в отделении Сбербанка (платежное поручение распечатывается через сайт) или электронным платежом через ROBOKASSA (Visa, Mastercard, мобильным телефоном — МТС, Мегафон, Билайн, всеми электронными валютами, наличными через сеть терминалов, через интернет-банки и другими способами).

** Оформление подписки на бумажную версию возможно только по адресу в Российской Федерации. Для подписчиков из стран СНГ и стран Евросоюза подписка осуществляется через подписные агентства.

АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P450 (CYP2C9), ОЦЕНЕННАЯ ПО ЛОЗАРТАНОВОМУ ТЕСТУ, КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ ФАКТОР ПОДБОРА ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ ДОЗЫ ВАРФАРИНА У ПАЦИЕНТОВ В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ПРОТЕЗИРОВАНИЯ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

Арсланбекова С. М.¹, Сычев Д. А.^{2,3}, Мирзаев К. Б.², Казаков Р. Е.³, Смирнов В. В.³, Магомедова Н. М.¹, Голухова Е. З.¹

Цель. Оценить влияние активности гена *CYP2C9* с помощью лозартанового теста на подбор терапевтической дозы варфарина в раннем и отдаленном послеоперационном периоде.

Материалы и методы. В исследование включено 33 пациента с протезированными клапанами сердца. Всем больным определяли носительство генотипов по полиморфному маркеру *CYP2C9* методом ПЦР после предварительного выделения ДНК из цельной крови. Активность *CYP2C9* оценивали по концентрации лозартана и его метаболита (Е-3174) в моче после однократного приема лозартана в дозе 50 мг.

Результаты. Уровень концентрации лозартана и его активного метаболита (Е-3174) в моче являлся прогностическим фактором, определяющим терапевтическую дозу варфарина у кардиохирургических больных в отдаленном послеоперационном периоде.

Заключение. Определение активности *CYP2C9* по концентрации лозартана и Е-3174 при проведении “лозартанового” теста может позволить прогнозировать поддерживающую дозу варфарина в позднем послеоперационном периоде, что может способствовать повышению эффективности и безопасности фармакотерапии у пациентов с протезированными клапанами сердца.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 70–74

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-70-74>

Ключевые слова: протезирование клапанов сердца, антикоагулянтная терапия, варфарин, цитохром P450 (*CYP2C9*), лозартан, лекарственные взаимодействия.

¹ФГБНУ Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева; ²ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования МЗ РФ; ³ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения МЗ РФ, Москва, Россия.

Арсланбекова С. М.* — к.м.н., врач отделения неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии, Сычев Д. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии и терапии, Мирзаев К. Б. — интерн кафедры клинической фармакологии и терапии, Казаков Р. Е. — к.б.н., начальник отдела клинической фармакогенетики и персонализированной медицины, Смирнов В. В. — к.фарм.н., с.н.с., Магомедова Н. М. — к.м.н., врач отделения неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии, Голухова Е. З. — д.м.н., профессор, чл.-корр. РАН, руководитель отделения неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): xodiki10.ru@mail.ru

Е-3174 — активный метаболит лозартана (соответствующий метаболит обозначен курсивом), *CYP2C9* — цитохром P450 2C9, ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота, ЛС — лекарственное средство, МНО — международное нормализованное отношение, МО — метаболическое отношение, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

Рукопись получена 03.03.2015

Рецензия получена 17.03.2015

Принята к публикации 24.03.2015

CYTOCHROME P450 (CYP2C9) ACTIVENESS, EVALUATED VIA LOSARTAN TEST, AS PREDICTION MARKER FOR THE WARFARIN TREATMENT DOSAGE CHOICE IN PATIENTS WITH DELAYED OUTCOMES AFTER HEART VALVES REPLACEMENT

Arslanbekova S. M.¹, Sychev D. A.^{2,3}, Mirzaev K. B.², Kazakov R. E.³, Smirnov V. V.³, Magomedova N. M.¹, Golukhova E. Z.¹

Aim. To evaluate the influence of gene *CYP2C9* activeness via losartan test on the warfarin dosage management in earlier and long-term post-operational periods.

Material and methods. Totally 33 patients included with artificial heart valves. All patients underwent assessment of genes carriage by polymorphic marker *CYP2C9* by PCR after preparing of DNA from whole blood. The activeness of *CYP2C9* was assessed with losartan concentration and its metabolite (E-3174) in urine after single intake of losartan 50 mg.

Results. The level of losartan and its active metabolite (E-3174) in urine was a prognostic marker determining therapeutic dose of warfarin in cardiac surgery patients in long-term post-operation period.

Conclusion. The *CYP2C9* assessment by losartan concentration and E-3174 in “losartan test” might help to determine warfarin treatment dosage in delayed post-operational period that might improve the efficiency and safety of pharmacotherapy in valve prosthesis patients.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 70–74

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-70-74>

Key words: heart valve surgery, anticoagulation, warfarin, cytochrome P450 (*CYP2C9*), losartan, drug interactions.

¹FSBSI Bakulev Scientific Center of Cardiovascular Surgery; ²SBEI APO Russian Medical Academy of Postgraduate Education of the Healthcare Ministry; ³FSBI Scientific Center of Medical Application Products Control of the Healthcare Ministry, Moscow, Russia.

Несмотря на появление значительного числа новых препаратов из группы пероральных антикоагулянтов, для профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с протезированными клапанами сердца используются только антагонисты витамина К, в том числе, варфарин. Вариабельность дей-

ствия этих лекарств зависит от множества причин, среди которых существенную роль играют генетические особенности организма, в том числе полиморфизм генов *CYP2C9*. В то же время активность гена *CYP2C9* у больных с одним и тем же генотипом может варьировать в широких пределах и приводить к под-

бору разных терапевтических доз варфарина. Имеются сообщения, что активность *CYP2C9*, может оцениваться по концентрации лозартана и его метаболита (Е-3174) в биологических жидкостях [1]. Основные исследования, оценивающие активность гена *CYP2C9*, проведены на больных с мерцательной аритмией [2, 3]. Больных с протезированными клапанами сердца существенным образом отличаются большим риском тромбоэмболий и, соответственно, требуют более интенсивного лечения антикоагулянтами. В раннем послеоперационном периоде у пациентов, принимающих варфарин, также возникает необходимость учитывать совместное применение лекарственных средств (ЛС), необходимых для профилактики и лечения послеоперационных осложнений. Вариабельность действия варфарина у таких больных может оказать существенное влияние на безопасность лечения и требует специального изучения.

Цель исследования — оценить влияние активности гена *CYP2C9* с помощью лозартанового теста на подбор терапевтической дозы варфарина в раннем и отдаленном послеоперационном периоде.

Материал и методы

Изучены данные 33 больных с протезами клапанов сердца. Среди обследованных было 19 мужчин и 14 женщин. Возраст больных колебался от 18 до 67 лет. В аортальную позицию было имплантировано 13 протезов, из них 5 двухстворчатых и 8 дисковых. В митральную позицию имплантировано 23 протеза, из них 7 двухстворчатых и 16 дисковых. При имплантации в двух проекциях (аортальном и митральном, $n=3$) оба протеза были одного вида. Ишемическая болезнь сердца, потребовавшая аортокоронарного шунтирования, была выявлена у 3х больных. В отдаленном послеоперационном периоде изучались данные 24 больных (с 5 пациентами была потеряна связь). В раннем послеоперационном периоде у 2х больных, носителей генотипов *CYP2C9**1/*1, на фоне приема варфарина до 10 мг/сут. МНО на 8 день не превышал 1,2, в связи с чем эти пациенты были переведены на синкумар.

Генотипирование и фенотипирование больных проводилось перед протезированием клапанов сердца. На 2-4 сутки после оперативного лечения назначался варфарин, доза подбиралась по стандартной схеме (в соответствии с инструкцией по применению) и рассчитывалась как подобранная, если она обеспечивала стабильный терапевтический уровень гипокоагуляции (для протезов аортального клапана МНО =2,0-3,0, для протезов митрального клапана МНО =2,5-3,5). Контроль уровня МНО проводился аппаратом “Protain” (США).

Кроме антитромботических препаратов пациенты получали дополнительные ЛС, способствующие нормализации сердечной деятельности, профилактике и лечению сердечной недостаточности, коррекции функций других органов и систем, в среднем 11 препа-

ратов в сутки (6-15). Пациенты также получали те или иные препараты, влияющие на фармакокинетику варфарина: антибактериальные препараты, ингибиторы протонного насоса, гепарины, диуретики, нестероидные противовоспалительные средства ($n=33$, 100%), противогрибковые препараты ($n=20$, 66%), амиодарон ($n=13$, 42%), преднизолон ($n=4$, 13%), аспирин и статины ($n=5$, 13%). Период наблюдения за больными в стационаре составил от 14 до 16 дней, в амбулаторных условиях — от 6 до 12 месяцев.

Генотипирование пациентов. Фрагменты генов, содержащих исследуемые полиморфизмы, получали в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР) на амплификаторах моделей “Терцик ТП4-ПЦР01” (научно-производственная фирма “ДНК-технология”, Россия). Амплификацию проводили с использованием праймеров: *CYP2C9**2 (Arg144Cys) — прямой 5'-GGGGAGGATGGAAAACAGAGACTT-3' обратный 5'-CTTCAAACCCCGCTTCACA-3'; *CYP2C9**3 (Ile359Leu) — прямой 5'-CAGAAACCGGAGCCCTGCAT-3', обратный 5'-AGGCTGGTGGGGAGAAGGGCAA-3'. Условия амплификации: денатурация 3 мин при 95°C, Затем следовали 35 циклов. Каждый цикл состоял из 3 стадий: денатурации, отжига и синтеза. Денатурацию проводили в течение 10 секунд при температуре 95°C. Отжиг праймеров — 40 сек при 70°C для *CYP2C9**2, 40 сек — при 65°C для *CYP2C9**3. Синтез — 15 сек при 72°C для *CYP2C9**2, 10 сек — при 72°C для *CYP2C9**3. Аллели различных полиморфных маркеров гена *CYP2C9* идентифицировали путем обработки продуктов ПЦР соответствующими рестриктазами. Рестриктазы Bse3DI и Bme18I “разрезали” соответствующие аллели “дикого типа” (359Ile / *CYP2C9* и 144Arg / *CYP2C9*). Электрофорез проводили в вертикальной камере VE-4 (производство “ДНК-Технология”, Россия) согласно протоколу производителя.

Фенотипирование пациентов. Активность фермента метаболизма варфарина оценивалась до оперативного лечения по концентрации лозартана и его активного метаболита (Е-3174) в моче. После определения концентрации лозартана и его активного метаболита рассчитывалось метаболическое отношение (МО) как отношение значения концентрации активного метаболита к лозартану.

Вечером накануне исследования пациенты принимали лозартан в дозе 50 мг. Утром (не менее 8 ч после приема лозартана) проводился сбор утренней мочи. Отбиралась порция объемом 5 мл. До начала анализа допускается замораживание и хранение при температуре — 15°C. Концентрация лозартана и метаболита Е-3174 определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе “Agilent 1200” с масс-селективным детектором 6120 (“Agilent”, США). В качестве пробоподготовки использовали осаждение балластных веществ мочи

ацетонитрилом. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0,1% раствора муравьиной кислоты в воде с ацетонитрилом (60:40).

Масс-спектрометрический анализ проводился одновременно в трех режимах: 1. SCAN режим в позитивной полярности при значении $m/z=435-427$ (лозартан и его метаболит), фрагментор — 70; 2. SIM режим в позитивной полярности при значении $m/z=362,0$ (кортизол) фрагментор — 70; 3. SIM режим в позитивной полярности при значении $m/z=378,4$ (6-β-гидроксикортизол) фрагментор — 70.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью пакета программ GraphPad InStat.

Результаты

В результате генетического исследования по полиморфному маркеру *CYP2C9* было выявлено 23 пациента носителей генотипа *CYP2C9**1/*1, 8 пациентов — носителей генотипа *CYP2C9**1/*2 и 2 пациента — носителя генотипа *CYP2C9**1/*3. С учетом того, что активность фермента метаболизма варфарина у пациентов с генотипом *CYP2C9**2 и *CYP2C9**3 ниже, по сравнению с носителями генотипа *CYP2C9**1/*1 [4] мы объединили их в одну группу (*CYP2C9*-не*1/*1).

Средний уровень концентрации лозартана в моче у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 составил

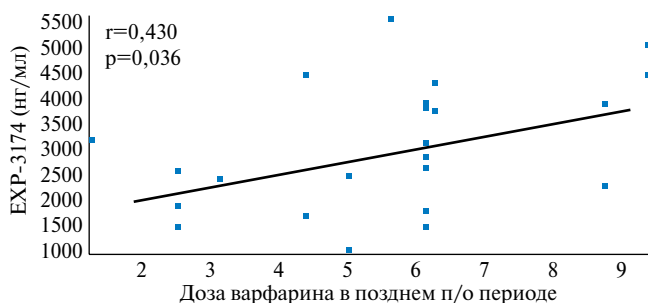


Рис. 1. Корреляция между дозой варфарина и концентрацией активного метаболита (Е-3174) в моче в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов независимо от полиморфизма гена *CYP2C9*.

1307,3 нг/мл (111,10-2740,2 нг/мл). У пациентов с генотипами *CYP2C9*-не*1/*1 средний уровень концентрации лозартана в моче составил 1239,3 нг/мл (106,5-2938,3 нг/мл). Концентрация метаболита лозартана Е-3174 в моче у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 в среднем составила 2406,8 нг/мл (833,6-16147 нг/мл). У пациентов с генотипами *CYP2C9*-не*1/*1 средняя концентрация метаболита лозартана Е-3174 составила 2260,7 нг/мл (268,7-4307,8 нг/мл). У пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 средний уровень МО составил 2,28 (0,71-20,2), у носителей генотипов *CYP2C9*-не*1/*1 средний уровень МО составил 1,855 (0,78-6,120). При этом достоверных различий в значениях концентраций лозартана его активного метаболита и МО в моче у пациентов в зависимости от генотипов *CYP2C9* не отмечалось.

В первую очередь был проведен анализ влияния активности *CYP2C9* на подобранную дозу варфарина в зависимости и вне зависимости от генотипов *CYP2C9*. В результате корреляционного анализа, в раннем послеоперационном периоде влияния концентрации лозартана, активного метаболита Е-3174 и МО на подобранную дозу варфарина выявлено не было. В отдаленном послеоперационном периоде только уровень активного метаболита Е-3174 положительно коррелировал с подобранными дозами варфарина независимо от полиморфизма гена *CYP2C9* ($r=0,43$, $p=0,03$) (рис. 1).

При распределении пациентов в зависимости от генотипов была выявлена корреляционная взаимосвязь лозартана и его активного метаболита с подобранной дозой варфарина в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 ($r=0,5$, $p=0,03$; $r=0,4$, $p=0,05$), в то время как у объединенной группы пациентов с генотипом *CYP2C9*-не*1/*1 корреляционной взаимосвязи не наблюдалось.

Мы разделили пациентов на две группы в зависимости от подобранной дозы варфарина (менее и более 5 мг/сут.) и сравнили у них концентрацию лозартана, его активного метаболита (Е-3174) и МО.

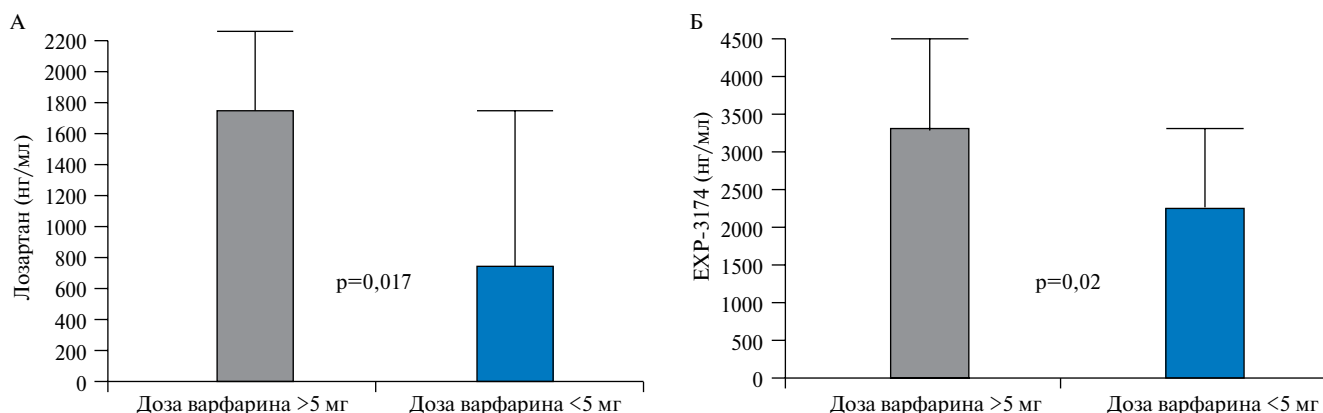


Рис. 2. Концентрация: а) лозартана, б) активного метаболита (Е-3174) в моче в зависимости от подобранных доз варфарина в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1.

В раннем послеоперационном периоде достоверных различий между концентрациями лозартана, метаболита Е-3174 и МО в зависимости от подобранной дозы варфарина выявлено не было. В отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1, при дозе варфарина менее 5 мг/сут. (n=10) концентрация лозартана в моче была достоверно ниже 550,4 нг/мл (111,1-2740 нг/мл) по сравнению с пациентами, принимающими более высокие дозы варфарина (n=7) 1683 нг/мл (895-2389 нг/мл), $p=0,017$ (рис. 2а).

Независимо от полиморфизма гена *CYP2C9* в отдаленном послеоперационном периоде, концентрация активного метаболита Е-3174 в моче была достоверно ниже у пациентов с дозами варфарина менее 5 мг/сут. (n=10) 2257,1 нг/мл (833,6-4332,1 нг/мл) по сравнению с пациентами, получающими дозу варфарина более 5 мг/сут. (n=14) 3627 нг/мл (1317,7-5451,2 нг/мл), $p=0,02$ (рис. 2б). После генетического анализа было выявлено, что к данным различиям в большей степени предрасположены носители генотипа *CYP2C9**1/*1 (n=7, n=10) 2244,7 vs 3275,9 (833,6-4332,2 vs 1317-5451,2 нг/мл) ($p=0,08$) по сравнению с пациентами — носителями генотипа *CYP2C9*-не*1/*1 ($p=0,1$).

У пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 значения МО были выше на фоне низких подобранных доз варфарина (5 мг/сут. и менее) (n=7) по сравнению с пациентами с более высокими дозами варфарина (более 5 мг/сут.) (n=10) 3,32 vs 1,87 (1,58-20,2 vs 0,71-4,09), $p=0,06$. При этом достоверных различий между МО в зависимости от подобранной дозы варфарина у пациентов с генотипом *CYP2C9*-не*1/*1, не наблюдалось ($p=0,1$).

Методом точного критерия Фишера мы сравнили подобранные дозы варфарина в раннем и отдаленном послеоперационном периоде у пациентов в зависимости от концентрации лозартана (более или менее 1000

нг/мл) и активного метаболита Е-3174 (менее и более 2500 нг/мл). В раннем послеоперационном периоде у пациентов, независимо от полиморфизма гена *CYP2C9*, достоверных различий между подобранными дозами варфарина не наблюдалось. В отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1, с концентрацией лозартана в моче более 1000 нг/мл, низкие дозы варфарина (менее 5 мг) отмечались достоверно чаще, чем у пациентов с концентрацией лозартана менее 1000 нг/мл ($p=0,003$) (рис. 3).

У пациентов с концентрацией метаболита Е-3174 в моче менее 2500 нг/мл подобранная доза варфарина была достоверно ниже, чем у пациентов с концентрацией метаболита Е-3174 более 2500 нг/мл независимо от полиморфизма гена *CYP2C9* ($p=0,03$) (рис. 4а). После распределения пациентов в зависимости от полиморфизма гена *CYP2C9* было выявлено, что данное различие наблюдается, в основном, у носителей генотипа *CYP2C9**1/*1 (13% vs 67%, $p=0,04$) (рис. 4б).

Различия между дозами варфарина в зависимости от концентрации лозартана и его активного метаболита Е-3174 у пациентов с генотипом *CYP2C9*-не*1/*1 оказались статистически незначимыми ($p=0,1$; $p=0,4$).

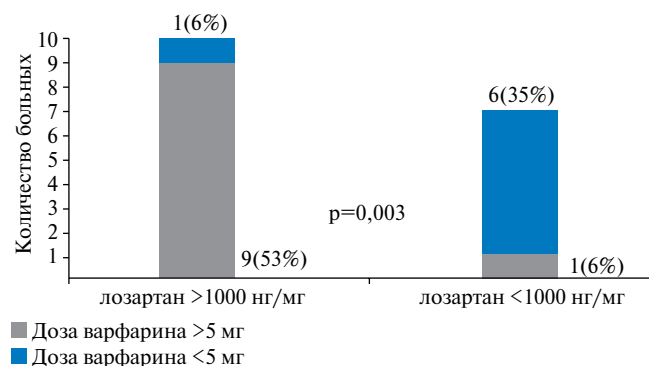


Рис. 3. Подобранные дозы варфарина в отдаленном послеоперационном периоде у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1 в зависимости от концентрации лозартана в моче.

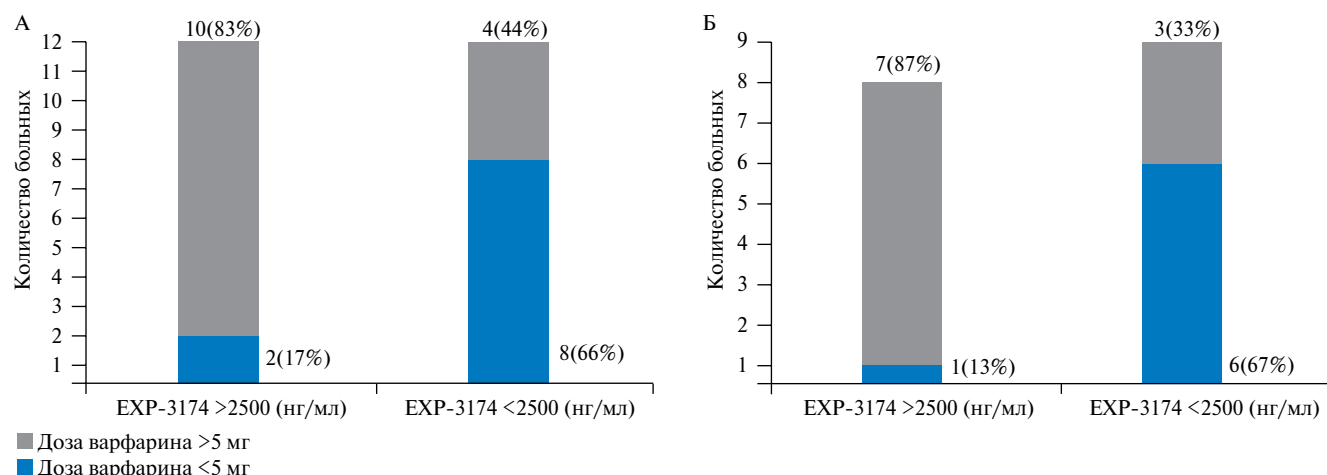


Рис. 4. Распределение пациентов по уровню концентрации активного метаболита (Е-3174) в моче, в зависимости от подобранной дозы варфарина в отдаленном послеоперационном периоде: а) независимо от генетических особенностей; б) пациенты с генотипом *CYP2C9**1/*1.

Обсуждение результатов

В мировой литературе описано достаточно много исследований, посвященных влиянию генетических особенностей больных на антикоагулянтную терапию варфарином. Имеются единичные работы, изучающие активность гена *CYP2C9*, которая играет немаловажную роль в подборе терапевтической дозы варфарина [5-7]. В нашем исследовании мы оценивали не только влияние полиморфизма гена *CYP2C9*, но и его активности (с помощью лозартанового теста) у пациентов с протезированными клапанами сердца. Как известно, у этих больных терапевтический диапазон МНО может варьировать от 2,0 до 3,50 в зависимости от позиции имплантированного клапана, и очень важно удерживать этот показатель в данном диапазоне, что бы не получить тромбоэмболические или геморрагические осложнения.

В нашей работе мы не выявили взаимосвязи между подобранными дозами варфарина и активностью фермента метаболизма варфарина в раннем послеоперационном периоде. Возможно, это связано с сочетанием большого количества ЛС, необходимых для профилактики и лечения послеоперационных осложнений. Дополнительные ЛС приводят к сложным фармакодинамическим и фармакокинетическим процессам в организме и изменяют данные процессы у варфарина. Отметим, что после отмены сопутствующей терапии естественные процессы биотрансформации варфарина восстанавливаются, и у пациентов с более активным ферментом метаболизма варфарина наблюдается необходимость к повышению дозы. В исследовании были получены результаты, позволяющие оценить взаимосвязь между активностью фермента, метаболизирующего варфарин и терапевтической дозой варфарина в отдаленном послеоперационном периоде.

В данном исследовании мы также попытались определить среднюю концентрацию лозартана и его активного метаболита, влияющую на терапевтическую дозу варфарина. В раннем послеоперационном периоде на фоне полифармакотерапии доза варфарина не зависела от концентрации лозартана и его активного метаболита в моче. В отдаленном послеоперационном периоде низкие дозы варфарина (менее 5 мг/сут.) отмечались достоверно чаще у пациентов с генотипом *CYP2C9**1/*1

при концентрации лозартана в моче более 1000 нг/мл. Концентрация активного метаболита Е-3174 в моче менее 2500 нг/мл с чувствительностью 83% и специфичностью 80% прогнозировала выход на “низкие” дозы варфарина (менее 5 мг/сут.) (ОШ 20, ДИ 95%: 2,284-175,13) независимо от полиморфизма гена *CYP2C9*. После отмены дополнительной терапии у пациентов с концентрацией лозартана в моче менее 1000 нг/мл и его активного метаболита более 2500 нг/мл повышается риск снижения МНО ниже терапевтического диапазона, что может приводить к тромботическим осложнениям. Полученные данные могут позволить клиницистам прогнозировать терапевтическую дозу варфарина после отмены сопутствующей терапии и предвидеть высокий риск неэффективной антикоагулянтной терапии.

Заключение

Таким образом, учитывая, что прием варфарина в раннем послеоперационном периоде может приводить к нестабильному коагуляционному ответу организма, тем самым снижая качество жизни и повышая риск летальности, определение полиморфизма гена *CYP2C9* и активности цитохрома Р450 (*CYP2C9*) с помощью лозартанового теста может иметь большое практическое и прогностическое значение. Низкая каталитическая активность цитохрома *CYP2C9* при наличии генетического фактора способствует повышению чувствительности этих пациентов к антикоагулянтному эффекту варфарина. В раннем послеоперационном периоде большое значение в подборе терапевтической дозы варфарина также имеет назначение дополнительных ЛС, необходимых для профилактики и лечения осложнений. У пациентов с нормальной активностью цитохрома Р450 в отдаленном послеоперационном периоде после отмены ЛС, ингибирующих действие варфарина, повышается риск развития тромбоэмболических осложнений, что требует более частого контроля МНО (до стабилизации его терапевтического диапазона).

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Гранта Правительства Российской Федерации № 14. Z50.31.0026.

Литература

1. Yasar U, Forslund-Bergengren C, Tybring G et al. Pharmacokinetics of losartan and its metabolite E-3174 in relation to the *CYP2C9* genotype. Clin. Pharmacol. 2002; 71: 89-98.
2. Joy MS, Dornbrook-Lavender K, Blaisdell J, et al. *CYP2C9* genotype and pharmacodynamic responses to losartan in patients with primary and secondary kidney diseases. Clin Pharmacol. 2009; 65(9): 947-53.
3. Li Z, Wang G, Wang L, et al. Effects of the *CYP2C9**13 allele on the pharmacokinetics of losartan in healthy male subjects. Xenobiotica. 2009; 39(10): 788-93.
4. Yin T, Miyata T. Warfarin dose and the pharmacogenomics of *CYP2C9* and *VKORC1* — rationale and perspectives. Thromb. Res. 2007; 120(1): 1-10.
5. Lindh J, Holm L, Andersson M, et al. Influence of *CYP2C9* genotype on warfarin dose requirements a systematic review and meta-analysis. Eur J Clin Pharmacol. 2009; 65(4): 365-75.
6. Sychev DA, Anikin GS, Belolipetskaya VG, et al. Clinical pharmacogenetics of angiotensin II receptor blockers: new perspectives of pharmacotherapy individualization. Cardiovascular Therapy and Prevention. 2006; 5(2): 100-5. Russian (Сычев Д.А., Аникин Г.С., Белолипецкая В.Г. и др. Клиническая фармакогенетика блокаторов рецепторов ангиотензина II: новые возможности индивидуализации фармакотерапии. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2006; 5(2): 100-5).
7. Michaud V, Vanier M, Brouillette D, et al. Combination of Phenotype Assessments and *CYP2C9*-*VKORC1* Polymorphisms in the Determination of Warfarin Dose Requirements in Heavily Medicated Patients. Clinical pharmacology & therapeutics. 2008; 83(5): 740-8.

ИССЛЕДОВАНИЕ “ПРОТОКОЛ”: ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ В РАМКАХ ПРОЕКТА

Зеленская Е. М.¹, Субботовская А. И.¹, Ганюков В. И.², Кочергин Н. А.², Барбарич В. Б.³, Сараева Н. О.⁴, Выбиванцева А. В.^{4,5}, Апарцин К. А.^{5,6}, Лифшиц Г. И.^{1,6}

Цель. Выявление ассоциации между наличием полиморфизма гена CYP2C19*2 и повторным ранним тромбозом коронарного стента, а также парадоксальным лабораторным ответом на прием клопидогреля у пациентов — жителей Сибирского региона — после острого коронарного синдрома.

Материал и методы. Обследовано 105 человек, госпитализированных для проведения стентирования коронарных сосудов по поводу острого коронарного синдрома, не получавших ранее клопидогрель. Проводилась оценка полиморфизмов гена CYP2C19: *2, *3, *17 аллелей, оценка агрегации тромбоцитов с АДФ до и после приема клопидогреля, конечных точек безопасности и эффективности в течение 30 дней (тромботические осложнения, кровотечения).

Результаты. На исследованной выборке достоверной ассоциации между носительством хотя бы одного аллеля CYP2C19*2 и/или CYP2C19*3 и лабораторной парадоксальной реакцией не обнаружено. Была обнаружена достоверная ассоциация между носительством аллеля CYP2C19*17 и наличием кровотечений. При сравнении групп пациентов, имеющих и не имеющих осложнения, связанные с приемом клопидогреля (как тромботических, так и кровотечений), обнаружено достоверное различие по показателю остаточной агрегации тромбоцитов.

Заключение. Полученные результаты могут быть крайне важны для принятия решений о стратегии двойной антиагрегантной терапии и тактике выбора лекарственных препаратов.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 75–80

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-75-80>

Ключевые слова: CYP2C19, клопидогрель, тромбоз стента, парадоксальная лабораторная реакция, остаточная агрегация тромбоцитов.

¹ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; ²ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных

проблем сердечно-сосудистых заболеваний, Кемерово; ³Региональный сосудистый центр городской клинической больницы №1, Новосибирск; ⁴ГБУЗ Иркутская областная клиническая больница, Иркутск; ⁵ФГБНУ Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск; ⁶ФГБНУ Иркутский научный центр СО РАН, Иркутск, Россия.

Зеленская Е. М. — м.н.с., лаборатории персонализированной медицины, Субботовская А. И. — к.м.н., зав. лабораторией генной диагностики, Ганюков В. И. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Кочергин Н. А. — н.с. лаборатории интервенционных методов диагностики и лечения атеросклероза, Барбарич В. Б. — зав. отделением неотложной кардиологии, Сараева Н. О. — д.м.н., заместитель главного врача по терапевтической помощи, Выбиванцева А. В. — м.н.с., лаборатории клинических исследований, Апарцин К. А. — д.м.н., профессор, зав. лабораторией клинических исследований, заместитель директора ФГБНУ ИНЦХТ по научно-лечебной работе, руководитель отдела медико-биологических исследований и технологий, Лифшиц Г. И.* — д.м.н., зав. лабораторией персонализированной медицины.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): gl62@mail.ru

АТ — антитромбоцитарная терапия, ДАТ — двойная антитромбоцитарная терапия, ОКС — острый коронарный синдром, СКС — стентирование коронарных сосудов, HRM — High Resolution Melt analysis, ПР — показатель резистентности.

Рукопись получена 30.07.2015

Рецензия получена 03.08.2015

Принята к публикации 10.08.2015

THE “PROTOCOL” STUDY: PRELIMINARY RESULTS

Zelenskaya E. M.¹, Subbotovskaya A. I.¹, Ganyukov V. I.², Kochergin N. A.², Barbarich V. B.³, Saraeva N. O.⁴, Vybivantseva A. V.^{4,5}, Apartsin K. A.^{5,6}, Lifshitz G. I.^{1,6}

Aim. To reveal the association of gene polymorphism CYP2C19*2 and recurrent early stent thrombosis in coronary vessels, and paradoxal response to clopidogrel intake in patients — the inhabitants of Siberian Region — after acute coronary syndrome.

Material and methods. Totally 105 patients studied, hospitalized for stenting of coronary arteries in acute coronary syndrome, never received clopidogrel previously. The polymorphism of studied CYP2C19: *2, *3, *17 alleles, as assessment of platelet aggregation with ADP before and after clopidogrel intake, as of endpoints on safety and efficacy during 30 days (thrombotic complications, bleeding).

Results. Within the selected patients there was no any significant association of any CYP2C19*2 and/or CYP2C19*3 alleles and paradoxical laboratory reaction. There was significant association of the CYP2C19*17 gene carriage and bleedings. When comparing the groups of patients having or not having complications related to clopidogrel (thrombotic or bleedings), there was significant difference in residual platelet aggregation.

Conclusion. The results of the study might be strongly significant for the decisions making on double antiplatelet therapy and on the tactics of drugs preference.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 75–80

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-75-80>

Key words: CYP2C19, clopidogrel, stent thrombosis, paradoxal laboratory reaction, residual platelet aggregation.

¹FSBSI Institute of chemical biology and fundamental medicine of SD RAS, Novosibirsk; ²FSBSI Scientific-Research Institute of Complex Problems of Cardiovascular Diseases, Kemerovo; ³Regional Vascular Center of the City Clinical Hospital №1, Novosibirsk; ⁴SBHI Irkutsk of the “Honor Award” Sign Regional Clinical Hospital, Irkutsk; ⁵FSBSI Irkutsk Scientific Center for Surgery and Traumatology, Irkutsk; ⁶FSBSI Irkutsk Scientific Center of SD RAS, Irkutsk, Russia.

Одним из основных препаратов для антитромбоцитарной терапии (АТ) в кардиологии является клопидогрель, использование которого позволяет снизить частоту тромботических осложнений. Клопидогрель применяется у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), включая тех, которым было про-

ведено стентирование коронарных сосудов (СКС). Часто используется двойная АТ (ДАТ), подразумевающая совместный прием клопидогреля и препаратов ацетилсалициловой кислоты [1]. Изменение активности белков, участвующих в транспорте и метаболизме клопидогреля, в частности белков системы

цитохрома P450, особенно *CYP2C19*, является одной из причин неэффективности АТ, манифестирующей тромбозом стента после стентирования коронарных сосудов [2]. Существуют так называемые “медленные” и “быстрые” аллели гена *CYP2C19*, влияющие на метаболизм клопидогреля. 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 [3].

Показано, что пациенты — носители хотя бы одного “медленного” аллеля *CYP2C19*2* имеют более высокую остаточную реактивность тромбоцитов после приема клопидогреля, что ассоциируется с плохим клиническим исходом после установки коронарного стента и повышением вероятности его тромбоза [2, 4, 5]. Так, встречаемость носителей двух полиморфных аллелей *CYP2C19*, определяющих измененный метаболизм, составляет у европеоидов и негроидов 1-8% и 13-23% — у азиатов [6], что является существенным для гетерогенной популяции Сибири [7]. В пилотном исследовании, проведенном в Новосибирске в 2013г, было показано, что среди пациентов, получающих клопидогрель, у 12,5% наблюдалось повышение остаточной реакции тромбоцитов в сравнении с начальной, что значительно больше, чем описано в литературе [8]. Этот феномен получил название парадоксального ответа на клопидогрель.

В 2013г было запланировано и в настоящий момент реализуется проспективное многоцентровое наблюдательное исследование “ПРОТОКОЛ: Персонализированная терапия клопидогрелем при стентировании по поводу Острого Коронарного синдрома с учетом генетических полиморфизмов” с привлечением сосудистых центров Новосибирска (Региональный сосудистый центр городской клини-

ческой больницы №1), Иркутска (Региональный сосудистый центр Иркутской областной клинической больницы), Кемерово (Региональный сосудистый центр НИИ комплексных проблем ССЗ), Сургута (Окружной кардиологический диспансер “Центра диагностики и сердечно-сосудистой хирургии”), куда поступают пациенты — жители Сибирского региона для проведения стентирования коронарных сосудов по поводу острого коронарного синдрома. Протокол и дизайн исследования изложен в публикации в журнале “Качественная клиническая практика” [9]. Исследование одобрено локальными этическими комитетами учреждений-участников проекта, все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

Целью исследования явилась проверка гипотезы о том, что высокая частота встречаемости полиморфного варианта цитохрома *CYP2C19*2* ассоциирована с тромбозом коронарного стента, а также с парадоксальным лабораторным ответом на прием клопидогреля у жителей Сибири, получивших стентирование коронарных сосудов по поводу острого коронарного синдрома.

Материал и методы

На данный момент исследована выборка из 105 пациентов с ОКС, поступивших по экстренным показаниям для проведения коронарографии и стентирования коронарных сосудов и получивших нагрузочную дозу клопидогреля не ранее 2 часов до включения в исследование (табл. 1), и далее принимающих клопидогрель в поддерживающей дозе в течение 30 суток после СКС. Дополнительная характеристика пациентов представлена в таблице 2. Пациенты проходили 4 визита (включение в исследование в момент госпитализации, 48 ± 6 ч после стентирования, день выписки из стационара и 30 ± 3 суток после стентирования) для оценки конечных точек эффективности и безопасности (табл. 3). Сбор данных на визитах 1-3 проведен в форме осмотра и анализа медицинской карты стационарного больного, на визите 4 — в форме телефонного контакта.

Для сравнительного анализа конечных точек эффективности и безопасности пациенты были стратифицированы по носительству аллеля *CYP2C19*2* и выявлению парадоксального лабораторного ответа на прием клопидогреля. Дополнительно для получения пилотных результатов исследовали носительство аллелей *CYP2C19*3* и *CYP2C19*17*, так как эти полиморфные варианты гена *CYP2C19* также влияют на агрегацию тромбоцитов и частоту осложнений: аллель *CYP2C19*3* связан с повышением риска тромботических осложнений, в то время как аллель *CYP2C19*17* ассоциирован с высоким риском кровотечений.

В качестве конечной точки эффективности регистрировали определенный или вероятный тромбоз

Таблица 1

Характеристика пациентов

Показатель	Есть	Нет
ИБС, инфаркт миокарда в анамнезе	16 (15,1)	89 (84,9%)
Повышение АД в анамнезе	76 (72,6%)	29 (27,4%)
ФВЛЖ менее 45%	5 (4,7%)	100 (95,3%)
Почечная недостаточность	1 (0,9%)	104 (99,1%)
СД	15 (14,2%)	90 (85,8%)
Наследственная заболеваемость	13 (12,3%)	92 (87,7%)
Курение	55 (52,3%)	50 (47,6%)
Прием лекарственных препаратов на момент включения в исследование		
Аспирин	17 (16%)	89 (84,0%)
Прием ИПП	0	105 (100%)
Прием варфарина	0	106 (100%)

Таблица 2

Ассоциация клинических показателей с достижением конечных точек эффективности/безопасности

Показатель	Достигнута конечная точка эффективности (тромбоз стента)		Достигнута конечная точка безопасности (кровотечение)		Выявлены любые конечные точки	
	да	нет	да	нет	да	нет
Мужской пол	3	75	2	76	5	72
Артериальная гипертензия	7	70	3	74	10	67
Гиперхолестеринемия анамнестически	3	9	1	11	4	8
Сахарный диабет	4	11	1	14	5	10
Наследственная заболеваемость	1	12	1	12	2	11
Курение	3	52	0	55	3	52
Фракция изгнания левого желудочка менее 45%	1	4	0	5	1	4
Инфаркт миокарда в анамнезе	2	14	1	15	3	13
Почечная недостаточность	0	1	0	1	0	1
Прием аспирина	0	17	2	15	2	15
1 стент	7	81	3	85	10	78
2 стента	0	16	1	15	1	15
>2 стентов	1	1	0	2	1	1
Бифуркационное поражение коронарного сосуда	0	9	0	9	0	9
Применение стента с лекарственным покрытием	0	9	0	9	0	9
Стентирование ПМЖА	3	20	1	22	4	19
Парадоксальный лабораторный ответ	4	19	0	23	4	19
CYP2C19*2	1	17	1	17	2	16
CYP2C19*3	0	3	0	3	0	3
CYP2C19*17	5	47	3	49	8	44

Таблица 3

Дизайн исследования [9]

Процедуры исследования	Визиты			
	1 госпитализация/ включение	2 48±6 ч после СКС	3 День выписки	4 30±3 сут. после СКС
Получение информированного согласия (консилиум при необходимости)	x			
Подтверждение диагноза / показаний к ЧКВ / сбор анамнеза и обследование*	x			
Забор крови на лабораторное обследование, включая агрегацию тромбоцитов* + Кровь на генетическое исследование (2 мл с ЭДТА, 2-8°C)	x	x*		
Регистрация времени от нагрузочной пробы (клопи 300 мг) до забора крови на АгрТ (2ч)	x			
ЧКВ: Регистрация количества и типа стентов; баллонная ангиопластика — выбитие (ок. 15%)	x			
Оценка критериев включения и невключения	x			
Включение пациента	x			
Регистрация переменных (вариант) для сравнительного анализа		x		
Оценка сопутствующей терапии*	x	x	x	x
Определение конечной точки эффективности: определенный или вероятный тромбоз стента согласно Academic Research Consortium (2006)		x	x	x
Определение конечной точки безопасности (кровотечения) по TIMI		x	x	x
Оценка комплаенса по клопидогрелю		x	x	x
Регистрация НЯ/СНЯ		x	x	x

Примечание: * — локальная практика.

коронарного стента (по критериям Academic Research Consortium), конечными точками безопасности являлись большие и умеренные клинически значимые кровотечения (по критериям группы TIMI).

Молекулярно-генетические исследования. Выделение ДНК из образцов цельной крови проводили фенол-хлороформным методом, определение поли-

морфизмов проводили методом HRM (High Resolution Melt analysis).

Оценка лабораторного ответа на клопидогрель. Для оценки лабораторной эффективности клопидогреля проводили определение агрегационной способности с забором крови не позже 2 часов после получения препарата в нагрузочной дозе

Таблица 4

**Ассоциация между наличием хотя бы одного аллеля CYP2C19*2
и/или CYP2C19*3 и лабораторной парадоксальной реакцией**

Аллель CYP2C19	Наличие парадоксальной реакции	Отсутствие парадоксальной реакции	χ^2
CYP2C19*2 + CYP2C19*3	4 (17,4%)	17 (20,7%)	$\chi^2=0,125$
CYP2C19*1 (дикий тип)	19 (82,6%)	65 (79,3%)	p=0,723

Таблица 5

**Ассоциация между наличием хотя бы одного аллеля CYP2C19*2
и/или CYP2C19*3 и значением агрегации тромбоцитов**

	CYP2C19*1 (дикий тип)	CYP2C19*2 + CYP2C19*3	p
Агрегация 1 М (Q25: Q75)	49,0 (30,9: 72,3)	49,6 (26,8: 75,0)	0,832
Агрегация 2 М (Q25: Q75)	26,0 (16,4: 47,7)	25,75 (14,05: 46,8)	0,755
Показатель резистентности М (Q25: Q75)	41,0 (12,0: 63,0)	46,25 (13,38: 54,95)	0,957

Таблица 6

**Ассоциация между наличием хотя бы одного аллеля CYP2C19*2
и/или CYP2C19*3 и конечными точками эффективности и безопасности**

Конечные точки эффективности и безопасности	CYP2C19*1 (дикий тип)	CYP2C19*2 + CYP2C19*3	χ^2
Нет	58 (69%)	15 (71,4%)	$\chi^2=0,045$, p=0,832
Есть	26 (31%)	6 (28,6%)	

600 мг (Агрегация 1), повторное определение проводили через 48 ± 6 часов после завершения процедуры стентирования (Агрегация 2). Метод оценки — оптическая трансмиссионная агрегометрия с использованием АДФ в концентрации 5 мкмоль/л в качестве агониста агрегации.

По результатам показателей агрегации 1 (A_1) и агрегации 2 (A_2) вычисляли показатель резистентности (ПР) тромбоцитов по формуле:

$$\text{ПР (\%)} = (A_1 - A_2) \cdot 100 / A_1 [8].$$

Парадоксальным лабораторным ответом считали любое отрицательное значение ПР.

Статистический анализ. Результаты исследования обрабатывали с использованием пакета программ SPSS v.20.0 и Statistica for Windows 8.0 методами непараметрической статистики. Определяли медиану (М), 25-ю и 75-ю процентиля (верхнюю и нижнюю квартили; Q25:Q75). Для оценки статистической значимости различий выборок использовали критерии Манна-Уитни (парные сравнения) или Крускала-Уоллиса (множественные сравнения) для независимых выборок. Проводили разведочный анализ корреляций Спирмена и регрессионный анализ. Значимость различий качественных данных оценивали с использованием двустороннего точного теста Фишера. Различия считались значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

В рамках промежуточного анализа было принято решение оценивать смешанную группу пациентов-носителей CYP2C19*2 и CYP2C19*3, учитывая аналогичное их действие согласно данным литературы, с пациентами, не имеющими этих аллелей. На собранном массиве данных достоверной ассоциации между носительством хотя бы одного аллеля CYP2C19*2 и/или CYP2C19*3 и лабораторной парадоксальной реакцией не обнаружено (табл. 4)

При оценке взаимосвязи между фактом носительства аллеля CYP2C19*2 и/или CYP2C19*3 и фактическим значением агрегации тромбоцитов, как первой, так и второй точкой измерения, ассоциации также не обнаружено (табл. 5), как и между CYP2C19*2 и CYP2C19*3 и конечными точками эффективности (табл. 6).

Ассоциация лабораторной парадоксальной реакции с конечными точками эффективности и безопасности также не была выявлена (табл. 7).

Таким образом, не получив на данной выборке пациентов подтверждения гипотезы о взаимосвязи между носительством “медленных аллелей” гена CYP2C19, парадоксальной реакцией и развитием конечных точек эффективности и безопасности в рамках первичного промежуточного анализа, исследование в рамках проекта ПРОТОКОЛ было расши-

Таблица 7

Ассоциация парадоксальной реакции и конечных точек эффективности и безопасности

Конечные точки эффективности и безопасности	Есть парадоксальная реакция	Нет парадоксальной реакции	χ^2
Нет	16 (69,6%)	58 (69,9%)	$\chi^2=0,045$, $p=0,832$
Есть	7 (30,4%)	25 (30,1%)	

Таблица 8

Ассоциация между носительством аллеля CYP2C19*17 и наличием кровотечений

Кровотечения	CYP2C19*1	CYP2C19*17	χ^2
Нет	50 (94,3%)	3 (5,7%)	$\chi^2=8,477$, $p=0,004$
Есть	39 (73,6%)	14 (26,4%)	OR=5,983 (1,606-22,293)

Таблица 9

Разведочный анализ корреляций (коэффициент Спирмена) между носительством полиморфизмов CYP2C19*17 и клинико-лабораторными признаками

	Женский пол	АГ в анамнезе	Снижение гемоглобина	Конечная точка безопасности
CYP 2C19*17	-0,28	0,23	-0,279	0,234

рено путем проведения анализа полиморфизма CYP2C19*17. Была обнаружена достоверная ассоциация между носительством аллеля CYP2C19*17 и наличием кровотечений, что соответствует литературным данным [10] (табл. 8).

Разведочный анализ корреляций (коэффициент Спирмена) выявил статистически значимую взаимосвязь между носительством полиморфизма CYP2C19*17 и женским полом $R=-0,28$, наличием артериальной гипертензии в анамнезе $R=0,23$, снижением гемоглобина $R=-0,28$ и наличием конечной точки безопасности в виде геморрагического события (табл. 9)

Регрессионный коэффициент (Multiple R) влияния гетеро- и гомозиготного типа CYP2C19*17 на развитие конечной точки безопасности составил 0,232; $p=0,017$ (табл. 10).

Обсуждение

Гипотеза о том, что носительство “медленных аллелей” CYP2C19*2 и CYP2C19*3 ассоциировано с наличием лабораторной парадоксальной реакции на приём клопидогреля, а также с неблагоприятными исходами в течение 30 дней при проведении промежуточного анализа на данной выборке пациентов, жителей Сибирского региона, не подтвердилась, что противоречит данным ранее проведенного многоцентрового рандомизированного контролируемого исследования TRITON-TIMI [11].

В результате дополнительного анализа подтверждена ассоциация носительства полиморфизма CYP2C19*17 с повышенным риском кровотечений, что соответствует литературным данным [10].

Показана ассоциация между остаточной агрегацией тромбоцитов и неблагоприятными исходами

Таблица 10

Влияние гетеро- и гомозиготного типа CYP2C19*17 на развитие конечной точки безопасности

	Регрессионный коэффициент	p
Конечная точка безопасности	0,232	0,017

в течение месяца (как с тромботическими осложнениями, так и с кровотечениями). Это говорит о высокой прогностической значимости этого параметра.

Высокая остаточная реактивность тромбоцитов на фоне приема клопидогреля может быть обусловлена следующими причинами: сопутствующие заболевания (сахарный диабет, высокий индекс массы тела и др.), генетическая предрасположенность, сопутствующая терапия (ингибиторы протонной помпы и др.); недостаточная комплаентность к проводимой терапии.

В последнее время появились данные о высокой вариабельности тромбоцитарного ответа при лечении клопидогрелем у пациентов, которым было проведено ЧКВ. В литературе накапливается все больше доказательств того, что высокие значения остаточной реактивности тромбоцитов, определенные *in vitro* у пациентов, получающих ДАТ, сопровождается риском таких нежелательных явлений, как тромбоз стента и смерть от сердечно-сосудистых событий [12, 13]. В исследовании RECLOSE [14] у лиц с лабораторной резистентностью к проводимой ДАТ частота тромбоза стента оказалась значительно выше, чем у больных, чувствительных к АТ.

Предварительные результаты исследования ПРО-ТОКОЛ подчеркивают важность динамической

(повторной) оценки агрегации тромбоцитов как показателя эффективности АТ. Между тем, в настоящее время определение агрегации тромбоцитов с АДФ при поступлении и в динамике лечения отсутствует в национальном стандарте лечения пациентов с ОКС. Для реализации этого диагностического подхода требуется широкое дооснащение лабораторий устройствами для агрегометрии с оперативной передачей данных для анализа и коррекции АТ. Данная задача может быть решена путем внедрения отечественного портативного устройства для контроля агрегации, разработанного с учетом возможностей телемедицины.

Заключение

Дальнейшая реализация проекта ПРОТОКОЛ направлена на уточнение особенностей лаборатор-

ного и клинического ответа на терапию клопидогрелем у пациентов с ОКС, жителей Сибирского региона России с учётом их генетических особенностей. Полученная информация может быть крайне важной для принятия решений о стратегии ДАТ и тактике выбора лекарственных препаратов в данной тяжёлой и прогностически неблагоприятной группе, а также для разработки стратегий первичной и вторичной профилактики [15].

Благодарности. Работа выполнена в рамках Госконтракта “Разработка портативного устройства для мультипараметрического контроля функциональных свойств систем свертывания крови человека”, соглашение № 14.607.21.0066, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60714X0025.

Литература

- Dewilde WJM, Oirbans T, Verheugt FWA, et al. Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet* 2013; 381(9872): 1107-15.
- Mega JL, Simon T, Collet JP, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA* 2010; 304(1): 1821-30.
- Ahmad T, Voora D, Becker RC. The pharmacogenetics of antiplatelet agents: towards personalized therapy? *Nat. Rev. Cardiol.* 2011; 8(10): 560-71.
- Harmsze AM, van Werkum JW, ten Berg JM, et al. CYP2C19*2 and CYP2C9*3 alleles are associated with stent thrombosis: a case-control study. *Eur. Heart J.* 2010; 31(24): 3046-9.
- Sibbing D, Stegheer J, Latz W, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2009; 30(8): 916-22.
- Robertson D, Williams GH. Clinical and translational Science: Principles of Human Research. 1st ed. Academic Press, Elsevier; 2009: 579-81.
- Lifshits GI, Danilina ST, Gus'kova EV, et al. The association of genes encoding proteins of hemostasis, with the parameters of hemostasis and peripheral predisposition to atherothrombotic events in patients with cardiovascular disease. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2011; 4: 90-6. Russian (Лифшиц Г.И., Данилина С.Т., Гуськова Е.В., и др. Ассоциация генов, кодирующих белки гемостаза, с параметрами периферического гемостаза и предрасположенностью к атеротромбозам у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кардиоваскулярная терапия и профилактика 2011; 4: 90-6).
- Knauer NJ, Lifshits GI, Voronina EN, et al. Informativeness of genetic markers for optimization of personalized treatment with clopidogrel. *Kardiologiya* 2013; 8: 72-5. Russian (Кнауэр Н.Ю., Лифшиц Г.И., Воронина Е.Н. и др. Информативность генетических маркеров для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелем. Кардиология 2013; 8: 72-5).
- Lifshits G.I., Apartsin K.A. A prospective multicenter study “PROTOCOL: Personalized therapy by clopidogrel after coronary stenting for acute coronary syndromes, taking into account genetic polymorphisms”. *Good Clinical Practice* 2015; 1: 78-86. Russian (Лифшиц Г.И., Апарсин К.А. Проспективное многоцентровое исследование “ПРОТОКОЛ: Персонализированная терапия клопидогрелем при стентировании по поводу Острого Коронарного синдрома с учетом генетических полиморфизмов”. Качественная клиническая практика 2015; 1: 78-86).
- Sibbing D, Koch W, Gebhard D, et al. Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* 2010; 121(4): 512-18.
- Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. *Lancet* 2010; 376(9749): 1312-9.
- Marcucci R, Gori AM, Panizza R, et al. Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up. *Circulation* 2009; 119: 237-42.
- Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet* 2013; 382: 614-23.
- Buonamici P, Marcucci R, Migliorini A, et al. Impact of Platelet Reactivity After Clopidogrel Administration on Drug-Eluting Stent Thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2007; 24: 2312-7.
- Nikolaeva AA, Oteva JA, Egorova NA, et al. The Cabinet of family counseling in a major city of the clinic as the first link in the primary prevention of cardiovascular disease. *Pediatrics* 2001; 80(2): 102-4. Russian (Николаева А.А., Отева Э.А., Егорова Н.А. и др. Кабинет семейного консультирования в крупной поликлинике города как первое звено первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Педиатрия 2001; 80(2): 102-4).

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА G681A ГЕНА *CYP2C19* НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КЛОПИДОГРЕЛЯ ПРИ ЭНДОВАСКУЛЯРНОМ ЛЕЧЕНИИ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА

Репин А. Н., Сергиенко Т. Н., Муслимова Э. Ф., Афанасьев С. А.

Цель. Изучить влияние полиморфизма G681A гена *CYP2C19* на эффективность клопидогреля при плановом эндоваскулярном лечении у больных стабильной ИБС в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа.

Материал и методы. В исследование включено 242 пациента с хронической ИБС, перенесших плановую операцию ангиопластики и стентирования коронарных артерий. При этом 79 (32,6%) больных страдали СД 2-го типа. Все пациенты получали двойную антиагрегантную терапию, включающую препараты ацетилсалициловой кислоты и клопидогрель. Для оценки эффективности клопидогреля проводился тест индуцированной агрегации тромбоцитов с АДФ в концентрациях 2,5 и 5,0 мкМ после суммарной дозы клопидогреля в 300 мг. Генотипирование осуществляли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с использованием коммерческого набора "SNP-экспресс" (НПФ "ЛИТЕХ", г. Москва).

Результаты. В нашей выборке носители аллеля А отличались от гомозигот GG повышенной степенью агрегации тромбоцитов при стимуляции АДФ в концентрации 2,5 мкМ и 5,0 мкМ. При разделении общей выборки в зависимости от наличия СД 2-го типа, указанная ассоциация была выявлена в группе без нарушений углеводного обмена, но не в группе больных сочетанной патологией — ИБС и СД 2-го типа.

У пациентов с генотипом GG, страдающих СД 2-го типа, степень индуцированной агрегации тромбоцитов превышала агрегацию у носителей того же генотипа, но без патологии углеводного обмена. В то же время носители аллеля А без СД 2-го типа не отличались от выборки с сочетанной патологией по степени агрегации тромбоцитов в ответ на АДФ.

Заключение. Таким образом, носительство аллеля А полиморфизма G681A гена *CYP2C19* является фактором риска сниженной эффективности клопидогреля. Наличие сахарного диабета 2-го типа также негативно влияет на чувствительность к клопидогрелю, но только в группе гомозигот GG.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 81–85

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-81-85>

Ключевые слова: ген *CYP2C19*, ишемическая болезнь сердца, коронарное стентирование, агрегация тромбоцитов, сахарный диабет 2 типа.

ФГБНУ Научно-исследовательский институт кардиологии, Томск, Россия.

Репин А. Н.* — д.м.н., профессор, руководитель отделения реабилитации больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, Сергиенко Т. Н. — к.м.н., н.с. отделения реабилитации больных сердечно-сосудистыми заболеваниями, Муслимова Э. Ф. — м.н.с. лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики, Афанасьев С. А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной патологии и генодиагностики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

ran_12@mail.ru, ran@cardio-tomsk.ru

АДФ — аденозиндифосфат, АСК — ацетилсалициловая кислота, ДАТ — двойная антиагрегантная терапия, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ИМ — инфаркт миокарда, ОКС — острый коронарный синдром, ПЦР — полимеразная цепная реакция, СД 2-го типа — сахарный диабет 2-го типа, СЛП — стент с лекарственным покрытием.

Рукопись получена 24.08.2015

Рецензия получена 26.08.2015

Принята к публикации 02.09.2015

GENE *CYP2C19* POLYMORPHISM G681A INFLUENCE ON THE EFFICACY OF CLOPIDOGREL IN ENDOVASCULAR TREATMENT OF ISCHEMIC HEART DISEASE COMORBID WITH TYPE 2 DIABETES

Repin A. N., Sergienko T. N., Muslimova E. F., Afanasyev S. A.

Aim. To research on the influence of polymorphism G681A gene *CYP2C19* on efficacy of clopidogrel for planned endovascular treatment in stable CHD with second type diabetes.

Material and methods. Totally 242 patients included, with chronic CHD, underwent planned angioplastics and stenting of coronary arteries. Of those 79 had 2nd type DM. All patients received double antiplatelet therapy, including acetylsalicylic acid and clopidogrel. For efficacy evaluation, we performed the test of induced platelet aggregation with ADP in 2,5 and 5,0 mcM concentrations after total dose of clopidogrel 300 mg. Genotyping was done with allele-specific polymerase chain reaction with commercial panel "SNP-express" (SPC "LITECH", Moscow).

Results. In our selection, the carriers of allele A differed from homozygous GG with an increased grade of platelet aggregation in ADP stimulation, concentrations 2,5 mcM and 5,0 mcM. While selecting subgroups according to diabetes existence, the mentioned association was found in non-diabetic group, but not in comorbidity group (CHD and DM).

In GG genotype, patients having 2 type DM showed the grade of induced platelet aggregation higher than in carriers of the same genotype without DM. At the same time, allele A carriers without DM did not differ from comorbidity selection in sense of ADP induced response of platelets.

Conclusion. So, A allele carriage of G681A polymorphism of gene *CYP2C19* is a risk factor for lower clopidogrel efficacy. Diabetes of second type also negatively influences the sensitivity to clopidogrel, but only in GG homozygous.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 81–85

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-81-85>

Key words: gene *CYP2C19*, ischemic heart disease, coronary stenting, platelet aggregation, diabetes mellitus 2 type.

FSBSI Scientific-Research Cardiology Institute, Tomsk, Russia.

В настоящее время больным ИБС, перенесшим ангиопластику и стентирование коронарных артерий, для профилактики тромботических осложнений на протяжении длительного периода реко-

мендуют двойную антиагрегантную терапию (ДАТ), включающую препараты ацетилсалициловой кислоты (АСК) и тиаенопиридины (клопидогрель) [1, 2].

Несмотря на то, что при стентировании коронарных артерий ДАТ продемонстрировала высокую эффективность в снижении числа случаев неблагоприятных сердечно-сосудистых осложнений, выяснилось, что значимая часть больных недостаточно реагирует на терапию антиагрегантами [2]. Мета-анализ 15 исследований, включивших 3960 больных, показал наличие лабораторной резистентности к клопидогрелю в среднем у 25% больных [3]. Резистентность к клопидогрелю может определяться увеличением уровня аденозиндифосфата (АДФ), изменением реактивности других путей активации тромбоцитов, вариативностью рецепторов P2Y₁₂ по количеству и сродству к антиагреганту, а также изменением активности белков, участвующих в транспорте и метаболизме клопидогреля [3-5].

Клопидогрель является пролекарством, всасываемым в желудочно-кишечном тракте и метаболизирующимся в печени при участии белков системы цитохрома-P450, в частности белка CYP2C19. Активный метаболит необратимо ингибирует связывание АДФ с рецепторами P2Y₁₂. Это приводит к уменьшению активации комплекса GPIIb/IIIa и угнетению агрегации тромбоцитов. Существует значительная межиндивидуальная вариативность в скорости трансформации и эффективности клопидогреля, которая зависит от полиморфизмов генов, кодирующих изоформы цитохрома P450 [6]. Известно, что наибольшую роль в метаболизме клопидогреля играет ген CYP2C19 (MIM ID 124020). Описаны мутации этого гена, результатом которых является синтез белка с низкой метаболической активностью. Одна из них, CYP2C19*2 (rs4244285), заключается в замене гуанина (G) на аденин (A) в 681 (681G-A) положении в экзоне 5, что приводит к синтезу нефункционального белка [1].

Помимо генетических предикторов, на течение ИБС и эффективность лекарственных препаратов оказывают влияние другие факторы риска, в том числе метаболические. В развитых странах наблюдается увеличение частоты гипергликемии и сахарного диабета 2-го типа (СД). Известно, что у лиц, страдающих СД 2-го типа, риск развития сосудистой патологии, в том числе поражений коронарных артерий, возрастает в 2-4 раз. В свою очередь, сочетание СД 2-го типа и коронарной недостаточности более чем в 4 раза повышает риск летального исхода [7].

Таким образом, актуальным является анализ влияния полиморфизма G681A гена CYP2C19 на эффективность клопидогреля при плановом эндоваскулярном лечении у больных стабильной ИБС в сочетании с сахарным диабетом 2 типа.

Материал и методы

В наше исследование были включены 242 пациента с хронической ИБС (200 мужчин и 42 жен-

щины), не состоящих в родстве и сопоставимых по социально-экономическому и этническому статусу. Все пациенты поступали в плановом порядке в кардиологический стационар с целью проведения плановой операции ангиопластики и стентирования коронарных артерий, где им назначалась стандартная антиангинальная и двойная дезагрегантная терапия, включающая препараты ацетилсалициловой кислоты и клопидогрель в соответствии с рекомендациями Европейского общества кардиологов, 2013 [8].

Всем пациентам было проведено общеклиническое обследование, по результатам которого определялись показания к эндоваскулярной реваскуляризации коронарных артерий. Среди обследованных лиц 79 (32,6%) пациентов страдали сахарным диабетом 2-го типа.

Для оценки эффективности клопидогреля проводился тест индуцированной агрегации тромбоцитов с использованием АДФ в концентрациях 2,5 и 5,0 мкМ после суммарной дозы клопидогреля в 300 мг. Регистрация проводилась с использованием оригинальных реактивов на приборе AggRAMTM (Helena Laboratories, Великобритания). Лабораторная резистентность диагностировалась, если степень агрегации тромбоцитов превышала 68%. При агрегации в пределах от 45 до 68% делали заключение о недостаточной эффективности препарата. Степень агрегации тромбоцитов менее 45% считалась показателем нормальной эффективности антиагрегантной терапии.

Выделение ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью набора реагентов "Wizard Genomic DNA Purification Kit" ("Promega", USA) по предлагаемому фирмой протоколу. Амплификацию выполняли методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции с использованием коммерческого набора "SNP-экспресс" (НПФ "ЛИТЕХ", г. Москва). Детекцию продуктов ПЦР осуществляли электрофоретически в 3% агаровом геле с добавлением бромистого этидия.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакет программ SPSS v.13.0 (IBM, USA). Для анализа количественных данных использовали тест Манна-Уитни или тест Краскела-Уоллиса (для К независимых групп с поправкой Бонферрони). Результаты представлены как медиана и интерквартильный размах [Me (Q₁; Q₃)]. Для сравнения дискретных величин использовали критерий χ^2 Пирсона или двусторонний точный тест Фишера. Результаты представлены в виде абсолютных и относительных частот. Для всех видов анализа статистически значимыми считались различия при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

В исследуемой выборке генотип GG полиморфизма G681A выявлен у 192 (79,3%) пациентов, гено-

Таблица 1

Ассоциация полиморфизма G681A гена *CYP2C19* с чувствительностью к клопидогрелю у больных ИБС

Показатель	Группы пациентов			
	GG	GA	AA	GA+AA
Возраст, годы	58 (53; 63)	56 (50; 61)	67 (60; 72)	56 (50; 62)
Реакция на клопидогрель, п (%):				
— резистентность	16 (10,3)	6 (14,6)	0	6 (13,0)
— слабая реакция	38 (24,4)	13 (31,7)	2 (40,0)	15 (32,6)
— норма	102 (65,4)	22 (53,7)	3 (60,0)	25 (54,3)
Агрегация с АДФ (2,5 мкМ), %	32,1 (23,6; 41,3) (n=127)	38,0 (30,1; 46,3) (n=34)	38,5 (20,9; 40,0) (n=5)	38,1 (30,0; 43,9) (n=39)
Агрегация с АДФ (5,0 мкМ), %	46,0 (37,5; 55,4) (n=142)	51,3 (44,4; 59,3) (n=39)	55,9 (47,6; 57,4) (n=5)	51,3 (43,3; 59,3) (n=44)

Сокращение: АДФ — аденозиндифосфат.

Таблица 2

Эффективность клопидогреля у носителей разных вариантов полиморфизма G681A гена *CYP2C19* при наличии и отсутствии сахарного диабета 2-го типа

Показатель	Группы пациентов				
	ИБС		p	ИБС + СД 2	
	GG	GA+AA		GG	GA+AA
Возраст, годы	57 (53; 61)	54 (49; 58)	0,032	62 (52; 69)	61 (57; 65)
Реакция на клопидогрель, n (%)			0,377		
— резистентность	9 (8,2)	4 (14,3)		7 (15,6)	2 (11,8)
— слабая реакция	25 (22,7)	8 (28,6)		13 (28,9)	7 (41,2)
— норма	76 (69,1)	16 (57,1)		25 (55,6)	8 (47,1)
Агрегация с АДФ (2,5 мкМ), %	31,1 (22,3; 39,6) (n=90)*	38,1 (30,1; 43,8) (n=25)	0,041	37,7 (29,6; 45,9) (n=36)*	38,4 (31,6; 43,9) (n=13)
Агрегация с АДФ (5,0 мкМ), %	44,0 (35,3; 53,0) (n=101)*	51,2 (42,0; 57,4) (n=27)	0,041	47,1 (41,6; 64,9) (n=40)*	54,2 (46,0; 60,0) (n=16)

Примечание: p — уровень значимости различий между GG и GA+AA, * и # — p<0,05 при сравнении указанных групп.

Сокращения: ИБС — ишемическая болезнь сердца, СД 2 — сахарный диабет 2-го типа, АДФ — аденозиндифосфат.

тип GA обнаружен у 45 (18,6%) лиц, а носителями генотипа AA оказались только 5 (2,1%) больных ИБС. Частота аллеля G составила 89%, а аллеля A — 11%. Распределение частот генотипов не отклонялось от равновесия Харди-Вайнберга ($p=0,231$). Так как носительство генотипа AA полиморфизма G681A выявлено только у 5 человек, оценка эффективности клопидогреля проводилась как между всеми тремя генотипами (GG, GA, AA), так и между гомозиготами GG и носителями аллеля A (группа GA+AA).

Из 242 обследованных лиц чувствительность к клопидогрелю была определена у 202 пациентов. Из них резистентными оказались 22 (10,9%) больных ИБС, сниженная эффективность в подавлении функциональной активности тромбоцитов зарегистрирована у 53 (26,2%) человек.

У больных с резистентностью к клопидогрелю АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов составила 60,1 (57,1; 70,8)% при АДФ 2,5 мкМ и 78,7 (71,5;

82,3)% при АДФ 5,0 мкМ. Пациенты со сниженной чувствительностью к клопидогрелю имели степень агрегации тромбоцитов при стимуляции АДФ 2,5 мкМ — 43,5 (41,3; 46,4)%, при АДФ 5,0 мкМ — 55,8 (53,0; 61,3)%. Степень агрегации тромбоцитов у пациентов с нормальной реакцией на антиагреганты составила 28,6 (20,6; 33,6)% при АДФ 2,5 мкМ; 41,2 (33,3; 46,3)% при АДФ 5,0 мкМ.

Результаты, представленные в таблице 1, показывают, что гомозиготы AA были старше, чем пациенты с аллелем G. Но носители разных генотипов полиморфизма G681A оказались сопоставимыми по частоте случаев резистентности, слабой чувствительности или нормального ответа на клопидогрель. В то же время степень АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у носителей генотипа GG была меньше, чем у носителей аллеля A как при стимуляции АДФ в концентрации 2,5 мкМ ($p=0,047$ и $p=0,022$), так и при 5,0 мкМ ($p=0,037$ и $p=0,021$).

Это свидетельствует о том, что при генотипах GA и AA клопидогрель менее эффективно подавлял агрегационную активность тромбоцитов, что, в свою очередь, повышает риск тромбозов у больных ИБС.

Далее мы оценили влияние сахарного диабета 2-го типа на эффективность подавления функциональной активности тромбоцитов клопидогрелем у носителей разных аллельных вариантов гена *CYP2C19*. Среди пациентов без СД 2-го типа носителями генотипа AA полиморфизма G681A были только 2 человека, а среди больных ИБС, осложненной СД 2-го типа, обнаружены 3 человека. Так как в каждой из рассматриваемых групп частота генотипа AA мала для статистического анализа, далее мы сравнивали выборки носителей генотипа GG и GA+AA.

В группе больных ИБС без СД 2-го типа гомозиготы GG были старше, чем носители аллеля A, а в группе с нарушениями углеводного обмена — сопоставимы по возрасту (табл. 2). В обеих рассматриваемых группах носители разных генотипов полиморфизма G681A были сопоставимы по частоте встречаемости случаев резистентности и слабого ответа на клопидогрель. Однако среди пациентов без СД 2-го типа носителей аллеля A отличала повышенная степень агрегации тромбоцитов, индуцированной АДФ и в концентрации 2,5 мкМ ($p=0,041$), и в концентрации 5,0 мкМ ($p=0,041$). Следовательно, у данных пациентов выше риск тромботических осложнений на фоне приема клопидогреля по сравнению с гомозиготами GG. В то же время, в группе пациентов с СД 2-го типа гомозиготы GG и носители аллеля A демонстрировали одинаковую АДФ-индуцированную степень агрегации, т.е. носители генотипа GG, страдающие СД 2-го типа, показали такую же чувствительность к клопидогрелю, как и носители аллеля A.

При этом у пациентов с генотипом GG, страдающих СД 2-го типа, степень агрегации тромбоцитов статистически значимо ($p=0,008$ при АДФ 2,5 мкМ и $p=0,047$ при АДФ 5,0 мкМ) превышала агрегацию тромбоцитов у носителей того же генотипа, но без патологии углеводного обмена. В то же время, носители аллеля A без СД 2-го типа не отличались от выборки с сочетанной патологией по степени агрегации тромбоцитов в ответ на АДФ в концентрации 2,5 мкМ ($p=0,977$) и 5,0 мкМ ($p=0,500$).

Обсуждение

В современной клинической практике, несмотря на эффективность ДАТ в предотвращении тромботических осложнений при стентировании коронарных артерий, не теряет актуальности проблема резистентности к клопидогрелю и АСК, в том числе обусловленная генетическими факторами [5, 9]. Существует достаточное количество исследований, подтверждающих ассоциацию аллеля A (*CYP2C19**2) полимор-

физма G681A гена *CYP2C19* с высоким риском повторных ишемических осложнений и тромбозов стентов после ЧКВ. Так, в исследовании TRITON-TIMI 38 среди носителей аллеля *CYP2C19**2 отмечалось увеличение частоты инфаркта миокарда, инсульта и риска тромбоза стента по сравнению с лицами, не являющимися носителями упомянутого аллеля, на фоне лечения клопидогрелем [10]. Среди пациентов, перенесших инфаркт миокарда и получавших клопидогрель, в долгосрочном периоде риск сердечно-сосудистых событий был в 2 раза выше (а после ЧТКА — в 3,5 раза выше) среди носителей любых двух неблагоприятных аллелей — *2, *3, а также *4 и *5 гена *CYP2C19*, нежели среди носителей нормального генотипа. Аналогичные результаты получены и среди 160 японских пациентов, получавших клопидогрель после ЧТКА, в котором у носителей аллелей, обуславливающих низкую метаболическую активность фермента, была отмечена более высокая частота тромбоза стентов [11].

Полученные в нашем исследовании результаты показали, что в выборке больных хронической ИБС носители аллеля A полиморфизма G681A были менее чувствительны к действию клопидогреля по сравнению с гомозиготами GG, что проявлялось в более высокой степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов после суммарной дозы антиагреганта в 300 мг. В свою очередь, повышенная степень агрегации тромбоцитов на фоне приема клопидогреля является фактором риска отдаленных тромботических осложнений после стентирования коронарных артерий.

В то же время не только генетические полиморфизмы являются предикторами тромботических осложнений. Известно, что при сахарном диабете 2-го типа возникают гемокоагуляционные и реологические нарушения, характеризующиеся повышением агрегационной активности тромбоцитов [12, 13].

В нашем исследовании мы оценили влияние сахарного диабета 2-го типа на эффективность клопидогреля у носителей разных полиморфных вариантов гена *CYP2C19*. Мы выявили, что различия в степени АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов между носителями генотипа GG и аллеля A наблюдались только в группе больных ИБС, не осложненной СД 2-го типа. При этом степень агрегации была более высокой у пациентов с аллелем A. В то же время в группе с СД 2-го типа показатели агрегации в ответ на стимуляцию АДФ оказались сопоставимыми между гомозиготами GG и лицами с генотипами GA и AA. Кроме того, у пациентов с генотипом GG, страдающих СД 2-го типа, степень агрегации тромбоцитов превышала агрегацию тромбоцитов у носителей того же генотипа, но без патологии углеводного обмена. Таким образом, наличие сахарного диабета 2-го типа приводило к уменьшению чувствительно-

сти к клопидогрелю у носителей генотипа GG, тем самым приводя к возрастанию риска тромботических осложнений.

Заключение

В настоящее время стало очевидно, что реакция пациентов с одной и той же болезнью на одно и то же лекарство различается, что приводит к значительным колебаниям в эффективности применения и оценки безопасности препарата. Несмотря на полученные

доказательства влияния гена *CYP2C19* на эффективность клопидогреля, остается множество нерешенных вопросов в отношении коррекции антиагрегантной терапии клопидогрелем у носителей определенных аллелей гена *CYP2C19*, а также в экономической эффективности внедрения фармакогенетического тестирования. Становится необходимым проведение дальнейших исследований генетических факторов риска прогрессирования ИБС и возможностей их внедрения в клиническую практику [14].

Литература

- Simon T, Verstuyt C, Mary-Krause M, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009; 360: 363-75.
- Gratsiansky NA. Antiplatelet therapy for coronary heart disease. Some of the challenges and achievements. *Atherothrombosis* 2010; 1: 2-54. Russian (Грацианский Н.А. Анти тромботическая терапия при коронарной болезни сердца. Некоторые проблемы и достижения. *Атеротромбоз* 2010, 1: 2-54).
- Combescur C, Fontana P, Mallouk N, et al. Clinical implications of clopidogrel non-response in cardiovascular patients: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2010; 8(5): 923-33.
- Rebrova TY, Muslimova EF, Afanayev SA, et al. Resistance to clopidogrel and P2RY12 genes polymorphisms and JPII in patients with coronary heart disease. *Clin Medic* 2013; 8: 29-31. Russian (Реброва Т.Ю., Муслимова Э.Ф., Афанасьев С.А. и др. Резистентность к клопидогрелю и полиморфизмы генов *P2RY₁₂* и *GPIIb/IIIa* у больных ишемической болезнью сердца. *Клиническая медицина* 2013, 8: 29-31).
- Ganukov VI, Protodopov AV. Medical escorts of percutaneous coronary intervention. *Novosibirsk: Areal*; 2014. Russian (Ганюков В.И., Протопопов А.В. Медикаментозное сопровождение чрескожного коронарного вмешательства. Новосибирск: Ареал; 2014).
- Chernyak Yul, Kolesnikov SI, Chernyak EV. Cytochrome P450: basic understanding, research methods, the value for practical medicine: Stud. method. Irkutsk: Izdatelstvo of University; 2014. Russian (Черняк Ю.И., Колесников С.И., Черняк Е.В. Цитохром P450: основные представления, методы исследования, значение для практической медицины: учеб. метод. пособие. Иркутск: Изд-во ИГУ; 2014).
- Cooper H, Bowen-Jones D. Mortality in type 2 diabetes mellitus: magnitude of the evidence from a systematic review and meta-analysis. *Brit J of Diabetes and Vascular Disease* 2013; 15(7): 192-207.
- 2013 ESC Guidelines on the management of stable coronary disease. *Russ J Cardiol* 2014; 7(111): 7-79. Russian (Рекомендации по лечению стабильной ишемической болезни сердца. ESC, 2013. *Российский кардиологический журнал* 2014; 7 (111): 7-79).
- Buryakina TA, Zateyshchikov DA. The use of reversible inhibitors of P2U12 receptor in acute coronary syndrome. *Kardiologiya* 2012; 52 (4):74-9. Russian (Бурякина Т.А., Затеишчиков Д.А. Место обратимых ингибиторов рецепторов P2Y12 при остром коронарном синдроме. *Кардиология* 2012; 52(4): 74-9).
- Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. for the TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med*. 2007; 357 (15): 2001-15.
- Nishio R, Shinke T, Otake H, et al. Effect of Cytochrome P4502C19 polymorphism on target lesion outcome after drug-eluting stent implantation in Japanese patients receiving clopidogrel. *Circulation* 2012; 76: 2348-55.
- Gruzdeva OV, Kremeno SV, Suslova TE, et al. Hemostasis and glucose metabolism in patients with a combination of diabetes mellitus type 2 and hypertension. *Siberian Medical Journal (Tomsk)* 2008; 23(4): 28-30. Russian (Груздева О.В., Кремено С.В., Суслова Т.Е. и др. Тромбоцитарный гемостаз и показатели углеводного метаболизма у больных с сочетанием сахарного диабета 2-го типа и артериальной гипертензии. *Сибир. мед. Журн. (Томск)* 2008; 23 (4): 28-30).
- Vershinina EO, Repin AN, Ryabova TR, et al. The impact of multifocal atherosclerosis on the early and late outcomes of planned endovascular treatment of ischemic heart disease. *Siberian Medical Journal (Tomsk)* 2013; 28(4): 23-32. Russian (Вершинина Е.О., Репин А.Н., Рябова Т.Р. и др. Ближайшие и отдаленные результаты плановых эндоваскулярных вмешательств на коронарных артериях в зависимости от нарушений углеводного обмена. *Сибир. мед. Журн. (Томск)*. 2013; 28 (4): 25-32).
- Makeeva O. A., Zykov M. V., Golubenko M. V. et al. Role of genetic factors in predicting complications throughout the year after myocardial infarction. *Kardiologiya* 2013; 53(10): 16-23. Russian (Макеева О.А., Зыков М.В., Голубенко М.В. и др. Роль генетических факторов в прогнозировании осложнений на протяжении года после инфаркта миокарда. *Кардиология* 2013; 53(10): 16-23).

СПЕКТРАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ВАРИАбельНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА, ПОЗДНИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ЖЕЛУДОЧКОВ, ТУРБУЛЕНТНОСТЬ РИТМА СЕРДЦА КАК МАРКЕРЫ ТЕЧЕНИЯ КОРОНАРНОЙ ПЕРФУЗИИ ПРИ STEMI

Олейников В. Э.¹, Шиготарова Е. А.², Душина Е. В.¹, Кулюцин А. В.^{1,2}

Цель. Оценка динамики ряда показателей, характеризующих ритмическую деятельность сердца, в зависимости от эффективности фармако-инвазивной реваскуляризации у больных STEMI.

Материал и методы. Включено 56 пациентов со STEMI, которым проведена эффективная по ЭКГ-критериям ТЛТ, через 3-24 ч после которой выполнена коронароангиография со стентированием. До и после проведения ЧКВ проведена телеметрическая регистрация ЭКГ с использованием комплекса "Астрокард® — Телеметрия" (ЗАО "Медитек", Россия). Выполнен автоматизированный анализ спектральных характеристик ВСР, ППЖ, ТСР.

Результаты. При развитии ретромбоза коронарной артерии происходит снижение общей мощности спектра (TotP) ($p=0,001$) и увеличение индекса вагосимпатического баланса (L/H) ($p=0,005$), что указывает на повышение автономной регуляции и децентрализацию управления сердечной деятельностью. Обратная динамика регистрируется после успешного ЧКВ, что может быть связано с восстановлением баланса парасимпатической и симпатической активности при эффективной реваскуляризации. Выявлена тенденция к увеличению продолжительности показателя QRSf в группе больных с ретромбозом, также установлено, что при позднем проведении ЧКВ возрастает показатель RMS ($p=0,04$), что указывает на высокий риск развития электрической нестабильности миокарда у данных пациентов.

Заключение. Маркерами развивающегося ретромбоза инфаркт-связанной коронарной артерии у пациентов со STEMI являются: повышение низкочастотных показателей ВСР (VLf и LfP), снижение общей мощности спектра ВСР, увеличение индекса L/H и увеличение продолжительности QRSf. При позднем проведении ЧКВ регистрируются высокие показатели RMS, что указывает на электрическую нестабильность миокарда у данной категории пациентов. Телеметрический мониторинг ЭКГ у больных STEMI существенно расширяет возможности динамической оценки состояния коронарного кровотока и электрической нестабильности миокарда.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 86–91

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-86-91>

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, поздние потенциалы желудочков, турбулентность сердечного ритма, острый инфаркт миокарда, STEMI, реваскуляризация.

¹ФГБОУ ВПО Пензенский государственный университет, Пенза; ²ГБУЗ Пензенская областная клиническая больница им. Н. Н. Бурденко, Пенза, Россия.

Олейников В. Э.* — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой терапии, Шиготарова Е. А. — врач-кардиолог отделения кардиологии, Душина Е. В. — ассистент кафедры терапии, Кулюцин А. В. — к.м.н., доцент кафедры терапии, заведующий отделением кардиологии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): v.oleynikof@gmail.com

STEMI — ST-elevation myocardial infarction (инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST), TIMI — Thrombolysis in Myocardial Infarction, АД — артериальное давление, АСК — ацетилсалициловая кислота, ВСР — вариабельность сердечного ритма, ЖЭ — желудочковая экстрасистола, иАПФ — ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, КА — коронарная артерия, КАГ — коронароангиография, ОИМ — острый инфаркт миокарда, ППЖ — поздние потенциалы желудочков, ТЛТ — тромболитическая терапия, ТСР — турбулентность сердечного ритма, ЧКВ — чрескожное коронарное вмешательство, ЭКГ — электрокардиограмма.

Рукопись получена 15.10.2015

Рецензия получена 16.10.2015

Принята к публикации 23.10.2015

SPECTRAL HEART RATE VARIABILITY PARAMETERS, DELAYED VENTRICULAR POTENTIALS AND RATE TURBULENCE AS MARKERS OF CORONARY PERFUSION IN STEMI

Oleynikov V. E.¹, Shigotareva E. A.², Dushina E. V.¹, Kulyutsin A. V.^{1,2}

Aim. To assess the dynamics of parameters representing rhythmical activity of the heart related to the efficacy of pharmaco-invasive revascularization in STEMI patients.

Material and methods. Totally 56 STEMI patients included that had undergone effective thrombolysis by ECG criteria of reperfusion, after that in 3-24 hours the coronary arteriography and stenting was done. Before and after PCI the telemetric ECG registration was done via "Astrocard® — Telemetry" (Meditek Ltd., Russia). The automatic analysis of spectral parameters was done for HRV, LVP, RT.

Results. In coronary artery re-thrombosis development there is a decrease of spectrum power (TotP) ($p=0,001$) and increase of vagosympathic balance (L/H) ($p=0,005$) that points on the increase of autonomic regulation and decentralization of heart activity management. Backward dynamics is registered after successful PCI that might be related with the balance restoration between sympathetic and parasympathetic systems in effective revascularization. The tendency revealed to the increase of QRSf in re-thrombosis group and it is shown that in delayed PCI there is a growth of RMS ($p=0,04$), that points on the higher risk of electrical instability development.

Conclusion. The markers of developing re-thrombosis of infarction-related artery in STEMI are increase of lower frequency parameters of HRV (VLf and LfP), decrease of total spectrum power of HRV, increase of L/H index and increase of the duration of QRSf. In delayed PCI there are higher values of RMS that represents electrical instability of myocardium for this type of patients. Telemetric ECG monitoring in STEMI patients significantly increases opportunities of the dynamic evaluation of coronary flow and electrical instability of myocardium.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 86–91

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-86-91>

Key words: heart rate variability, delayed ventricular potentials, heart rate turbulence, acute myocardial infarction, STEMI, revascularization.

¹FSBEI HPE Penza State University, Penza; ²SBHI Penza Region Clinical Hospital n.a. Burdenko, Penza, Russia.

Во всем мире заболеваемость инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI) остается высокой. Госпитальная летальность в странах, входящих в Европейское общество кардиологов, варьирует от 6 до 10%, еще около 12% пациентов перенесших STEMI, умирает в течение 6 месяцев [1].

Снижения летальности и уменьшения инвалидизации больных STEMI удалось добиться после внедрения четкого алгоритма ведения таких пациентов, базирующегося на оценке риска, сокращении сроков начала лечения, максимально широком использовании методов реваскуляризации миокарда [1].

Остается актуальным поиск новых предикторов неблагоприятного прогноза у больных STEMI, выявление и коррекция которых позволили бы улучшить исходы у этой категории пациентов. Малоизучен вопрос динамики ряда показателей мониторингирования ЭКГ в зависимости от течения реперфузии миокарда.

В остром периоде инфаркта миокарда имеет место нарушение автономной вегетативной регуляции сердечной деятельности, приводящее к снижению электрической ритмичности. При этом возрастание тонуса симпатического отдела провоцируют возникновение желудочковых аритмий, а вагусные влияния играют защитную роль. Полагают, что объективным методом оценки баланса симпатической и парасимпатической нервной системы является анализ вариабельности сердечного ритма (BCP) [2]. Ряд работ посвящены анализу показателей BCP на коротких отрезках ЭКГ [3], что представляется нам наиболее обоснованным у больных в остром периоде STEMI, когда необходима оперативная коррекция тактики ведения пациентов, особенно титрация таких средств как бета-блокаторы. Дискутируется вопрос о характере изменений показателей BCP при проведении реперфузионной терапии и возможностях их использования для оценки эффективности реваскуляризации миокарда [4].

Еще одним прогностически важным методом является регистрация поздних потенциалов желудочков (ППЖ), наличие которых связывают с зонами замедленного проведения, возникающими в неоднородно измененном миокарде, когда неповрежденные участки сердечной мышцы перемежаются с ишемизированными или некротизированными. Такое чередование зон нормального и замедленного проведения электрического импульса в сердечной мышце является субстратом для возникновения феномена re-entry [5].

Новым маркером электрической нестабильности миокарда, является турбулентность сердечного ритма (ТСР). Замечено, что вслед за экстрасистолой возникает короткий эпизод синусовой тахикардии, который сменяется периодом брадикардии, а затем частота ритма возвращается к исходным значениям.

Этот феномен связывают с некоторым снижением АД в ответ на эктопический комплекс и рефлекторным учащением сердечного ритма [5]. Таким образом, турбулентность ритма сердца фактически служит отражением барорефлекторной чувствительности, то есть изменения частоты сердечного ритма в ответ на колебания артериального давления.

Цель работы состояла в оценке динамики ряда показателей, характеризующих ритмическую деятельность сердца, в зависимости от эффективности фармако-инвазивной реваскуляризации у больных STEMI.

Материал и методы

Исследование проводилось как простое ретроспективное наблюдение в ГБУЗ “Пензенская областная клиническая больница им. Н. Н. Бурденко”. Объектом исследования явились 70 пациентов, госпитализированных в течение первых 24 ч от момента развития STEMI.

Критерии включения: STEMI; время от начала ангинозного приступа менее 24 ч; успешная ТЛТ, критериями эффективности которой считали снижение амплитуды подъема сегмента ST в отведении с максимальной элевацией более чем на 50% от исходного через 90 минут после окончания ТЛТ [1]. Критериями исключения являлись: нарушения внутрижелудочковой проводимости, затрудняющие анализ девиации сегмента ST; клинически значимые аритмии (синусовый ритм с частотой эктопических сокращений более 10%, фибрилляция предсердий, пароксизмальные тахикардии, миграция водителя ритма); имплантированный искусственный водитель ритма; острое нарушение мозгового кровообращения.

Пациенты, включенные в исследование, получали антикоагулянты, комбинированную дезагрегантную терапию (клопидогрель — нагрузочная доза 300 мг, в дальнейшем 75 мг/сут. + АСК 75-100 мг/сут.) и статины; иАПФ и бета-блокаторы при отсутствии противопоказаний.

Всем больным в интервале от 3 ч до суток после окончания системной ТЛТ выполняли коронарографию (КАГ) со стентированием инфаркт-связанной артерии [1]. Эффективность восстановления коронарного кровотока оценивали по классификации Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI). До и после проведения ЧКВ выполняли телеметрическую регистрацию ЭКГ-динамики с использованием комплекса “Астрокард® — Телеметрия” (ЗАО “Медитек”, Россия) в режиме реального времени. Анализ динамики сегмента ST по 12-ти отведениям осуществлялся в автоматическом режиме с последующей врачебной верификацией.

При автоматизированном спектральном анализе BCP рассчитывались: TotP (мс^2) — общая мощность спектра — суммарный эффект воздействия на ритм

Таблица 1
Общая характеристика пациентов

Показатель	Количество пациентов
Средний возраст, годы (Me [Q25%, Q75%])	58,5 [49;64]
Мужчины, n (%) / женщины, n (%)	47 (83,9%)/9 (16,1%)
Инфаркт миокарда передней стенки ЛЖ, n (%)	32 (57,1%)
Инфаркт миокарда задней стенки ЛЖ, n (%)	24 (42,9%)
ТЛТ алтеплазой, n (%)	27 (48,2%)
ТЛТ тенектеплазой, n (%)	13 (23,2%)
ТЛТ пулолазой, n (%)	16 (28,6%)
Интервал "боль-ТЛТ", мин	113,8 [80;125]
Повышение уровня тропонина, n (%)	56 (100%)
Предшествующий госпитализации прием дезагрегантов, n (%)	10 (17,9%)
Класс сердечной недостаточности по Killip, n (%)	1 кл. — 48 (85,7%) 2 кл. — 5 (8,9%) 3 кл. — 2 (3,6%) 4 кл. — 1 (1,8%)

сердца всех уровней регуляции; ULfP (мс^2) — ультранизкочастотный компонент BCP — активность высших центров регуляции сердечного ритма; VLfP (мс^2) — спектральная мощность в области очень низких частот — активность центральных эрготропных и гуморально-метаболических механизмов регуляции; LfP (мс^2) — низкочастотный компонент BCP, отражающий активность симпатических центров продолговатого мозга; HfP (мс^2) — высокочастотный компонент BCP — активность парасимпатического центра продолговатого мозга; L/H — показатель баланса симпатической и парасимпатической активности [2].

Наличие ППЖ анализировалось автоматически. Оценка наличия ППЖ проводилась на основании отклонения от нормы ширины фильтрованного комплекса QRS (QRSf) >114 – 120 мс, продолжительности низкоамплитудных потенциалов (менее 40 мкВ) в конечной части (HFLA) >38 мс и среднеквадратичного значения последних 40 мс комплекса QRS (RMS) <20 мкВ. При превышении нормальных значений трех показателей говорили о достоверном наличии ППЖ, двух показателей — о возможном наличии ППЖ, в остальных случаях — об отсутствии ППЖ.

При анализе TSP оценивали начало турбулентности (turbulence onset) — TO (%) — это отношение разницы суммы значений первых двух синусовых RR интервалов, следующих за ЖЭ, и последних двух синусовых RR интервалов перед ЖЭ к сумме двух синусовых RR интервалов до ЖЭ или начальное учащение ритма; и наклон турбулентности (turbulence slope) — TS (мс/RR), который рассчитывается как наклон изменений RR интервалов с помощью прямых линий регрессии для каждых 5 RR интервалов из 20 следующих за компенсаторной паузой. Нормальными значениями у взрослых считали TO менее 0 и TS более $2,5$ мс/RR [5].

При статистической обработке использовали пакет прикладных программ Statistica 6.0 компании StatSoftInc. Для количественных нормально распределенных признаков данные представлены в виде среднего значения признака (M), среднего квадратичного отклонения (s). Сравнение групп проводили с использованием критерия t Стьюдента для связанных и несвязанных групп. При асимметричном распределении данные представлены в виде числа наблюдений (n), медианы (Me), интерквартильного интервала [Q 25%; Q 75%]. Сравнение групп проводили с использованием методов непараметрической статистики — критерия Манна-Уитни для связанных групп и критерия Вилкоксона для несвязанных групп. Для сравнения качественных переменных использовали критерий χ^2 с коррекцией на непрерывность по Йетсу. В качестве порогового уровня статистической значимости принято значение $p < 0,05$.

Результаты

Скрининг включал 70 пациентов STEMI. По результатам оценки критериев включения и исключения, в исследование вошло 62 пациента обоего пола. За время наблюдения 6 человек выбыли из исследования в связи технической невозможностью анализа телеметрической записи. Статистический анализ проводили по данным 56 больных, общая характеристика которых представлена в таблице 1.

В качестве фибринолитика у большинства пациентов ($71,4\%$) использовались тканевые активаторы плазминогена. Среднее время от начала болевого синдрома до проведения ТЛТ соответствовало общепринятым рекомендациям по применению ТЛТ.

В соответствии с целью исследования по отсутствию или наличию признаков ретромбоа инфаркт-связанной КА по данным КАГ, больные ретроспективно были разделены на 2 группы.

В группу 1 включено 17 пациентов ($30,4\%$), у которых по данным КАГ обнаруживались признаки тромбоза КА. Учитывая, что согласно критериям включения выполненная ТЛТ была эффективна у всех исследуемых больных, мы рассматриваем выявленный при КАГ тромбоз как возникший повторно, т.е. ретромбоз [6]. В группу 2 вошло 39 больных ($69,6\%$) с резидуальным стенозом КА без признаков тромбоза.

Согласно данным исследования НТ 4, степень тромботической окклюзии коронарной артерии отражает элевация сегмента ST [7], на основании чего в ходе исследования мы уделили особое внимание регистрируемым эпизодам резлевации сегмента ST и рассматривали их как признак развивающегося ретромбоза.

Эпизодом резлевации считали появление переходящего подъема сегмента ST в отведениях, отражающих зону повреждения миокарда, амплитудой $0,1$ мВ и более, продолжительностью не менее 1 минуты, каж-

Таблица 2

Динамика спектральных показателей ВСР при развитии ретромбоза КА (группа 1, n=17)

Показатели	ЭКГ в период относительного благополучия	ЭКГ до эпизода реэлевации сегмента ST	ЭКГ во время эпизода реэлевации сегмента ST	ЭКГ после эпизода реэлевации сегмента ST	ЭКГ после проведения ЧКВ	p
Эпизод (№)	1	2	3	4	5	
TotP, мс ²	3177,8 [1805;4856]	1758,3 [554;2002]	2040,4 [714;3420]	3596,3 [837; 3240]	2438,4 [1360;3589]	p ₁₋₃ = 0,001 p ₃₋₅ = 0,04
ULfP, мс ²	1457,2 [69;1961]	502,5 [36;969]	1186,9 [133;2479]	2191,1 [245;1720]	587,1 [51;955]	нд
VLfP, мс ²	1899,2 [1063;2819]	776,6 [161;665]	816 [301;1504]	1026 [357;1452]	993,7 [268;1292]	нд
LfP, мс ²	938,8 [646;1024]	345 [132;425]	355,1 [121;540]	295,1 [100;379]	393,4 [124;705]	нд
HfP, мс ²	73 [38;73]	130,9 [28;78]	90,6 [44;113]	88,7 [33;95]	99,6 [44;146]	нд
L/H	4,1 [2,4;5,6]	5,8 [3,78;7,33]	4,4 [4,0;5,3]	5,7 [2,7;9,2]	3,6 [2,5;4,6]	p ₁₋₃ = 0,005 p ₃₋₅ = 0,02

Сокращения: HfP (мс²) — мощность волн высокой частоты, LfP (мс²) — мощность волн низкой частоты, L/H — коэффициент вагосимпатического баланса, TotP (мс²) — общая мощность спектра, ULfP (мс²) — мощность волн ультранизкой частоты, VLfP (мс²) — мощность волн очень низкой частоты, Me — медиана, [Q25%, Q75%] — интерквартильный интервал.

Таблица 3

Поздние потенциалы желудочков у больных STEMI

Характеристика ППЖ в зависимости от эффективности ТЛТ			
Показатель	Группа 1, n=17	Группа 2, n=39	p
QRSf, мс	120,8 [103;122]	112 [102;126,5]	0,04
HFLA, мс	34,2 [24;39]	34,1 [28,5;41]	нд
RMS, мкВ	38,3 [19,2;44,2]	35 [17,45;35,3]	нд
Характеристика ППЖ в зависимости от времени проведения ЧКВ			
	Группа А, n=28	Группа В, n=28	
QRSf, мс	113 [106;127]	116±29	нд
HFLA, мс	36 [30;46]	31 [24;40]	нд
RMS, мкВ	31,2 [19,2;54,9]	26±13	0,04

Сокращения: QRSf, мс — длительность фильтрованного интервала QRS, HFLA, мс — длительность низкоамплитудных (<40 мВ) сигналов в конце комплекса QRS, RMS, мкВ — среднеквадратичная амплитуда последних 40 мс комплекса QRS, нд — различия не достоверны.

дый из них считался отдельным событием при интервалах между ними, превышавшими 1 мин. Амплитуду элевации сегмента ST оценивали через 80 мс от точки J.

В группе 1 в среднем регистрировалось 3 [2; 6] эпизода продолжительностью 18±3,5 мин, в большинстве случаев (82,4%) бессимптомных (p=0,05). В данной группе больных показатели ВСР оценивались в периоде относительного благополучия, непосредственно до, во время и после преходящей реэлевации сегмента ST, а также после проведения ЧКВ по 5 эпизодам ЭКГ, длительность которых составляла 12±2,7 мин (табл. 2).

При сравнении двух групп отмечено, что исходные значения низкочастотных показателей в группе 1 выше, чем в группе 2 — VLfP 1899,2 [1063; 2819] и 1159,3 [673; 1447] (p=0,04); LfP 938,8 [646; 1024] и 582,9 [354; 751] (p=0,05), соответственно, что свидетельствует о повышении тонуса симпатической нервной системы при развивающемся ретромбозе. Достоверной динамики показателей TotP, ULfP, HfP и L/H выявлено не было.

Установлено, что по сравнению с исходными значениями вовремя реэлевации ST происходит достоверное снижение TotP на 35,8% (p=0,001) и увеличение индекса L/H на 6,8% (p=0,005), что указывает на повышение уровня автономной регуляции и децентрализацию управления сердечной деятельностью при развивающемся ретромбозе КА. Обратная динамика показателей регистрируется после успешного ЧКВ — увеличение TotP на 17,1% (p=0,04) и повышение L/H на 18% (p=0,02), что может быть связано с восстановлением баланса парасимпатической и симпатической активности при эффективной реваскуляризации миокарда.

Следует подчеркнуть, что в группе 2, где после успешной ТЛТ преходящей динамики сегмента ST не зафиксировано, также не установлено достоверных различий между спектральными показателями ВСР на эпизодах ЭКГ, зарегистрированных до и после проведения ЧКВ.

Оценка показателей ТСР не выявила достоверных различий между группами с развивающимся ретром-

бозом коронарной артерии и благоприятным течением реперфузии. Средние значения показателя TO (начала турбулентности) в группе 1 составили -1,1 [-2,3; 0,33], и -1,9 [-3,42; -0,55] в группе 2. Для показателя TS (наклон турбулентности) средние значения составили 13,9 [1,72; 40,4] и 15 [7; 19,8], соответственно.

При анализе ППЖ отмечено увеличение продолжительности показателя QRSf в группе пациентов с развившимся ретромбозом инфаркт-связанной коронарной артерии (табл. 3), что отражает выраженность фрагментированной активности миокарда у данных больных. Именно этот показатель считается наиболее прогностически ценным при изучении ППЖ. По частоте выявления ППЖ (превышение нормальных значений минимум двух показателей) в анализируемых группах достоверных различий не установлено.

Для оценки влияния сроков проведения ЧКВ на ППЖ, исследуемые были разделены на группы А и В. Группу А составили больные, которым ЧКВ выполнено в первые 6 ч с момента начала болевого синдрома. В группе В ЧКВ проводилось в сроки 6-24 ч от начала заболевания. Деление больных по срокам проведения эндоваскулярного вмешательства позволило выявить достоверное уменьшение показателя RMS у пациентов, которым ЧКВ проводилось в первые 6 ч от начала заболевания (табл. 3).

Обсуждение

Динамика показателей ВСР, ППЖ и ТСР у пациентов STEMI отражает важнейшие патофизиологические процессы, происходящие в острый период инфаркта миокарда — перестройку нейрогуморальной системы организма и изменение электрической активности ишемизированных кардиомиоцитов.

Вопрос о том, как меняется баланс симпатовагальных взаимодействий вегетативной нервной системы при реперфузии миокарда у больных в острый период STEMI, в настоящее время изучен недостаточно и остается открытым.

В основе вегетативной дисфункции с одной стороны может лежать усиление симпато-симпатических и симпато-вагальных рефлексов [8]. С другой стороны, изменение геометрии и метаболизма инфарцированного миокарда во время реперфузии, может приводить к повышению симпатической афферентной стимуляции и рефлекторному снижению тонуса парасимпатического звена вегетативной нервной системы. При этом отмечается снижение ответа клеток синусового узла на афферентную стимуляцию [9].

В многочисленных исследованиях показано, что при остром инфаркте миокарда происходит снижение как временных, так и спектральных показателей ВСР, что является предиктором развития жизнеопасных желудочковых аритмий [2]. Более изученными оста-

ются временные показатели ВСР (в частности, стандартное отклонения интервалов NN (SDNN)), регистрируемых при суточной записи ЭКГ [2]. По данным ряда работ снижение SDNN коррелирует с неблагоприятным прогнозом у больных с острым инфарктом миокарда (ОИМ) [3]. Однако, при использовании 24х-часового мониторинга ЭКГ врач получает информацию с неоправданно длительной задержкой, что существенно ограничивает использование этого метода у больных в острый период инфаркта миокарда.

Более приемлемым методом изучения баланса вегетативной нервной деятельности у данной категории пациентов является анализ спектральных характеристик ВСР на коротких участках ЭКГ. В ранее проведенных исследованиях доказано снижение общей мощности спектра (TotP) при ОИМ в основном за счет снижения вагусных влияний (которые отражает высокочастотный компонент спектра, HfP) и относительное повышение тонуса симпатической нервной системы (низкочастотный компонент спектра, LfP) [2].

Вопрос о динамике показателей ВСР в зависимости от эффективности реперфузии остается открытым. По мнению ряда авторов, на фоне эффективной ТЛТ происходит увеличение тонуса парасимпатической нервной системы, сопровождающееся повышением SDNN и HfP. Это является одной из причин уменьшения частоты развития жизнеопасных аритмий. Оппоненты утверждают, что при восстановлении коронарного кровотока у больных со STEMI, напротив, отмечается гиперсимпатикотония [4]. Bonnemeier H, et al. показали, что при своевременном восстановлении коронарного кровотока (при успешной ТЛТ или первичной ЧКВ) происходит двухфазное изменение тонуса вегетативной нервной системы, которое характеризуется преходящим подавлением тонуса блуждающего нерва с последующей значительной его активацией, а также ослаблением симпатической активности, что соответственно отражается на динамике спектральных и временных характеристик ВСР. При этом проведение реваскуляризации миокарда в сроки более 12 ч от момента начала заболевания не приводит к увеличению SDNN и двухфазному изменению тонуса вегетативной нервной системы [9].

Впервые в настоящем исследовании выявлено достоверное снижение суммарной мощности спектра ВСР (TotP) и увеличение отношения средних значений низкочастотного и высокочастотного компонента ВСР (L/H) у больных с развивающимся ретромбозом коронарной артерии после успешной ТЛТ. Это позволяет рассматривать динамику данных показателей в качестве потенциального неинвазивного маркера состояния коронарной перфузии у больных STEMI.

Единого мнения о значении ППЖ при инфаркте миокарда не сформировано. Наиболее важным пока-

зателем считается длительность фильтрованного интервала QRS. По данным исследования MUSTT (1268 пациентов с ФВ ЛЖ <40% и неустойчивой ЖТ), длительность fQRS >114 мс ассоциировалась с 28% риском аритмических событий в течение 5 лет наблюдения (по сравнению с 17% риском у остальных пациентов) [10]. Однако, в другом исследовании, у 968 обследованных пациентов, перенесших ОИМ с последующей чрескожной реваскуляризацией, ППЖ не обладали прогностической значимостью в отношении внезапной сердечной смерти и жизнеугрожающих аритмий [11].

В настоящей работе, при сравнении пациентов с благополучным течением коронарной реперфузии и ретромбозом инфаркт-связанной артерии по наличию или отсутствию ППЖ, выявлена тенденция к увеличению продолжительности показателя QRSf в группе больных с ретромбозом, также установлено, что при позднем проведении ЧКВ достоверно возрастает показатель RMS, что указывает на высокий риск развития электрической нестабильности миокарда у данных пациентов.

Отклонение от нормы показателей TCP в большинстве исследований рассматривается как маркер неблагоприятного прогноза у больных в разные сроки инфаркт миокарда и ассоциируется с развитием жизнеугрожающих аритмий, что было убедительно продемонстрировано в исследованиях MPIP, EMIAT, ATRAMI, CAST и FINGER [12, 13].

Нами оценивалась возможность использования TCP в качестве показателя, отражающего стабильность восстановления коронарного кровотока по инфаркт-связанной артерии. Достоверных различий между показателями TCP в группах больных с ретромбозом и без получено не было, что, воз-

можно, обусловлено недостаточной статистической мощностью исследования и требует его продолжения.

В настоящей работе для изучения маркеров ритмической деятельности сердца и электрической нестабильности миокарда использовался телеметрический мониторинг ЭКГ, неоспоримым преимуществом которого является возможность анализа ЭКГ пациента в режиме "on-line", что сокращает время, необходимое для коррекции тактики ведения больных очень высокого риска. Представленные данные свидетельствуют о большом и далеко еще не раскрытом в полной мере потенциале телеметрического мониторинга ЭКГ. Можно надеяться на оживление интереса к данной методике у пациентов с ОИМ, чему, несомненно, будет способствовать появление высокоспециализированных систем отечественного производства.

Заключение

Маркерами развивающегося ретромбоза инфаркт-связанной коронарной артерии у пациентов со STEMI являются: повышение низкочастотных показателей BCP (VLfP и LfP), снижение общей мощности спектра BCP, увеличение индекса L/H и увеличение продолжительности QRSf.

При проведении ЧКВ в интервале от 6 до 24 ч от момента начала заболевания регистрируются высокие показатели RMS, что указывает на электрическую нестабильность миокарда у данной категории пациентов.

Телеметрический мониторинг ЭКГ у больных STEMI существенно расширяет возможности динамической оценки состояния коронарного кровотока и электрической нестабильности миокарда.

Литература

1. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *European Heart Journal* 2012; 33 (20): 2569-619.
2. Lahiri MK, Kannankeril PJ, Goldberger JJ. Assessment of autonomic function in cardiovascular disease: Physiological basis and prognostic implications. *J Am Coll Cardiol*. 2008; 51: 1725-33.
3. Kadish A, Buxton A, Kennedy H, et al. ACC/AHA Clinical Competence Statement on Electrocardiography and Ambulatory Electrocardiography. A Report of the ACC/AHA/ACP-ASIM 172. Task Force on Clinical Competence (ACC/AHA Committee to Develop a Clinical Competence Statement on Electrocardiography and Ambulatory Electrocardiography) Endorsed by the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology. *Circulation* 2001; 104: 3169-78.
4. Guljaeva, EN, Berns SA, Karetnikova VN, et al. Dynamics of heart rate variability in thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. *Vestnik of arrhythmology* 2001; 22: 41-3. Russian. (Гуляева Е.Н., Бернс С.А., Каретникова В.Н. Динамика вариабельности ритма сердца в процессе тромболиза у больных с острым инфарктом миокарда. *Вестник аритмологии* 2001; 22: 41-3).
5. Makarov LM, Komoljatova VN, Kuprijanova OO, et al. Russian national guidance on the application of Holter monitoring techniques in clinical practice. *Russ J Cardiol* 2014; 2(106): 6-71. Russian. (Л.М. Макаров, В.Н. Комолятова, О.О. Куприянова и др. Национальные российские рекомендации по применению методики холтеровского мониторирования в клинической практике. *Российский кардиологический журнал* 2014; 2(106): 6-71).
6. Olejnikov VJe, Shigotarova EA, Kuljucin AV, et al. Improvement of rethrombosis diagnostics in steacs patients with use of telemonitoring of ECG. *Russ J Cardiol* 2014; 9(113): 44-9. Russian. (В.Э. Олейников, Е.А. Шиготарова, А.В. Кулюцин и др. Повышение качества диагностики ретромбозов у больных ОКС с подъемом сегмента ST при внедрении телемониторинга ЭКГ. *Российский кардиологический журнал* 2014; 9(113): 44-9).
7. Zeymer U, Schroder R, Tebbe U, et al. Non-invasive detection of early infarct vessel patency by resolution of ST segment elevation in patients with thrombolysis for acute myocardial infarction. Results of the angiographic substudy of the Hirudin for Improvement of Thrombolysis (HIT) 4 trial. *Eur Heart J* 2001; 22(9): 769-75.
8. Rjabykina GV, Sobolev AV. Holter and bifunctional ECG and blood pressure monitoring. М.: Publishing House "Medpraktika — М", 2010. Russian. (Рябыкина Г.В., Соболев А.В. Холтеровское и бифункциональное мониторирование ЭКГ и артериального давления. М.: ИД "Медпрактика — М", 2010).
9. Bonnemeier H, Hartmann F, Wiegand UK, et al. Heart rate variability in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary angioplasty. *Am J Cardiol*. 2000; 85(7): 815-20.
10. Gomes JA, Cain ME, Buxton AE, et al. Prediction of long-term outcomes by signal-averaged electrocardiography in patients with unsustained ventricular tachycardia, coronary artery disease, and left ventricular dysfunction. *Circulation*. 2001; 104: 436-41.
11. Bauer A, Guzik P, Barthel P, et al. Reduced prognostic power of ventricular late potentials in post-infarction patients of the reperfusion era. *European Heart Journal*. 2005; 26(8): 755-61.
12. Huikuri HV, Exner DV. CARISMA and REFINE Investigators. Attenuated recovery of heart rate turbulence early after myocardial infarction identifies patients at high risk for fatal or near fatal arrhythmic events. *Heart Rhythm* 2010; 2: 229-35.
13. Shijahto EV, Bergardt JeR, Parmon EV, et al. Heart rate turbulence in the assessment of the risk of sudden cardiac death. *Vestnik arrhythmology* 2004; 38: 49-55. Russian. (Е.В. Шляхто, Э.Р. Бернгардт, Е.В. Пармон и др. Турбулентность сердечного ритма в оценке риска внезапной сердечной смерти. *Вестник аритмологии* 2004; 38: 49-55).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КЛОПИДОГРЕЛЮ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Мирзаев К. Б.¹, Сычев Д. А.¹, Андреев Д. А.²

Антиагрегантная терапия занимает одну из ведущих позиций в фармакотерапии пациентов с поражением коронарных, церебральных и периферических артерий. Стандартом лечения больных с острым коронарным синдромом является двойная антиагрегантная терапия: ацетилсалициловая кислота в сочетании с блокатором P2Y₁₂-рецепторов. Некоторые генетические особенности пациентов могут приводить к формированию резистентности к антиагрегантной терапии с развитием тромботических осложнений.

Данный обзор литературы призван акцентировать внимание на ряде фармакогенетических особенностей пациентов, приводящих к резистентности антиагрегантной терапии клопидогрелем.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 92–98

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-92-98>

Ключевые слова: клопидогрель, резистентность, фармакогенетика, острый коронарный синдром, CYP2C19, PON-1, CES1, CYP4F2, 5-HTTLPR.

¹ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последиplomного образования МЗ РФ, Москва; ²Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова МЗ РФ, Москва, Россия.

Мирзаев К. Б.* — интерн кафедры клинической фармакологии и терапии, Сычев Д. А. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической фармакологии и терапии, Андреев Д. А. — д.м.н., профессор кафедры неотложной кардиологии.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

karin05doc@yandex.ru

ИМ — инфаркт миокарда, ИБС — ишемическая болезнь сердца, ДАТ — двойная антиагрегантная терапия, ОКС — острый коронарный синдром, ЧКВ — чрескожное коронарное вмешательство, РКИ — рандомизированные клинические исследования, ВОРТ — высокая остаточная реактивность тромбоцитов, ИПП — ингибиторы протонной помпы, ОШ — отношение шансов, ДИ — доверительный интервал, СИОЗС — селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, PLATO — Platelet Inhibition and Patient Outcomes (агрегация тромбоцитов и исходы у пациентов).

Рукопись получена 10.03.2015

Рецензия получена 17.03.2015

Принята к публикации 24.03.2015

GENETICS OF CLOPIDOGREL RESISTANCE: RECENT DATA

Mirzaev K. B.¹, Sychev D. A.¹, Andreev D. A.²

Antiplatelet therapy is one of the most importance in therapy of patients with injured coronary, cerebral and peripheral arteries. The standard of acute coronary syndrome patients treatment is double antiplatelet therapy: acetylsalicylic acid with P2Y₁₂-receptor blocker. Some distinguished genetic specifics might lead to the development of resistance to antiplatelet therapy with further thrombotic complications.

Current review focuses on the pharmacogenetic specifics of patients than lead clopidogrel resistance.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 92–98

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-92-98>

Key words: clopidogrel, resistance, pharmacogenomics, acute coronary syndrome, CYP2C19, PON-1, CES1, CYP4F2, 5-HTTLPR.

¹SBEI APE Russian Medical Academy of Postgraduate Education of the Healthcare Ministry, Moscow; ²First Moscow State Medical University n.a. I. M. Sechenov of the Healthcare Ministry, Moscow, Russia.

Тромбоциты играют ключевую роль в патогенезе атеротромбоза и развитии его клинических последствий: инфаркта миокарда (ИМ), инсульта и окклюзии периферических артерий [1]. Двойная антиагрегантная терапия (ДАТ), включающая ацетилсалициловую кислоту и блокатор P2Y₁₂-рецептора, является стандартом лечения больных с острым коронарным синдромом (ОКС), а также пациентов после чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) [2-4]. Монотерапия ацетилсалициловой кислотой рекомендована при наличии стабильной ишемической болезни сердца, а в случае же непереносимости данного препарата — монотерапия клопидогрелем [2]. Ежедневно указанные ЛС принимают миллионы в различных странах. Так клопидогрель, на сегодняшний день, является одним из самых продаваемых ЛС в мире [5].

Эффективность и неоспоримая польза от применения ДАТ доказана в крупных многоцентровых рандомизированных клинических исследованиях (РКИ) [6-7]. Вместе с тем, серьезной проблемой остается относительно высокая частота развития тромботических событий или кровотечений у части пациентов. Так в исследовании PLATO частота развития смерти от всех причин, ИМ и инсульта в течение 1 года среди больных ОКС, получающих ДАТ, составила 5,9%, 6,9% и 1,3%, соответственно [8]. А среди пациентов, перенесших ЧКВ, частота тромбоза стента может составлять 1-5% [9]. При этом фармакологический ответ на клопидогрель отличается значительной вариабельностью [10], и до 30% больных могут быть резистентными к клопидогрелю (иметь высокую остаточную реактивность тромбоцитов (ВОРТ)) [11]. Новой вехой в развитии антиагрегантной терапии,

позволившей отчасти преодолеть подобные недостатки клопидогреля, стало появление следующего поколения блокаторов $P2Y_{12}$ -рецепторов — прасугрела и тикагрелора [8, 12]. При чем более мощный антиагрегантный эффект проявлялся независимо от начального уровня тромбоцитарной активности [8, 12]. Однако мощное антиагрегантное действие этих препаратов имеет и свою обратную сторону — более высокая частота кровотечений по сравнению с клопидогрелем [8, 12]. Учитывая высокую стоимость новых блокаторов $P2Y_{12}$ -рецепторов (прасугрела, тикагрелора), низкую доступность в некоторых странах, более высокий риск геморрагических осложнений и появление на фармацевтическом рынке менее дорогостоящих генериков, клопидогрель, на текущий момент, остается наиболее часто применяемым блокатором $P2Y_{12}$ -рецепторов в мире [5].

Данный обзор посвящен обобщению известных и обсуждению относительно недавно выявленных генетических факторов развития резистентности к клопидогрелю.

Резистентность к клопидогрелю

Определение. Под резистентностью к клопидогрелю, как правило, понимают развитие тромбоцитарных осложнений у пациентов на фоне приема препарата в рекомендованной дозе. Однако, для более объективной оценки резистентности удобнее применять термин — высокая остаточная реактивность тромбоцитов (ВОРТ) — высокий уровень активности тромбоцитов, определяемый после приема рекомендованной нагрузочной дозы антиагрегантного препарата [13, 14]. Данный термин позволяет дать количественную лабораторную оценку резистентности к антиагрегантам. Но, вместе с тем, до сих пор остается ряд проблем, связанных со стандартизацией методов измерения тромбоцитарной активности и регламентацией оптимальных сроков проведения тестирования.

Особенности метаболизма клопидогреля. Клопидогрель — антиагрегант из группы тиенопиридинов второго поколения, блокирующий $P2Y_{12}$ -рецепторы тромбоцитов. В результате этого развивается необратимое ингибирование связывания фибриногена с $GP_{IIb/IIIa}$ -рецепторами и снижение АДФ-зависимой агрегации тромбоцитов. Однако, поскольку клопидогрель является пролекарством, для проявления антиагрегантного эффекта ему требуется биоактивация в организме человека при участии ферментов системы цитохрома P450. После всасывания до 85% клопидогреля превращается в неактивный метаболит — SR26334, под действием карбоксилэстеразы-1 [15]. А сам процесс всасывания клопидогреля регулируется кишечным транспортером — Р-гликопротеином [16]. Оставшиеся 15% препарата подвергаются двухступенчатой биоактивации с образованием 2-оксо-клопидогреля на первом, и активного метаболита — R-130964 — на втором этапе [15].

При этом, на обоих этапах образования активного метаболита основную роль играет изофермент CYP2C19, меньшее значение имеют: CYP2B6, CYP1A2, CYP3A4, CYP3A5 и CYP2C9 [15].

В развитии ВОРТ при терапии клопидогрелем играют важную роль две принципиально разные группы факторов: клиничко-демографические (в том числе, лекарственные взаимодействия) и генетические [17]. При этом, факторы из обеих групп могут влиять либо на фармакокинетику, либо на фармакодинамику клопидогреля [17]. Основные факторы, ассоциированные с ВОРТ при терапии клопидогрелем, представлены в таблице 1.

Говоря о различных факторах, ассоциированных с нарушением фармакологического ответа на клопидогрель, необходимо упомянуть об интересных результатах, полученных в исследовании Frelinger AL, et al. [17], где изучалось изменение фармакокинетики (Cmax активного метаболита, AUCt) и фармакодинамики (измерение активности тромбоцитов тремя различными методами: до назначения, на 1, 7, 8, 9 день лечения и через 24 часа после девятой дозы клопидогреля под влиянием различных генетических и негенетических факторов. Было обнаружено, что такие известные факторы развития ВОРТ, как полиморфизмы генов *CYP2C19*, *CYP3A5*, *ABCB1* и *PON1*, несоблюдение режима приема препарата, нарушение диеты (прием алкоголя), курение, возраст, вес, пол, количество тромбоцитов, гематокрит, сопутствующая фармакотерапия (в том числе ИПП и статины), а также высокая базальная (до начала лечения) реактивность тромбоцитов, обуславливали всего лишь 18% случаев изменения фармакинетики и от 35 до 65% случаев изменения фармакодинамики клопидогреля [17]. А в исследовании Shuldiner AR, et al. было продемонстрировано, что персональный вклад наиболее значимого генетического маркера *CYP2C19*2* в развитие ВОРТ может составлять около 12% [18].

Генетические факторы, ассоциированные с резистентностью к клопидогрелю. Генетические особенности пациента, ответственные за нарушение фармакологического ответа на клопидогрель, могут нарушать фармакокинетику либо фармакодинамику препарата. В таблице 1 представлены основные гены, полиморфизмы которых влияют на антиагрегантный эффект клопидогреля. Несмотря на достаточно большое количество выявленных генетических маркеров, достаточную доказательную базу и клиническое значение имеет лишь полиморфизм гена *CYP2C19* [19].

Ген *CYP2C19* имеет около 34 аллельных вариантов [20] и кодирует одноименный фермент в организме человека. Данный изофермент, как указывалось выше, играет ключевую роль в двухступенчатой печеночной биоактивации клопидогреля [19]. Наиболее

Таблица 1

Классификация факторов, ассоциированных с нарушением фармакологического ответа при терапии клопидогрелем

Факторы, ассоциированные с нарушением фармакологического ответа на клопидогрел	
Не генетические	Генетические
I. Клинико-демографические: 1. Возраст 2. Почечная недостаточность 3. Пол 4. Индекс массы тела 5. Сахарный диабет 6. Системное воспаление 7. Гематокрит 8. Количество тромбоцитов 9. Уровень фибриногена 10. ОКС 11. Низкая фракция выброса 12. Курение 13. Неадекватная доза	I. Полиморфизмы генов: 1. <i>CYP2C19</i> : a) <i>CYP2C19*2</i> b) <i>CYP2C19*17</i> c) <i>CYP2C19*3</i> , *4, *5, *6, *7, *8 2. <i>CYP2C9</i> 3. <i>CYP3A4</i> 4. <i>CYP3A5</i> 5. <i>ABCB1</i> 6. <i>ABCC3</i> 7. <i>ITGB3</i> 8. <i>IRS-1</i> 9. <i>P2Y₁₂</i> 10. <i>PON-1</i> 11. <i>CYP4F2</i> 12. <i>CES1</i>
II. Взаимодействие с ЛС и фитопрепаратами: 1. Ингибиторы протонной помпы (особенно омепразол) 2. Блокаторы кальциевых каналов 3. Статины 4. Производные кумарина 5. Кетоконазол 6. Морфин 7. Римфацин 8. Зверобой	
III. Низкая приверженность лечению	

распространенными и хорошо изученными однонуклеотидными полиморфизмами являются *CYP2C19*2* (до 30% европеоидной, 40% негроидной и 55% монголоидной расы [21]), который ассоциирован с продукцией изофермента с низкой ферментативной активностью, и *CYP2C19*17* (до 5% монголоидной и до 25% европеоидной и негроидной [22]), связанный с усилением экспрессии гена и образованием изофермента с высокой ферментативной активностью [23]. Другие аллельные варианты (*CYP2C19*3*, *4, *5, *6, *7 и *8) встречаются гораздо реже (менее 1% [24]), а их клиническое значение не имеет достаточных доказательств. В многочисленных исследованиях было продемонстрировано, что носительство *CYP2C19*2* ассоциировано с уменьшением антиагрегантной активности клопидогреля [19], что также подтверждено в последующих метанализах. Так в мета-анализе Mega JL, et al. [25] с включением 9685 пациентов преимущественно перенесших ЧКВ (91%, 55% имели ОКС) продемонстрировано значительное повышение риска комбинированной конечной точки в виде сердечно-сосудистой смерти, инфаркта миокарда или инсульта у носителей одной (ОШ=1,55; 95% ДИ: 1,11-2,27; $p=0,01$) или двух (ОШ=1,76; 95% ДИ: 1,24-2,50; $p=0,002$) аллелей *CYP2C19* со сниженной функциональной активностью по сравнению с неносителями. Кроме того, отмечалось значитель-

ное повышение риска тромбоза стента у носителей одной (ОШ=2,67; 95% ДИ: 1,69-4,22; $p<0,0001$) или двух (ОШ=3,97; 95% ДИ: 1,75-9,02; $p=0,001$) аллелей со сниженной функциональной активностью. Носительство же аллельного варианта *CYP2C19*17* приводит к усилению биотрансформации и повышению антиагрегантного действия клопидогреля, что потенциально может привести развитию кровотечений [26]. Снижение риска ишемических осложнений и повышение риска кровотечения подтверждают результаты двух независимых мета-анализов — Li Y, et al. [27] и Zabalza M, et al. [28]. Тем не менее, клиническое значение *CYP2C19*17*, на сегодняшний день, остается спорным, и ряд исследований подтверждают отсутствие независимого влияния данного полиморфизма на метаболизм клопидогреля [29]. А усиление антиагрегантного действия клопидогреля при высокой частоте носительства *CYP2C19*17* авторы связывают с часто сопутствующим этому, отсутствием или уменьшением частоты носительства *CYP2C19*2* [29].

Изучению ассоциации выше названных генетических факторов (в особенности — *CYP2C19* и *ABCB1*) на фармакологический ответ при терапии клопидогрелем посвящено достаточно много статей в доступной литературе, нам же хочется обратить внимание на ряд менее изученных полиморфных маркеров — *PON-1*, *CES1* и *CYP4F2*.

В 2011г Bouman HJ, et al. доложили о том, что в исследованиях в условиях *in vitro*, параоксигеназа-1 (PON-1) является ключевым ферментом второго этапа биоактивации клопидогреля (образование активного метаболита из 2-оксо-клопидогреля) [30]. Более того, исследователи предположили, что полиморфизм гена *PON-1*, кодирующего одноименный фермент, может обуславливать до 70% вариабельности ответа на клопидогрель. Однако смелые гипотезы авторов не подтвердились в последующем в нескольких независимых исследованиях [31] и мета-анализе [32].

В отличие от *PON-1*, многообещающие перспективы имеются в отношении двух других генов — *CES1* [33] и *CYP4F2* [34].

Ген *CES1* кодирует выработку фермента карбоксилэстеразы-1 (CES1), который участвует в гидролизе многих эндогенных соединений и лекарственных средств [35]. Как указывалось выше, под действием CES1 85% клопидогреля превращается в неактивное производное карбоновых кислот, а остальные 15%, под действием изоферментов цитохрома P450, превращаются сначала в 2-оксо-клопидогрель, а затем в собственно активный метаболит [15]. При этом CES1 гидролизует также производные клопидогреля (2-оксо-клопидогрель и активный метаболит), превращая их в неактивные соединения [15]. Следовательно, полиморфизм гена *CES1* отчасти может быть причиной вариабельности ответа на клопидогрель. Zhu HJ, et al. [36] было установлено, что носительство полиморфизма G143E (rs71647871) гена *CES1* ассоциировано с потерей гидролитической активности карбоксилэстеразы-1, что может стать причиной повышения плазменной концентрации активного метаболита клопидогреля и повышения антиагрегантного эффекта. Действительно, в исследовании RAPI [33] было продемонстрировано, что гетерозиготные носители аллельного варианта 143E имеют статистически значимо более высокую концентрацию активного метаболита клопидогреля ($30,3 \pm 6,1$ против $19,0 \pm 0,4$ нг/мл, соответственно; $p=0,001$) и более выраженное ингибирование тромбоцитов (оптическая агрегометрия — 25% и 45%, соответственно; $p=0,03$) по сравнению с гомозиготными носителями аллеля 143G. Однако разница в частоте развития сердечно-сосудистых событий через год оказалась статистически незначимой (13,7% и 0,0%, соответственно; $p=0,44$). Таким образом, для установления клинического значения полиморфизма гена *CES1* нужны дополнительные исследования.

Не меньший интерес представляет недавно выявленное влияние полиморфизма гена *CYP4F2* на агрегацию тромбоцитов. Ген *CYP4F2* ответственен за выработку одного из изоферментов системы цитохрома P450 — лейкотриена-В (4) омега-гидроксилазы 1, который участвует в метаболизме жирных кислот,

витамина Е, витамина К, эйкозаноидов и противопаразитарных средств [37]. В доступной литературе имеется два исследования, посвященные изучению влияния полиморфизма гена *CYP4F2* на активность тромбоцитов. В исследовании V. Tatarunas, et al. среди 89 больных ИБС, получающих ДАТ, носители генотипа *CYP4F2* GA имели достоверно более высокий уровень агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями генотипа GG ($p=0,04$) или AA ($p=0,01$) [34]. В другом исследовании среди 27 здоровых добровольцев A. Barden, et al. выявлено, что агрегация тромбоцитов у добровольцев — носителей по крайней мере 1 аллели А (*CYP4F2* GA + *CYP4F2* AA) — была значительно выше по сравнению с носителями генотипа *CYP4F2* GG ($p<0,0001$) [38]. Будущие исследования внесут ясность в вопрос о влиянии полиморфизма *CYP4F2* на реактивность тромбоцитов.

Другие причины резистентности к антиагрегантам: недооцениваемая роль полиморфных маркеров генов серотонинэргической системы — 5-HTTLPR

Открытым остается, на сегодняшний день, вопрос наличия высокой базовой реактивности тромбоцитов, то есть наличие пока не уставленных факторов изначально высокой реактивности, не позволяющих в дальнейшем при рациональной антиагрегантной терапии достичь адекватного уровня ингибирования. Одним из таких факторов, возможно, является мутация в генах, кодирующих транспортер серотонина. Как известно, серотонин секретируется в кровь из энтерохромаффинных клеток кишечника, однако его концентрация в плазме, главным образом, регулируется транспортером на плазматической мембране тромбоцитов [39]. В предыдущих исследованиях было показано, что серотонин повышает активность тромбоцитов и, соответственно, их способность к агрегации и тромбообразованию [40]. Говоря иначе, несмотря на адекватное ингибирование пуринаргической системы при ДАТ (клопидогрель, прасугрел, тикагрелор), остается не блокированной еще одна из важных систем активации тромбоцитов — серотонинэргическая. Носительство полиморфизма 5-HTTLPR гена транспортера серотонина, которое приводит к нарушению активности обратного захвата последнего и снижению содержания серотонина было ассоциировано со снижением риска возникновения ИМ [41]. И в таком случае неудивительно, что повышенная же концентрация серотонина тромбоцитов, в исследованиях других авторов, оказалась связана с возрастанием риска ИБС и сердечно-сосудистых осложнений [42]. Отчасти, доказательством влияния нарушений на уровне транспортера серотонина на активность тромбоцитов и развитие осложнений ССЗ является то, что лечение депрессии у больных ИБС с селективными ингибиторами обратного

захвата серотонина (СИОЗС) значимо ассоциировано со снижением смертности и повторных ИМ [43]. Более того, имеются исследования, демонстрирующие, что применение СИОЗ, в ряде случаев, приводит к развитию геморрагических осложнений из-за дисфункции тромбоцитов, которая, в свою очередь, вызвана блокадой транспортера серотонина [44]. Перечисленные данные говорят об имеющейся на сегодня недооценке роли серотонинэргической системы в развитии резистентности к антиагрегантам. В пользу этого положения говорят результаты ранее проведенных исследований, где учет всех основных генетических и негенетических факторов резистентности к клопидогрелю позволил объяснить лишь 18% случаев изменения фармакокинетики и около 45% фармакодинамики [31].

В 2013г Berger JS, et al. доложили, что у здоровых добровольцев с достоверно более высокой (>60%, метод: Chronolog, Havertown, USA) адреналин- и адреналин-серотонин-индуцированной агрегацией тромбоцитов наблюдалось повышение активности захвата и накопления серотонина в тромбоцитах, увеличения числа транспортеров на мембране и повышение аффинности рецепторов к серотонину [45]. Будущие исследования в этой области помогут глубже изучить проблему и дать оценку роли серотонинэргической системы в развитии резистентности к антиагрегантным препаратам.

Опыт российских исследований

В доступной литературе мы обнаружили 7 полнотекстовых статей, посвященных исследованиям, проведенным в Российской Федерации, с целью оценки влияния генетических факторов на антиагрегантное действие и клиническую эффективность клопидогреля [46-52]. Влияние генетических факторов на агрегационную активность тромбоцитов изучалась в 6 исследованиях (Комаров А.Л., и др., 2012; Голухова Е.З., и др., 2013.; Мацкеплишвили С.Т., и др., 2013; Кнауэр Н.Ю., и др., 2013; Мазуров А.В., и др., 2014; Сумарокова А.Б., и др., 2014) [46-52]. В большинстве исследований изучалось, преимущественно, влияние полиморфного маркера гена *CYP2C19* как играющего наиболее важную роль в фармакогенетике клопидогреля. Во всех исследованиях, за исключением работы Сумарокова А.Б. и др., была выявлена значимая ассоциация между аллельными вариантами гена *CYP2C19* и клиническими исходами. Возможными причинами являются некоторые ограничения исследования: малый объем выборки, отдаленные сроки измерения реактивности тромбоцитов (через 2 месяца после начала терапии) и др. Клиническая значимость *CYP2C19* (ассоциация полиморфных маркеров гена с развитием тромботических и геморрагических событий на фоне терапии клопидогрелем) изучалась лишь в 3 исследованиях из 7 (Комаров А.Л.,

и др., 2012; Голухова Е.З., и др., 2013; Галявич А.С., и др., 2012). При этом, отрицательные результаты получены лишь в исследовании Галявич А.С., и др. что, возможно, связано с некоторыми ограничениями данного исследования: небольшой объем выборки, короткий срок наблюдения и др. Ценность исследования снижают ряд факторов: малое число участников (n=55), не изучалось влияние аллельного варианта *CYP2C19*17*, не регистрировалась частота кровотечений.

Таким образом, наиболее крупным (n=399), полноценным исследованием с оценкой, как функционального состояния тромбоцитов, так и клинических исходов на фоне терапии, является исследование Комарова А.Л. и др. В исследование было включено 399 больных (313 мужчин, средний возраст — 58,3±9 лет) из популяции Москвы и Московского региона, период наблюдения составил 18 мес. [46]. Основными критериями включения были: стабильные проявление ИБС, реваскуляризация миокарда, перенесенный эпизод ОКС более месяца назад, монотерапия клопидогрелем (n=83) либо клопидогрель + АСК (n=316). При этом суточная доза клопидогреля и АСК составляла 75-150 мг каждого препарата. Первичные конечные точки: смерть от сердечно-сосудистых причин, ОКС, ишемический инсульт, транзиторная ишемическая атака (ТИА), реваскуляризация коронарных артерий и случаи любых кровотечений по TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction). Агрегация тромбоцитов измерялась турбодиметрическим методом Борна (10 мкл АДФ) в 3 и 6 месяцев. По результатам исследования, статистически значимой разницы между уровнем остаточной реактивности тромбоцитов и носительством полиморфных маркеров гена *CYP2C19* не обнаружено. Генотипирование по *CYP2C19* было проведено у 396 пациентов. Распределение клинически значимых генотипов *CYP2C19*: *CYP2C19*1/*2* — 18,1%, *CYP2C19*2/*2* — 1,8%, *CYP2C19*1/*17* — 28,3%, *CYP2C19*17/*17* — 6,5%, *CYP2C19*2/*17* — 7,3%. Аллельный вариант *CYP2C19*3* не обнаружен. Носительство, по крайней мере, одной аллели *CYP2C19*2* было ассоциировано с повышением частоты тромботических осложнений как в группе монотерапии (30% против 7,9%; p=0,02), так и в группе ДАТ (26,1% против 8,2%) лишь при назначении клопидогреля в стандартной дозе (75 мг/сут.). Значимого влияния *CYP2C19*2* при назначении клопидогреля в дозе 150 мг/сут., а также *CYP2C19*17* при любых дозировках на риск развития тромботических и геморрагических событий (34 случая мелких и умеренных кровотечений) не обнаружено.

Перспективы

Большим потенциалом располагает, на наш взгляд, направление разработки комплексных алгоритмов, учитывающих не только генетические, но и различ-

ные клинические, демографические и лабораторные особенности пациента, что позволяет добиться большей адаптации и персонализации антиагрегантной терапии. В этом ключе интересный алгоритм прогнозирования оптимальной активности тромбоцитов предложен G. Miura, et al. [53], учитывающий активность тромбоцитов, клинические и генетические данные пациента: $PRU = 565,273 - 7,891 \times (\text{Hct}) + 27,569 \times (\text{генотип по CYP2C19}) + 17,924 \times (\text{DL}) + 14,9 \times (\text{PPI}) - 4,72 \times (\text{WBC}) + 25,277 \times (\text{генотип по ABCB1 2677})$, где переменные принимают следующие значения: Hct — гематокрит в %; CYP2C19: 0 = *1/*1, 1 = *1/*2 или *1/*3 и 2 = *2/*2 или *3/*3; DL — дислипидемия: 1 = имеется, 0 = отсутствует; PPI — ингибиторы протонной помпы: 1 = принимает, 0 = не принимает; WBC = число лейкоцитов крови ($\times 10^3$); ABCB1: 1 = T/T, 0 = G/G, G/A, G/T, A/A, A/T. Подобный подход становится особенно актуальным с появлением таких приборов для “прикроватного” генотипирования как Spartan RX CYP2C19 assay [54]. На текущий момент продолжается 1 рандомизированное клиническое исследование по изучению прогностической ценности фармакогенетического тестирования — (TAILOR-

PCI), которое, возможно, даст более точную оценку роли генотипирования в персонализации антитромбоцитарной терапии блокаторами $P2Y_{12}$ -рецепторов.

Заключение

Резюмируя данные представленного нами обзора, можно сделать следующие выводы:

- влияние медленных аллелей гена *CYP2C19* на активность тромбоцитов и риск развития тромбоцитарных событий при фармакотерапии клопидогрелем в стандартной дозе подтверждено в подавляющем большинстве исследований.
- для оценки прогностической роли фармакогенетического тестирования по *CYP2C19**2,*3 с целью коррекции терапии, а также клинической значимости полиморфных маркеров генов *PON-1*, *CES1*, *CYP4F2*, *5-HTTLPR*, *CYP2C19**17 требуются более крупные качественные исследования.
- перспективным направлением является разработка комплексных алгоритмов персонализации антиагрегантной терапии, учитывающих как генетические, так и клинико-лабораторные особенности пациента.

Литература

- Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nature Med* 2002; 8: 1227-34.
- Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, et al. ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013; 34(38): 2949-3003.
- Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012; 33(20): 2569-619.
- Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: the Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011; 32(23): 2999-3054.
- Clinton P, Mozeson M. *Pharma Exec* 50, 2010. Available at: <http://pharmexec.findpharma.com/pharmexec/data/articlestandard//pharmexec/222010/671415/article.pdf> (Accessed 12 September 2013).
- Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1607-21.
- Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, et al. Effect of clopidogrel pretreatment before percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with fibrinolytics: the PCI-CLARITY study. *JAMA* 2005; 294: 1224-32.
- Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009; 361(11): 1045-57.
- Dangas GD, Caixeta A, Mehran R, et al. Frequency and predictors of stent thrombosis after percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Circulation* 2011; 123: 1745-56.
- Serebruany VL, Steinhilb SR, Berger PB, et al. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 246-51.
- Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA* 2010; 303(8): 754-62.
- Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2007; 357: 2001-15.
- Qureshi Z, Hobson AR. Clopidogrel “resistance”: where are we now? *Cardiovasc Ther* 2013; 31(1): 3-11.
- Garabedian T, Alam S. High residual platelet reactivity on clopidogrel: its significance and therapeutic challenges overcoming clopidogrel resistance. *Cardiovasc Diagn Ther* 2013; 3(1): 23-37.
- Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos* 2010; 38: 92-9
- Taubert D, von Beckerath N, Grimberg G, et al. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 486-501.
- Frelinger AL, Bhatt DL, Lee RD, et al. Clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics vary widely despite exclusion or control of polymorphisms (CYP2C19, ABCB1, PON1), noncompliance, diet, smoking, co-medications (including proton pump inhibitors), and pre-existent variability in platelet function. *J Am Coll Cardiol* 2013; 61(8): 872-9.
- Shuldiner AR, O’Connell JR, Bliden KP, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009; 302: 849-57.
- Collet JP, Hulot JS, Pena A, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* 2009; 373: 309-17.
- Human Cytochrome P450 Allele Nomenclature Committee. The human cytochrome P450 allele nomenclature database 2013. <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm> (Accessed 2 September 2014).
- Desta Z, Zhao X, Shin JG, et al. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41(12): 913-58.
- Li-Wan-Po A, Girard T, Farndon P, et al. Pharmacogenetics of CYP2C19: functional and clinical implications of a new variant CYP2C19*17. *Br J Clin Pharmacol* 2010; 69(3): 222-30.
- Beitelshees AL, Horenstein RB, Vesely MR, et al. Pharmacogenetics and clopidogrel response in patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 455-9.
- Scott SA, Sangkuhl K, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update. *Clin Pharmacol Ther* 2013; 94(3): 317-23.
- Mega JL, Simon T, Collet JP, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA* 2010; 304(16): 1821-30.
- Harmsze AM, van Werkum JW, Hackeng CM, et al. The influence of CYP2C19*2 and *17 on on-treatment platelet reactivity and bleeding events in patients undergoing elective coronary stenting. *Pharmacogenet Genomics* 2012; 22: 169-175.
- Li Y, Tang HL, Hu YF, et al. The gain-of-function variant allele CYP2C19*17: A double-edged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2012; 10: 199-206.
- Zabalza M, Subirana I, Sala J, et al. Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss- and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel. *Heart* 2012; 98: 100-108.
- Lewis JP, Stephens SH, Horenstein RB, et al. The CYP2C19*17 Variant is not Independently Associated with Clopidogrel Response. *J Thromb Haemost* 2013; 11(9): 1640-6.

30. Bouman HJ, Schomig E, van Werkum JW, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med* 2011; 17: 110-6.
31. Sibbing D, Koch W, Massberg S, et al. No association of paraoxonase-1 Q192R genotypes with platelet response to clopidogrel and risk of stent thrombosis after coronary stenting. *Eur Heart J* 2011; 32: 1605-13.
32. Reny JL, Combescurie C, Daali Y, et al. Influence of the paraoxonase-1 Q192R genetic variant on clopidogrel responsiveness and recurrent cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemostas* 2012; 10: 1242-51.
33. Lewis JP, Horensteina RB, Ryana K, et al. The functional G143E variant of carboxylesterase 1 is associated with increased clopidogrel active metabolite levels and greater clopidogrel response. *Pharmacogenet Genomics* 2013; 23(1): 1-8.
34. Tatarunas V, Jankauskiene L, Kupstyte N, et al. The role of clinical parameters and of CYP2C19 G681 and CYP4F2 G1347A polymorphisms on platelet reactivity during dual antiplatelet therapy. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2014; 25(4): 369-74.
35. Satoh T, Hosokawa M. Structure, function and regulation of carboxylesterases. *Chem Biol Interact* 2006; 162: 195-211.
36. Zhu HJ, Patrick KS, Yuan HJ, et al. Two CES1 gene mutations lead to dysfunctional carboxylesterase 1 activity in man: clinical significance and molecular basis. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 1241-8.
37. Wang MZ, Wu JQ, Bridges AS, et al. Human enteric microsomal CYP4F enzymes O-demethylate the antiparasitic prodrug pafuramide. *Drug Metab Dispos* 2007; 35(11): 2067-75.
38. Barden A, Beilin L, Croft L, et al. The influence of a single nucleotide polymorphism in the CYP4F2 gene on platelet epoxycicosatrienoic acids and platelet aggregation. The 11th Biennial ISSFAL Congress 2014; 2014 June 28 –July; Stockholm, Sweden. <http://issfal2014.conferencespot.org/53974-ha-1.1180093/t-002-1.1181977/f-020-1.1182049/a-019-1.1182050/ap-082-1.1182054> (Accessed 2 September 2014).
39. Brunk I, Blex C, Rachakonda S, et al. The first luminal domain of vesicular monoamine transporters mediates G-protein-dependent regulation of transmitter uptake. *J Biol Chem* 2006; 281: 33373-85.
40. Li N, Wallen NH, Ladjevardi M, et al. Effects of serotonin on platelet activation in whole blood. *Blood Coagul Fibrinol* 1997; 8: 517-23.
41. Coto E, Reguero JR, Alvarez V, et al. 5-Hydroxytryptamine 5-HT_{2A} receptor and 5-hydroxytryptamine transporter polymorphisms in acute myocardial infarction. *Clin Sci* 2003; 104: 241-5.
42. Vikenes K, Farstad M, Nordrehaug JE. Serotonin is associated with coronary artery disease and cardiac events. *Circulation* 1999; 100: 483-9.
43. Lesperance F, Frasere-Smith N, Koszycki D, et al. Effects of citalopram and interpersonal psychotherapy on depression in patients with coronary artery disease: the Canadian Cardiac Randomized Evaluation of Antidepressant and Psychotherapy Efficacy (CREATE) trial. *J Am Med Assoc* 2007; 297: 367-79.
44. Ziu E, Mercado Ch, Li Y, et al. Down-regulation of the Serotonin Transporter in hyperreactive platelets counteracts the pro-thrombotic effect of serotonin. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 5: 1112-21.
45. Berger JS, Becker RC, Kuhn C, et al. Hyperreactive platelet phenotypes: relationship to altered serotonin transporter number, transport kinetics and intrinsic response to adrenergic co-stimulation. *Thromb Haemost* 2013; 109: 85-92.
46. Komarov AL, Shakhmatova OO, T.A. Ilyushchenko TA, et al. Assessing Risk of Cardiovascular Events in Clopidogrel-Treated Patients with Stable CHD: Platelet Function or Genetic Testing? *Doktor.Ru* 2012; 6: 11-9. Russian (Комаров А.Л., Шахматова О.О., Илющенко Т.А., и др. Оценка риска сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ИБС, получающих клопидогрел: функция тромбоцитов или генетические исследования? *Доктор.Ру* 2012; 6: 11-9).
47. Galyavich AS, Valeyeva DD, Minnetdinov RSh, et al. CYP2C19 gene polymorphism in patients with myocardial infarction who use clopidogrel. *Kardiologiya* 2012; 4: 20-4. Russian (Галевич А.С., Валеева Д.Д., Миннетдинов Р.Ш. и др. Полиморфизм гена CYP2C19 у больных инфарктом миокарда, применяющих клопидогрел. *Кардиология* 2012; 4: 20-4).
48. Knauer NYu, Lifshits GI, Voronina EN, et al. Informativeness of genetic factors for optimization of personalized therapy with clopidogrel. *Kardiologiya* 2013; 8: 72-5. Russian (Кнауэр Н.Ю., Лифшиц Г.И., Воронина Е.Н., и др. Информативность генетических маркеров для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелом. *Кардиология* 2013; 8: 72-5).
49. Golukhova EZ, Ryabinina MN, Bulaeva NI, et al. The platelet reactivity after percutaneous coronary intervention in patients with double antiplatelet therapy: impact of genetic polymorphisms. *Kreativnaya kardiologiya* 2014; 3: 39-52. Russian (Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н., и др. Современные аспекты фармакогенетики клопидогреля и его клиническое значение. *Креативная кардиология* 2014; 3: 39-52).
50. Mazurov AV, Zyuryaev IT, Haspekova SG, et al. Factors influencing platelet aggregation in patients with acute coronary syndrome. *Terapevticheskii Arkhiv* 2014; 9: 83-9. Russian (Мазуров А.В., Зюряев И.Т., Хаспекова С.Г., и др. Факторы, влияющие на агрегационную активность тромбоцитов у больных с острым коронарным синдромом. *Терапевтический архив* 2014; 9: 83-9).
51. Sumarokov AB, Meshkov AN, Buryachkovskaya LI, et al. Polymorphism 416 T>C OF gene CYP2C9 and sensitivity to clopidogrel. *Tromboz, gemostazireologiya* 2014; 1: 53-61. Russian (Сумароков А.Б., Мешков А.Н., Бурячковская Л.И., и др. Полиморфизм 416 T>C гена CYP2C9 и чувствительность к клопидогрелю. *Тромбоз, гемостазиреология* 2014; 1: 53-61).
52. Matskeplishvili ST, Prokhorchuk EB, Arutiunova YaE, et al. Role of genetic factors in the development of clopidogrel resistance among patients referred for percutaneous coronary intervention. *Cardiovascular Therapy and Prevention* 2013; 12(4): 21-5. Russian (Мацкеплишвили С.Т., Прохорчук Е.Б., Арутюнова Я.Э., и др. Роль генетических факторов в развитии резистентности к клопидогрелю у больных, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2013; 12(4): 21-5).
53. Miura G, Ariyoshi N, Sato Y, et al. Genetic and non-genetic factors responsible for antiplatelet effects of clopidogrel in Japanese patients undergoing coronary stent implantation: An algorithm to predict on-clopidogrel platelet reactivity. *Thromb Res* 2014; 4: 877-83.
54. Roberts JD, Wells GA, Le May MR, et al. Point-of-care genetic testing for personalisation of antiplatelet treatment (RAPID GENE): a prospective, randomised, proof-of-concept trial, *Lancet*, 2012; 379: 1705-11.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С РАЗВИТИЕМ АОРТАЛЬНОГО СТЕНОЗА

Типтева Т.А.¹, Чумакова О.С.¹, Затеищиков Д.А.^{1,2,3}

Аортальный стеноз (АС) является одним из наиболее частых клапанных поражений сердца у больных старше 65 лет. Несмотря на изученность молекулярных механизмов развития и прогрессирования АС, хирургическое лечение в настоящее время остается единственным возможным лечением порока. В связи с коморбидностью пожилых больных, остаются препятствия для рекомендации таким пациентам хирургической замены клапана, несмотря на очевидный неблагоприятный прогноз консервативной терапии. Поиск новых подходов для ранней оценки неблагоприятных факторов риска, скорости прогрессирования заболевания позволит оценить необходимость более раннего лечения, а также позволит выявить возможности замедления прогрессирования заболевания. Одним из направлений изучения остается поиск генетических маркеров. В обзоре представлены основные исследованные молекулярные механизмы и связанные с ними генетические маркеры, ассоциированные с развитием АС.

Российский кардиологический журнал 2015, 10 (126): 99-106
<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-99-106>

Ключевые слова: аортальный стеноз, генетическая предрасположенность.

¹ФГБУ ДПО Центральная государственная медицинская академия УД Президента РФ, Москва; ²ГБУЗ Городская клиническая больница №51 ДЗ г. Москвы,

Москва; ³ФГБУ Федеральный научно-клинический центр специализированных видов клинической помощи и медицинских технологий ФМБА России, Москва, Россия.

Типтева Т.А. — аспирант кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, Чумакова О.С. — к.м.н., доцент кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, Затеищиков Д.А.* — д.м.н., руководитель первичного сосудистого отделения, профессор кафедры терапии, кардиологии и функциональной диагностики с курсом нефрологии, в.н.с. лаборатории генетики.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):
 dz@bk.ru

АС — аортальный стеноз, АК — аортальный клапан, МКМ — межжелудочный матрикс, СРБ — С-реактивный белок, BMP — костные морфогенетические белки, MMP — металлопротеиназа, CCC — сердечно-сосудистая система.

Рукопись получена 30.07.2015

Рецензия получена 03.08.2015

Принята к публикации 10.08.2015

MOLECULAR-GENETIC FACTORS, ASSOCIATED WITH AORTIC STENOSIS DEVELOPMENT

Tipteva T.A.¹, Chumakova O.S.¹, Zateyshchikov D.A.^{1,2,3}

Aortic stenosis (AS) is one of the most prevalent valvular heart disorders in patients older than 65 years. Regardless the studied molecular mechanisms of development and progression of the disease, surgical treatment is recently the only successful method of help. Due to lots of comorbidities of older patients, there are obstacles to recommend surgical valve replacement, even knowing an adverse prognosis of conservative treatment. Search for new approaches to earlier assessment of adverse risk factors, speed of progression of this disease, would help to evaluate the necessity of earlier treatment and could make to slow down the progression of the disease. One of directions for this — is a search for genetic markers. This review focuses on the main known molecular mechanisms and genetic markers related to them, that are associated with AS.

Russ J Cardiol 2015, 10 (126): 99-106

<http://dx.doi.org/10.15829/1560-4071-2015-10-99-106>

Key words: aortic stenosis, hereditary predisposition

¹FSBI APE Central state medical Academy of the administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow; ²SBHI City Clinical Hospital №51 HD of Moscow, Moscow; ³FSBI Federal Scientific-Clinical Center of Specialized Types of Clinical Assessment and Medical Technologies FMBA Russia, Moscow, Russia.

Аортальный стеноз (АС) представляет собой самый частый тип клапанного поражения сердца в пожилом возрасте в развитых странах [1, 2]. Поскольку единственным возможным способом лечения является хирургическая коррекция порока, крайне важно иметь возможность выявить данное заболевание тогда, когда операция выполнима. Поиск новых подходов для ранней оценки неблагоприятных прогностических факторов, скорости прогрессии заболевания с учетом биохимических и генетических маркеров необходим для того, чтобы оценить необходимость более раннего лечения и выявить новые механизмы возможного замедления прогрессирования заболевания. В последнее время, в связи с прогрессом, достигнутым в разработке методов изучения

генома, появилась возможность провести изучение формирования врожденной предрасположенности к данному заболеванию.

Нами суммированы основные исследованные молекулярные механизмы и связанные с ними генетические маркеры, ассоциированные с развитием АС.

Известно, что больные, имеющие наследственный анамнез АС, имеют более высокий риск развития порока [3]. Наследственная предрасположенность к АС, особенно в случае выявления этого порока у близких родственников, была изучена в популяционном исследовании жителей Юты Horne BD, et al. [4]. Во Франции также были выявлены 5 семей с наследственным характером развития АС [5].

Таблица 1

Генетические ассоциации, связанные с развитием АС

Ген	Хромосомное расположение	Генетический вариант	Эффект (аллель, однонуклеотидный полиморфизм)	Количество больных АС/группа контроля	Фенотип	Популяция, страна	Автор
<i>VDR</i>	12q13.11	BsmI	+(B)	100/100	АС	Германия	Ortlepp, et al.
<i>APOB</i>	2p24-p23	XbaI	+(X+)	62/62	АС	Бразилия	Avakian, et al.
		rs1042031	НП	457/3294	АС	Канада	Gaudreault N, et al.
		rs6725189	НП				
<i>APOE</i>	19q13.2	изоформы	+(E2)	62/62	АС	Бразилия	Avakian, et al.
			+(E4)	43/759	АС	США	Novaro, et al.
<i>PON1</i>	7q21-22	Q192R	НП	67/251	АС	Португалия	Moura LM, et al.
<i>ESR1</i>	6q25.1	918 T/C (PvuII)	+(p)	41/41	АС	Швеция (женщины в постменопаузе)	Nordström, et al.
<i>IL10</i>	1q31-q32	-1082 G/A	+(G)	187/0	Кальцификация АК	Германия	Ortlepp, et al.
		-819 C/T	+(C)				
		592 C/A	+(C)				
<i>NOTCH1</i>	9q23-35	R1108X	НП	5 поколений семьи	АС	США	Garg V, et al.
		H1505del	НП				
		pT596M	НП				
		pP1797H	НП				
		rs13290979	НП	457/3294	АС	Франция, Канада	Ducharme V, et al.
<i>LPA(a)</i>	6q25-q26	rs10455872	+(G)	6942/5301	АС	Европа, США, в т.ч. испано — американская и афроамериканская	Thanassoulis G, et al.
<i>MYO7A</i>	11q13.5	rs2276288	НП	265/961	АС	США	Ellis SG, et al.
<i>AGTR1</i>	3q24	rs5194	НП				
<i>ELN</i>	7q11.23	rs2071307	НП				
<i>LTBR</i>	12p13	rs35681405	НП				
<i>GUCY26P</i>	10	rs10885330	НП				
<i>VEGF-A</i>	6p12	pArg325X	НП	2 поколения семьи	АС	Китай	Zhao W, et al.

Сокращения: НП — нуклеотидный полиморфизм, АС — аортальный стеноз, АК — аортальный клапан.

По данным исследования с участием 1871 больного с артериальной гипертензией (Hypertension Genetic Epidemiology Network Study), выявлена ассоциация с семейной формой АС с полиморфизмом локуса 16-й хромосомы — 16q22.1-q22.3 (ОШ: 3,14), 19-й хромосомы — 19p13.11-p11 (ОШ: 2,88), 1-й — 1q42 (ОШ: 2,12), 16-й- 16q22.1-q22.3 (ОШ: 2,63). Кроме того, выявлена вероятная ассоциация АС с полиморфизмом локуса 2q37 (ОШ:2,03) [6].

Однако факторы, объясняющие наследственный характер АС, продолжают оставаться не изученными. Теоретически, наследственную предрасположенность к развитию АС следует искать среди генов, кодирующих белки — участники патогенеза АС, т.е. белки процессов кальцификации, воспаления, ремоделирования межклеточного матрикса, нарушения липидного обмена, ангиогенеза.

Результаты генетических исследований у больных АС и выявленные генетические ассоциации с развитием АС приведены в таблице 1.

Молекулярно-генетические механизмы кальцификации при АС

В развитии АС принимают участие структурные компоненты аортального клапана (АК): клеточные элементы и межклеточный матрикс (МКМ). В настоящее время молекулярные механизмы развития АС наиболее полно изучены на примере нескольких путей развития кальцификации АК. Компонентами МКМ являются фибробласты и белки МКМ, играющие регуляторную роль. В экспериментах *in vivo* было показано, что в стенотически измененных клапанах фибробласты приобретают свойства плюрипотентных клеток, способных к остеобластической дифференцировке.

ренцировке. “Активированные” фибробласты (или миофибробласты) имеют сходные свойства с остеобластами костной ткани и обладают возможностью синтезировать остеогенные медиаторы [7].

Наиболее изученными регуляторными путями экспрессии остеогенных медиаторов “активированными фибробластами” являются: пути трансформирующих факторов роста (TGFβ1 и β3), в том числе костных морфогенетических белков (bone morphogenetic protein — BMP), Wnt, RANK/RANKL и Notch1 пути. Каскад основных путей молекулярных взаимодействий, принимающих участие в процессе кальцификации, представлен на рисунке 1. Результатом является активация белков — транскрипционных факторов RUNX2/Cbfa1 (Runx2), MSX2, Osterix, регулирующих в костной ткани дифференцировку плюрипотентных мезенхимальных клеток в незрелые остеобласты, зрелые остеобласты и затем в остециты. В частности, RUNX2 непосредственно стимулирует транскрипцию генов, кодирующих остеокальцин, коллаген I типа, остеопонтин и матриксную металлопротеиназу 3 типа (MMP3) [8, 9]. Наряду с вышеперечисленными механизмами, активация RUNX2 возможна при воздействии других факторов: компонентов МКМ (интегринов), фактора роста фибробластов — 2 (FGF-2), механическом и гормональном (паратиреоидный гормон) воздействии [10].

TGFβ-связанный каскад молекулярных взаимодействий

Трансформирующий фактор роста β, имеющий 3 изоформы (TGFβ1/2/3) — многофункциональный цитокин и фактор роста для многих клеток. Связываясь с TGFβ рецептором II типа, активизирует фосфорилирование рецептора TGFβ I типа. В свою очередь, рецептор фосфорилирует регуляторный белок SMAD2/3, связывающийся с коферментом SMAD4 в единый комплекс, который транспортируется в ядро и функционирует как транскрипционный фактор клеточного роста, пролиферации и апоптоза [11]. TGFβ1 наряду с процессами кальцификации, обладает известной способностью регулировать остеобластическую трансдифференцировку фибробластов [12, 13], влиять на высвобождение белков BMP, ингибировать апоптоз остеобластов [14] и активировать дифференцировку остеокластов [15]. Также были выявлены способности TGFβ1: индуцировать экспрессию α-актина гладкомышечных клеток в клапанах сердца, индуцировать процессы апоптоза клеток МКМ клапанов [16], влиять на синтез фибробластами коллагена I и III типа, обнаруживаемых при АС [17]. Все это также позволяет отнести TGFβ1 к биомаркерам фиброза и ремоделирования МКМ.

Данные об активности TGFβ1 пути в патогенезе АС подтверждены в экспериментальных моделях на животных [13], а также данными исследований

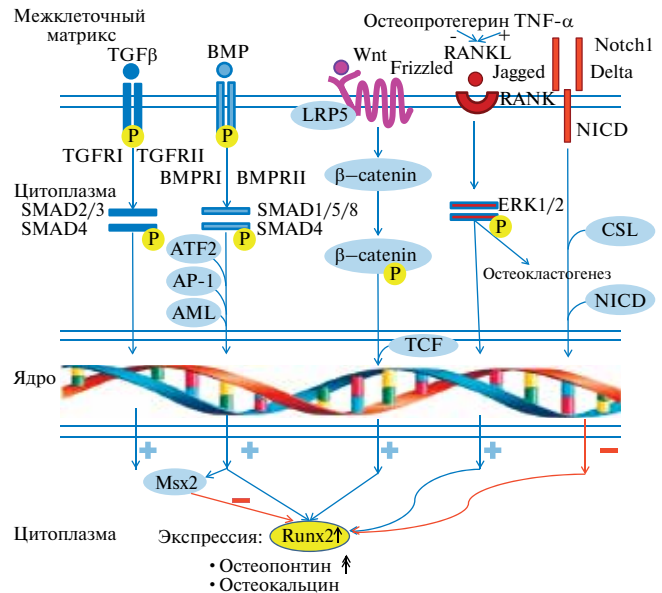


Рис. 1. Молекулярные механизмы кальцификации.

с количественной ПЦР, показавшей повышенный уровень экспрессии мРНК генов *TGFβ1*, щелочной фосфатазы и MMP-9 в кальцинированном аортальном клапане больных АС [18].

В отношении генетических полиморфизмов *TGFβ1* получены противоречивые данные. Полиморфизм *TGFβ1* (509 C/T) — отсутствие С аллеля — изучался в исследовании Nordström P, et al., где была выявлена недостоверная тенденция к его ассоциации с аортальным склерозом ($p=0,10$) у женщин в постменопаузе [19]. В исследовании Anger T, et al. с участием 20 больных с АС, в кальцинированных клапанах была выявлена повышенная экспрессия гена *TGFβ1* и гена белка сосудистой адгезии (vascular adhesion protein — 1 (*VAP1*)). Однако, в более крупных исследованиях по изучению генетических полиморфизмов *TGFβ1* с развитием критического АС полиморфизм *TGFβ1* (в частности rs6957) не показал своей связи с АС [20]. Также данные об экспрессии гена *TGFβ1* в кальцинированном клапане не были подтверждены в более позднем исследовании на ограниченной выборке больных (5 чел.) [21].

Костные морфогенетические белки (BMP) — сигнальные пути

BMP — группа цитокинов, принадлежащих к суперсемейству TGFβ и объединенных общим про-остеогенным потенциалом. Регуляция BMP осуществляется подобно TGFβ — через систему SMAD. Однако для активации BMP пути требуется участие дополнительных кофакторов: ATF2, AP-1, AML со специфическими сайтами связывания с ДНК. Кофакторы необходимы для идентификации целевых генов для синтеза про-остеогенных белков — Runx2

и MSX2 [22, 23]. Помимо эктопического остеогенного потенциала, BMP известны своей способностью влиять на активность моноцитов, эпителиальных и нервных клеток. Активность BMP — пути при AC подтверждается выявленным повышенным уровнем экспрессии BMP 2 и 4 типа в кальцинированном АК [24]. Также известно, что BMP 2 и 4 усиливают активность и экспрессию щелочной фосфатазы и остеокальцина — маркеров кальцификации в клетках межклеточного матрикса клапанов сердца [12].

Wnt/ β — катениновый путь

Wnt — белки относятся к семейству секреторируемых белков, регулирующих дифференцировку клеток в процессе остеогенеза. Связь Wnt на поверхности клеток с рецепторами семейства Frizzled и LRP способствует увеличению уровня β -катенина в цитоплазме клеток, который, в свою очередь, проникает в ядро и формирует с T-клеточным фактором (TCF) ДНК-связывающий комплекс [25, 26]. К целевым Wnt генам относятся Runx2, RANKL — лиганды, остеокальцин, Jagged1 и ИЛ-8 (<http://www.stanford.edu/~rnusse/pathways/targets.html>) и Tcf7 и LEF1. Активаторами Wnt-пути являются: BMP белки, TNF- α , оксидативный стресс. Участие этого механизма при AC подтверждено в экспериментальных моделях: увеличение концентрации LRP5 рецептора выявлено в АК кроликов с AC [27].

RANK/RANKL — путь

RANKL — цитокин, относящийся к TNF- α суперсемейству, представляет собой трансмембранный белок на поверхности остеобластов, стромальных клеток, T-клеток и эндотелия. RANKL-лиганд для активации рецептора NF- κ B — RANK на поверхностях остеокластов. RANKL стимуляция рецептора ведет одновременно к активации остеокластогенеза, а также к стимуляции экспрессии Runx2 у больных с AC [28]. Остеопротегерин является ингибитором RANK/RANKL пути, а TNF- α — наоборот, его активатором. Так, при AC был выявлен пониженный уровень остеопротегерина наряду с повышенной экспрессией RANKL [28]. RANK/RANKL путь также непосредственно способствует накоплению кальция в МКМ.

Notch — сигнальный путь

Семейство Notch состоит из 4х трансмембранных белков (Notch1-4) и 5 лигандов (Delta — like 1,3,4 и Jagged 1, 2), расположенных на клеточной мембране. При активации рецептора образуется его внутриклеточный домен (NICD), мигрирующий в клеточное ядро, где формирующийся комплекс с транскрипционным фактором CSL, NICD активирует гены: *Hes* и *Hrt* семейств, ответственных за развитие сердечно-сосудистой системы (ССС) (дифференци-

ровку клеток и контроль фенотипа гладкомышечных клеток). *In vitro* была выявлена способность Notch1 ингибировать проостеогенный транскрипционный фактор Runx2 [29]. В случае возникновения определенной мутации в *Notch1* гене отмечалось развитие кальцификации АК, что было связано с повышением экспрессии Runx2 [30, 31]. Также повышенная экспрессия рецептора Notch1 и его лиганда Jagged1 была выявлена в кальцинированных атеросклеротических бляшках [32].

Наилучшим образом процессы кальцификации с максимально возможным количеством генетических полиморфизмов были изучены на примере гена *Notch1* в работе Garg V, et al. у ограниченной группы больных с AC, составляющих 5 поколений семьи. В ходе исследования были выявлены следующие мутации этого гена: R1108X, H1505del, pT596M, p.P1797H, ассоциированные с развитием AC [31]. Однако, в более позднем исследовании с участием 457 франко-канадских больных с тяжелым AC при изучении 14 генетических вариантов мутации этого гена, включающих вышеперечисленные варианты, был обнаружен лишь 1 тип нуклеотидного полиморфизма, достоверно связанный с AC rs13290979 ($p=0,003$). Тем не менее, он не имел популяционной значимости [33].

Кальциевый обмен

Развитие AC тесно связано с нарушением кальциевого обмена, что подтверждается его развитием на фоне хронической почечной недостаточности и при многократном гемодиализе [34, 35]. Патологическая кальцификация в ССС связана также с процессами потери минеральной плотности костной ткани [36].

Известно, что уровень сывороточного кальция регулируется витамином Д (дигидроксихолекальциферол-1,25-(OH)²-D³), который образуется путем гидроксирования из 25-гидроксихолекальциферола (25-OH-D³). Процесс гидроксирования индуцируется паратгормоном, который, в свою очередь, активируется в зависимости от концентрации ионизированного кальция на поверхности клеток паращитовидной железы. Помимо обмена витамина Д, паратгормон увеличивает деминерализацию костной ткани за счет активации остеокластов, усиливает реабсорбцию кальция в почечных канальцах и снижает реабсорбцию фосфора. Связь нарушений кальциевого обмена с развитием AC была выявлена в работах Lindroos и Linhartova, et al. Повышенная секреция паратиреоидного гормона, низкий уровень витамина Д (25-гидроксихолекальциферола (25-OH-D³) и высокий уровень сывороточного кальция ассоциировались с наличием AC [37, 38].

При генетических исследованиях полиморфизм *BsmI* витамина Д был изучен на примере 100 больных

с критическим АС ($SAK < 1 \text{ см}^2$). Частота встречаемости В аллеля гена витамина Д была на 35% выше у больных с АС, чем в группе контроля (соответствующей по полу, возрасту, наличию или отсутствию ИБС) ($p=0,001$) [39]. Связь В аллеля витамина Д с развитием АС объясняется авторами тем, что у носителей аллеля выявляется худшая абсорбция кальция, его быстрая потеря, что обуславливает повышенную секрецию паратгормона и, как следствие, развитие АС. Однако, существуют данные о возможном влиянии на метаболизм кальция различных вариантов рецепторов к витамину Д.

Молекулярно-генетические механизмы процессов воспаления при АС

Провоспалительные цитокины — белки с плейотропным типом действия, регулирующие лейкоцитарную активность. Наиболее изученными при АС являются: высокочувствительный С-реактивный белок (СРБ) [40], растворимые межклеточные молекулы адгезии (sICAM-1) [41], циркулирующие растворимые рецепторы конечных продуктов гликозилирования (AGE) — sRAGES [42], IL6, IL1 β , ФНО- α (TNF- α), фибриноген, белок теплового шока 60 (Hsp60), растворимый тканевой фактор (sTF), растворимый Е-селектин [43].

TNF- α считается центральным участником процессов воспаления в развитии и прогрессии АС. Это подтверждается следующими данными: активация sRAGES (молекул, ассоциированных с кальцификацией CCC) связана с увеличением концентрации TNF- α [44], *in vitro* добавление TNF- α к культивируемым клеткам МКМ АК активирует BMP-путь и кальцификацию клапана [45]. Также известна способность TNF- α усиливать экспрессию молекул адгезии: Е-селектин, Р-селектин и ICAM-1 [46]. Следует отметить, что TNF- α в эксперименте наиболее интенсивно индуцировал накопление кальция в тех клапанах, где уже начался процесс АС, что свидетельствует о возможной генетической/эпигенетической регуляции степени выраженности порока [45]. С точки зрения генетических исследований TNF- α , известно лишь о повышенном уровне экспрессии гена в АК [46], так же, как и в отношении ICAM-1, молекул адгезии сосудистого эндотелия 1 типа (vascular cell adhesion molecule-1 — VCAM-1) и hsp60 [47].

Генетические полиморфизмы провоспалительных цитокинов при АС наиболее изучены на примере интерлейкинов, в частности интерлейкина 10 (IL10), однако были получены противоречивые данные. Так, в работе Ortlepp JR, et al., высокая частота аллелей (rs1800896, rs1800871, and rs1800872), связанных с высоким уровнем IL10 ассоциировалась с развитием заболевания [39]. Gaudreault N, et al. также показали связь полиморфизмов интерлейкина 10 (IL10), особенно промотерного полиморфизма

(rs1800872), влияющего на продукцию цитокина, с развитием АС. При этом, высокая частота встречаемости аллеля была связана, наоборот, с низкой концентрацией IL10, что ассоциировалось с развитием АС ($p=6,2 \times 10^{-11}$). Полученные данные объяснялись известным выраженным противовоспалительным эффектом цитокина [20]. В работе Ortlepp JR, et al. также получены данные о наличии связи генетических полиморфизмов с тяжестью заболевания, со степенью кальцификации АК.

Молекулярно-генетические механизмы процессов фиброза и ремоделирования МКМ при АС

Механизмы ремоделирования МКМ при АС были изучены на примере MMP и катепсинов, ферментов, участвующих в деградации межклеточного матрикса: MMP 1,2,3,7,9,12 и их ингибиторов (TIMP1,2,3,4), катепсинов S, K, V, G, трансформирующего фактора роста β 1 (TGF β 1) [16, 48–50], TNF- α [51], тенасцина С [52]. Генетические полиморфизмы MMP и катепсинов не изучались, однако высокий уровень экспрессии гена MMP (в частности, MMP 1,7,9,12) и TIMP 1,2 в образцах самих клапанов при морфологическом исследовании был ассоциирован с АС [21].

Молекулярно-генетические механизмы липидного обмена при АС

Широко известна роль факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в отношении АС. Так, известно, что возраст, мужской пол, курение в анамнезе, высокие уровни ЛПНП, ЛПв, холестерина являются независимыми факторами риска АС.

Генетические маркеры липидного обмена остаются одним из наиболее изучаемых направлений для генетических исследований АС. Несмотря на наличие достоверных данных о связи некоторых генов липидного обмена с развитием АС, неизвестно, участвуют ли непосредственно сами гены в развитии заболевания, или их эффект опосредован дополнительными механизмами (например, гиперлипидемией — фактором риска АС). В одном из наиболее крупных исследований Thanassoulis G, et al. с участием 6942 больных: однонуклеотидный полиморфизм в локусе липопротеина а (ЛПв) rs10455872 был ассоциирован с развитием АС (для аллеля ОШ 2,05; $p=9,0 \times 10^{-10}$) и достиг уровня геномной значимости. Исследование было подтверждено для европейской, афроамериканской и испано-американской когорты пациентов ($p < 0,05$ для всех групп). В исследовании также изучался плазменный уровень ЛПв в 2х когортах больных (Framingham Heart Study (FHS) и the Age, Gene/Environment Susceptibility Reykjavik Study (AGES-RS)), коррелировавший с частотой выявления G-аллеля и с выявлением АС. Относительный риск развития АС в 2х когортах больных при наличии

полиморфизма ЛПА составил 60-68% (ОШ 1,62, $p=1 \times 10^{-4}$). Связь же с прогнозом заболевания не изучалась [53].

По данным Novaro GM, et al., согласно исследованию, в котором принимало участие 802 больных (43 больных с АС и 759 больных группы контроля) 4-й аллель аполипопротеина Е (apoE4) был независимым предиктором развития АС (ОШ 1,94, 95% ДИ, 1,01-3,71, $p=0,046$) [54]. Результаты этого исследования ограничены небольшим количеством больных с АС (43), у 23 из которых была выявлена еще и кальцификация митрального клапана.

Однонуклеотидные полиморфизмы гена аполипопротеина В (*APOB*) были изучены Gaudreault N, et al. у 457 больных с АС [20]. Миссенс мутация в гене *APOB* (rs1042031) была достоверно связана с АС ($p=0,00001$), однонуклеотидный полиморфизм *APOB* стоп-кодона (rs6725189) также был достоверно связан с развитием АС ($p=0,000013$). Следует отметить, что в этом исследовании изучалась связь полиморфизмов с тяжестью заболевания: больные с более чем одним аллелем *APOB* полиморфизмов имели более тяжелую степень АС. Таким образом, был сделан вывод о том, что более тяжелые фенотипические проявления АС неоднозначно связаны с пожилым возрастом, что еще раз подтверждает генетическую составляющую развития АС.

В исследовании Avakian SD, et al. изучалась распространенность: аполипопротеина А-1 (*APOA1*) А/Г мутации, инсерции/делеции *APOB* сигнального белка, рестрикционного фрагмента *APO B* XbaI и полиморфизмы аполипопротеина Е (*APOE*) у 62 больных с критическим АС, доказана связь генотипа *APO B* XbaI X+/X+ ($p=0,007$) и *APO E2* аллеля с развитием АС [55].

По данным Nordström P, et al., полиморфизм эстрогенового рецептора α (PvuII), (ранее известного наличием ассоциации с липидным обменом и коронарным атеросклерозом) в виде высокой частоты р аллеля ($p=0,03$) независимо связан с развитием склероза АК (у 41 женщины в постменопаузе) [19]. PvuII полиморфизм также был связан с высоким уровнем общего холестерина ($p=0,02$) и ЛПНП ($p=0,04$).

При изучении липидного обмена при АС Moura LM, et al. обратили внимание на параоксаназу 1 (PON1) — фермент с антиоксидантными свойствами, синтезируемый в печени и высоко ассоциированный с ЛПВП. В своей работе они показали, что наличие мутации Q192R в гене *PON1* связано с развитием АС ($p=0,03$) [56].

Молекулярно-генетические механизмы неангиогенеза в АК при АС

Наличие процессов неангиогенеза в патогенезе АС подтверждается во многих исследованиях [47, 57-59]. Так, фактор роста сосудистого эндотелия

VEGF и его два рецептора Flt1 и Klf1 ассоциированы с процессами неореваскуляризации в АК при АС [57, 58]. Остеонектин (или SPARC), секретируемый белок, участвующий в процессах неореваскуляризации и воспаления (активирует MMP 9) также экспрессируется в АК при АС [59], экспрессия хондромодулина I — антагониста процессов неореваскуляризации, снижена при АС [60]. Активация неангиогенеза при АС находится в сильной взаимосвязи с процессами воспаления: в исследованиях неоднократно было замечено повышение уровня экспрессии проангиогенных биомаркеров локально в месте участков воспаления, также была выявлена способность провоспалительного цитокина TNF- α усиливать секрецию VEGF [61]. Группой китайских исследователей был выявлен генетический полиморфизм в гене *VEGF* на примере 2-х поколений одной семьи, ассоциированный с развитием АС [62].

В ряде генетических исследований больных с АС были обнаружены полиморфизмы генов с неуточненным механизмом влияния на развитие порока. В исследовании Ellis SG, et al., с участием 265 больных с умеренным и критическим АС и 961 больного без АС определена корреляция следующих однонуклеотидных полиморфизмов: ген *MYO7A* (rs2276288), $p=0,001$, *AGTR1* (rs5194), $p=0,004$, *ELN* (rs2071307), $p=0,005$, *LTBR* (rs35681405), $p=0,006$, *GUCY26P* (rs10885330), $p=0,006$ с развитием АС. Ген *MYO7A* кодирует нетрадиционный миозин (присутствующий не только в мышечных клетках), ассоциированный с редкими наследственными синдромами глухоты и риском развития меланомы. *AGTR1* ген кодирует рецептор ангиотензина I типа, связан со снижением ангиотензиновой активности, кальцификацией коронарных артерий. *ELN* ген кодирует один из основных составных компонентов межклеточного матрикса — эластин, мутации и делеции в этом гене наблюдаются у детей с надклапанной АС и с анотодермией (разновидностью очаговой первичной атрофии кожи) [63].

Каскады молекулярно-генетических путей при АС тесно связаны между собой, активация одних путей может регулировать запуск других. Так, выявлены данные о взаимосвязи сигнальных путей кальцификации АК: Notch и RANK/RANKL, Wnt, TGF β [64]. BMP (в частности, BMP2) наряду с активацией собственного пути способен индуцировать каскады TGF β , Wnt и Notch [23, 65]. Активация каскада TGF β — пути может ингибировать Wnt-/ β -катениновый путь [66]. Существуют данные о взаимодействии между провоспалительными факторами и компонентами дегенерации МКМ: TNF- α может стимулировать экспрессию MMP на поверхности миофибробластов АК [43].

Помимо изучения молекулярных путей развития АС, генов и генетических вариантов, существует отдельное направление генетических исследований — изучение эпигенетической регуляции. В основе

эпигенетической регуляции лежат механизмы изменения экспрессии генов, не затрагивающие последовательность нуклеотидов в ДНК. Ацетилирование белков — гистонов и метилирование ДНК — основные механизмы эпигенетической регуляции экспрессии генов, известные при АС. Ацетилирование гистонов, нарушающее связывание транскрипционных факторов, регулируется гистон — деацетилазами I-IV классов [67]: I (HDAC3) и III (Sirt1) классы принимают участие в процессах кальцификации ССС. HDAC3 способен подавлять активность Runx2 и предотвращать патологическую остеобластическую дифференцировку [68], Sirt1 подавляет процессы воспаления и активацию эндотелиальных клеток [69].

Участие процессов метилирования ДНК в развитии кальцификации ССС было подтверждено экспериментально *in vitro*. Метилирование промотерной зоны ДНК, кодирующей актин гладкомышечных клеток было связано с их кальцификацией, а при добавлении деметилирующего агента кальцификация значительно уменьшалась [70].

Таким образом, АС представляет сложный патологический процесс с множественными, до конца не изученными молекулярными механизмами разви-

тия, генетическая основа которого может помочь установить ключевые звенья в патогенезе заболевания, позволит оценить необходимость более раннего лечения и выявить новые механизмы замедления прогрессии заболевания.

Изучение генетических факторов является перспективным направлением в изучении АС, поскольку клинические, эхокардиографические данные не всегда в полной мере могут предсказать активность патологического процесса у конкретного больного, а также скорость прогрессии порока, особенно на начальных этапах и при бессимптомном течении заболевания. Тем не менее, в настоящее время количество генетических исследований весьма ограничено. Возможными путями исследования генетических факторов при АС могут быть: целенаправленное изучение отдельно взятого гена с выявлением максимально возможных генетических полиморфизмов (как было исследовано для гена *Notch1*) и их ассоциаций с развитием АС, а также изучение уже известных генетических полиморфизмов с большей по численности выборкой больных с АС, с изучением связи с прогнозом заболевания, что будет иметь значение в отношении практического применения полученных результатов.

Литература

1. Iivainen AM, Lindroos M, Tilvis R, et al. Natural history of aortic valve stenosis of varying severity in the elderly. *Am J Cardiol* 1996, 78(1): 97-101.
2. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol* 1997, 29(3): 630-4.
3. Le Gal G, Bertault V, Bezon E, et al. Heterogeneous geographic distribution of patients with aortic valve stenosis: arguments for new aetiological hypothesis. *Heart* 2005, 91(2): 247-9.
4. Horne BD, Camp NJ, Muhlestein JB, et al. Evidence for a heritable component in death resulting from aortic and mitral valve diseases. *Circulation* 2004, 110(19): 3143-8.
5. Probst V, Le Scouarnec S, Legendre A, et al. Familial aggregation of calcific aortic valve stenosis in the western part of France. *Circulation* 2006, 113(6): 856-60.
6. Bella JN, Tang W, Kraja A, et al. Genome-wide linkage mapping for valve calcification susceptibility loci in hypertensive sibships: the Hypertension Genetic Epidemiology Network Study. *Hypertension* 2007, 49(3): 453-60.
7. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, et al. Human Aortic Valve Calcification Is Associated With an Osteoblast Phenotype. *Circulation* 2003, 107(17): 2181-4.
8. Ducey P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997, 89(5): 747-54.
9. Kern B, Shen J, Starbuck M, et al. Cbfa1 Contributes to the Osteoblast-specific Expression of type I collagen Genes. *J Biol Chem* 2001, 276(10): 7101-7.
10. Franceschi R, Xiao G. Regulation of the osteoblast-specific transcription factor, Runx2: responsiveness to multiple signal transduction pathways. *J Cell Biochem* 2003, 88(3): 446-54.
11. Gordon K, Blobe G. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta* 2008, 1782(4): 197-228.
12. Osman L, Yacoub MH, Latif N, et al. Role of Human Valve Interstitial Cells in Valve Calcification and Their Response to Atorvastatin. *Circulation* 2006, 114(1_suppl): I-547-52.
13. Walker GA, Masters KS, Shah DN, et al. Valvular Myofibroblast Activation by Transforming Growth Factor-(beta): Implications for Pathological Extracellular Matrix Remodeling in Heart Valve Disease. *Circ Res* 2004, 95(3): 253-60.
14. Chua CC, Chua BH, Chen Z, et al. TGF-beta1 inhibits multiple caspases induced by TNF-alpha in murine osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochim Biophys Acta* 2002, 1593(1): 1-8.
15. Chambers T. Regulation of the differentiation and function of osteoclasts. *J. pathology* 2000, 192(1): 4-13.
16. Jian B, Narula N, Li Q-y, et al. Progression of aortic valve stenosis: TGF-(beta)1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. *Ann Thorac Surg* 2003, 75(2): 457-65.
17. Khan R, Sheppard R. Fibrosis in heart disease: understanding the role of transforming growth factor-beta in cardiomyopathy, valvular disease and arrhythmia. *Immunology* 2006, 118(1): 10-24.
18. Clark-Greuel JN, Connolly JM, Sorichillo E, et al. Transforming growth factor-β1 mechanisms in aortic valve calcification: increased alkaline phosphatase and related events. *The Annals of thoracic surgery* 2007, 83(3): 946-53.
19. Nordstrom P, Glader CA, Dahlen G, et al. Oestrogen receptor alpha gene polymorphism is related to aortic valve sclerosis in postmenopausal women. *J Intern Med* 2003, 254(2): 140-6.
20. Gaudreault N, Ducharme V, Lamontagne M, et al. Replication of genetic association studies in aortic stenosis in adults. *Am J Cardiol* 2011, 108(9): 1305-10.
21. Bosse Y, Miquad A, Fournier D, et al. Refining molecular pathways leading to calcific aortic valve stenosis by studying gene expression profile of normal and calcified stenotic human aortic valves. *Circ Cardiovasc Genet* 2009, 2(5): 489-98.
22. Yang X, Meng X, Su X, et al. Bone morphogenetic protein 2 induces Runx2 and osteopontin expression in human aortic valve interstitial cells: Role of Smad1 and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009, 138(4): 1008-15.
23. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone Morphogenetic Proteins in Vascular Calcification. *Circ Res* 2005, 97(2): 105-14.
24. Kaden J, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Expression of bone sialoprotein and bone morphogenetic protein-2 in calcific aortic stenosis. *J Heart Valve Dis* 2004, 13(4): 560-6.
25. Komiya Y, Habas R. Wnt signal transduction pathways. *Organogenesis* 2008, 4(2): 68-75.
26. Pandur P, Maurus D, Kühl M. Increasingly complex: new players enter the Wnt signaling network. *Bioessays* 2002, 24(10): 881-4.
27. Rajamannan NM, Subramaniam M, Caira F, et al. Atorvastatin Inhibits Hypercholesterolemia-Induced Calcification in the Aortic Valves via the Lrp5 Receptor Pathway. *Circulation* 2005, 112(9_suppl): I-229-34.
28. Kaden J, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *J Mol Cell Cardiol* 2004, 36(1): 57-66.
29. Engin F, Yao Z, Yang T, et al. Dimorphic effects of Notch signaling in bone homeostasis. *Nat Med* 2008, 14(3): 299-305.
30. Meier-Stiegen F, Schwanbeck R, Bernoth K, et al. Activated Notch1 target genes during embryonic cell differentiation depend on the cellular context and include lineage determinants and inhibitors. *PLoS One* 2010, 5(7): e11481.
31. Garg V, Muth AN, Ransom JF, et al. Mutations in NOTCH1 cause aortic valve disease. *Nature* 2005, 437(7056): 270-4.
32. Shimizu T, Tanaka T, Iso T, et al. Notch Signaling Induces Osteogenic Differentiation and Mineralization of Vascular Smooth Muscle Cells Role of Msx2 Gene Induction via Notch-RBP-Jk Signaling. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2009, 29(7): 1104-11.
33. Ducharme V, Gaudreault S, Gaudreault N, et al. NOTCH1 genetic variants in patients with tricuspid calcific aortic valve stenosis. *J Heart Valve Dis* 2013, 22(2): 142-9.

34. Maher ER, Young G, Smyth-Walsh B, et al. Aortic and mitral valve calcification in patients with end-stage renal disease. *Lancet* 1987, 2(8564): 875-7.
35. McFalls EO, Archer SL. Rapid progression of aortic stenosis and secondary hyperparathyroidism. *Am Heart J* 1990, 120(1): 206-8.
36. Vattikuti R, Towler DA. Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2004, 286(5): E686-96.
37. Lindroos M, Kupari M, Valvanne J, et al. Factors associated with calcific aortic valve degeneration in the elderly. *European heart journal* 1994, 15(7): 865-70.
38. Linhartova K, Veselka J, Sterbakova G, et al. Parathyroid hormone and vitamin D levels are independently associated with calcific aortic stenosis. *Circ J* 2008, 72(2): 245-50.
39. Ortlepp JR, Hoffmann R, Ohme F, et al. The vitamin D receptor genotype predisposes to the development of calcific aortic valve stenosis. *Heart* 2001, 85(6): 635-8.
40. Imai K, Okura H, Kume T, et al. C-Reactive protein predicts severity, progression, and prognosis of asymptomatic aortic valve stenosis. *Am Heart J* 2008, 156(4): 713-8.
41. Shavelle DM, Katz R, Takasu J, et al. Soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and aortic valve calcification in the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *J Heart Valve Dis* 2008, 17(4): 388-95.
42. Basta G, Corci A, Vianello A, et al. Circulating soluble receptor for advanced glycation end-product levels are decreased in patients with calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis* 2010, 210(2): 614-8.
43. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, et al. Interleukin-1 beta promotes matrix metalloproteinase expression and cell proliferation in calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis* 2003, 170(2): 205-11.
44. Csiszar A, Ungvari Z. Endothelial dysfunction and vascular inflammation in Type 2 diabetes: interaction of AGE/RAGE and TNF- α signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008, 295(2): H475-6.
45. Yu Z, Seya K, Daitoku K, et al. Tumor Necrosis Factor- α Accelerates the Calcification of Human Aortic Valve Interstitial Cells Obtained from Patients with Calcific Aortic Valve Stenosis via the BMP2-Dlx5 Pathway. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2011, 337(1): 16-23.
46. Warnock JN, Nanduri B, Pregonero Gamez CA, et al. Gene profiling of aortic valve interstitial cells under elevated pressure conditions: modulation of inflammatory gene networks. *International journal of inflammation* 2011, 2011.
47. Mazzone A, Epistolato MC, De Caterina R, et al. Neoangiogenesis, T-lymphocyte infiltration, and heat shock protein-60 are biological hallmarks of an immunomediated inflammatory process in end-stage calcified aortic valve stenosis. *J Am Coll Cardiol* 2004, 43(9): 1670-6.
48. Aikawa E, Aikawa M, Libby P, et al. Arterial and aortic valve calcification abolished by elastolytic cathepsin S deficiency in chronic renal disease. *Circulation* 2009, 119(13): 1785-94.
49. Attaran S, Sherwood R, Dastidar MG, et al. Identification of low circulatory transforming growth factor beta-1 in patients with degenerative heart valve disease. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2010, 11(6): 791-3.
50. Fondard O, Detaint D, Iung B, et al. Extracellular matrix remodelling in human aortic valve disease: the role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors. *European heart journal* 2005, 26(13): 1333-41.
51. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol* 2005, 14(2): 80-7.
52. Jian B, Jones PL, Li Q, et al. Matrix metalloproteinase-2 is associated with tenascin-C in calcific aortic stenosis. *Am J Pathol* 2001, 159(1): 321-7.
53. Thanassoulis G, Campbell CY, Owens DS, et al. Genetic associations with valvular calcification and aortic stenosis. *N Engl J Med* 2013, 368(6): 503-12.
54. Novaro GM, Sachar R, Pearce GL, et al. Association Between Apolipoprotein E Alleles and Calcific Valvular Heart Disease. *Circulation* 2003, 108(15): 1804-8.
55. Avakian S, Annicchino-Bizzac J, Grinberg M, et al. Apolipoproteins AI, B, and E polymorphisms in severe aortic valve stenosis. *Clin Genet* 2001, 60(5): 381-4.
56. Moura LM, Faria S, Brito M, et al. Relationship of PON1 192 and 55 gene polymorphisms to calcific valvular aortic stenosis. *Am J Cardiovasc Dis* 2012, 2(2): 123-32.
57. Chalajour F, Treede H, Ebrahimnejad A, et al. Angiogenic activation of valvular endothelial cells in aortic valve stenosis. *Exp Cell Res* 2004, 298(2): 455-64.
58. Soini Y, Salo T, Satta J. Angiogenesis is involved in the pathogenesis of nonrheumatic aortic valve stenosis. *Hum Pathol* 2003, 34(8): 756-63.
59. Charest A, Pepin A, Shetty R, et al. Distribution of SPARC during neovascularisation of degenerative aortic stenosis. *Heart* 2006, 92(12): 1844-9.
60. Yoshioka M, Yuasa S, Matsumura K, et al. Chondromodulin-I maintains cardiac valvular function by preventing angiogenesis. *Nat Med* 2006, 12(10): 1151-9.
61. Syvaranta S, Helske S, Laine M, et al. Vascular endothelial growth factor-secreting mast cells and myofibroblasts: a novel self-perpetuating angiogenic pathway in aortic valve stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010, 30(6): 1220-7.
62. Zhao W, Wang J, Shen J, et al. A nonsense variation p.Arg325X in the vascular endothelial growth factor-A gene may be associated with congenital tricuspid aortic valve stenosis. *Cardiol Young* 2012, 22(3): 316-22.
63. Ellis S, Dushman-Ellis S, Luke M, et al. Pilot candidate gene analysis of patients? 60 years old with aortic stenosis involving a tricuspid aortic valve. *Am J Cardiol* 2012, 110(1): 88-92.
64. Tang Y, Urs S, Boucher J, et al. Notch and Transforming Growth Factor-(beta) (TGF(beta)) Signaling Pathways Cooperatively Regulate Vascular Smooth Muscle Cell Differentiation. *J Biol Chem* 2010, 285(23): 17556-63.
65. Zamurovic N, Cappellen D, Rohrer D, et al. Coordinated Activation of Notch, Wnt, and Transforming Growth Factor- β Signaling Pathways in Bone Morphogenic Protein 2-induced Osteogenesis Notch TARGET GENE Hey1 INHIBITS MINERALIZATION AND Runx2 TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279(36): 37704-15.
66. Chen JH, Chen WL, Sider KL, et al. Beta-catenin mediates mechanically regulated, transforming growth factor-beta1-induced myofibroblast differentiation of aortic valve interstitial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011, 31(3): 590-7.
67. de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J* 2003, 370(Pt 3): 737-49.
68. Schroeder TM, Kahler RA, Li X, et al. Histone Deacetylase 3 Interacts with Runx2 to Repress the Osteocalcin Promoter and Regulate Osteoblast Differentiation. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279(40): 41998-2007.
69. Stein S, Schafer N, Breitenstein A, et al. SIRT1 reduces endothelial activation without affecting vascular function in ApoE-/- mice. *Aging (Albany NY)* 2010, 2(6): 353-60.
70. de Oca AM, Madueño JA, Martínez-Moreno JM, et al. High-phosphate-induced calcification is related to SM22 α promoter methylation in vascular smooth muscle cells. *J. Bone and Mineral Research* 2010, 25(9): 1996-2005.

Кардосал®

олинесартан медоксомил

Кардосал®

олинесартан медоксомил + гидрохлоротиазид

плюс

Доказанное снижение АД и защита сосудов¹⁻³



КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА КАРДОСАЛ® Международное непатентованное наименование: олинесартан медоксомил. Лекарственная форма: таблетки, покрытые пленочной оболочкой. Фармакотерапевтическая группа: ангиотензин II рецепторов антагонист. Фармакологические свойства. Фармакодинамика: Олинесартан медоксомил является специфическим антагонистом рецепторов ангиотензина II (типа AT1) для приема внутрь. Предполагается, что олинесартан блокирует все действия ангиотензина II, опосредованные AT1-рецепторами независимо от источника и пути синтеза ангиотензина II. При артериальной гипертензии олинесартан вызывает дозозависимое продолжительное снижение артериального давления (АД). Прием олинесартана медоксомила 1 раз в день обеспечивает эффективное и мягкое снижение АД в течение 24 ч. Гипотензивное действие олинесартана развивается, как правило, уже через 2 нед., а максимальный эффект развивается приблизительно через 8 нед. после начала терапии. Фармакокинетика: Absorption и распределение: олинесартан медоксомил является пролекарством. Он быстро превращается в фармакологически активный метаболит олинесартан. Олинесартан медоксомил в неизменном виде в плазме крови не обнаруживался. Биодоступность олинесартана в среднем составляет 25,0%. Прием пищи не оказывает значительного влияния на биодоступность олинесартана, поэтому олинесартан медоксомил можно принимать независимо от приема пищи. Почечное выделение составляет приблизительно 40%, фекальное – около 60%. Период полувыведения олинесартана составляет 10-15 ч, после многократного приема внутрь. **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:** ассоциированная гипертензия, ПРОТИВПОКАЗАНИЯ: повышенная чувствительность к действующему веществу или к любому из вспомогательных веществ, входящих в состав препарата (см. раздел Состав); обструктивная желудочно-кишечная патология; почечная недостаточность (креатинин (КК) менее 20 мл/мин), состояние после трансплантации почки (нет опыта клинического применения); беременность, период лактации; возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не установлены); дефицит лактазы, галактоземия или синдром мальабсорбции. **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ:** Рекомендуется принимать Кардосал® внутрь каждый день в одно и то же время, независимо от приема пищи. Рекомендуемая начальная доза препарата Кардосал® для взрослых составляет 10 мг (препарат Кардосал® 10) 1 раз в сутки. В случае недостаточного снижения АД при приеме препарата в дозе 10 мг/сут, доза препарата может быть увеличена до 20 мг/сут (1 табл. препарата Кардосал® 20). При необходимости дополнительного снижения АД дозу препарата можно увеличить до максимальной – 40 мг/сут (1 табл. препарата Кардосал® 40) или дополнительно может быть назначен диуретик (гидрохлоротиазид). Максимальная суточная доза – 40 мг. Форма выпуска: Таблетки, покрытые пленочной оболочкой, 10 мг, 20 мг и 40 мг. По 14 таблеток в контурной ячейковой упаковке (блистер), изготовленной из ламинированной пленки (полиамид/алюминий / ПВХ) и фольги алюминиевой. По 2 блистера вместе с инструкцией по применению в картонной упаковке. **УСЛОВИЯ ОТПУСКА:** По рецепту. Подробная информация содержится в инструкции по медицинскому применению.

КРАТКАЯ ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ПРЕПАРАТА КАРДОСАЛ® ПЛЮС Международное непатентованное наименование: олинесартан медоксомил + гидрохлоротиазид. Состав на одну таблетку: Олинесартан медоксомил 20 мг, Гидрохлоротиазид 12,5 мг. **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ:** Эссенциальная артериальная гипертензия (при неэффективности монотерапии олинесартаном медоксомилом). **Способ применения и дозы:** рекомендуемая доза составляет 1 таблетка в сутки (особенности режима дозирования у разных групп пациентов – см. инструкцию по применению). **ПРОТИВПОКАЗАНИЯ:** повышенная чувствительность к олинесартану медоксомилу, гидрохлоротиазиду или другим производным сульфонмидов, или к любому из вспомогательных веществ, входящих в состав; почечная недостаточность тяжелой степени тяжести (креатинин (КК) менее 30 мл/мин), состояние после трансплантации почки (нет опыта клинического применения); почечная недостаточность тяжелой степени тяжести (более 9 баллов по шкале Чайлд-Пью) (риск развития почечной комы); обструктивная желудочно-кишечная патология и холестаза; рефрактерные глюкозиды, гипонатриемия, гипотиреоз, гипоталазмия и симптоматическая гипотиреоземия; наследственная непереносимость галактозы, дефицит лактазы и синдром мальабсорбции глюкозы и галактозы; одновременное применение у пациентов с алкоголем и/или с алкоголемсодержащими препаратами у пациентов с сахарным диабетом и/или почечной недостаточностью (скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин/1,73 м²); беременность; период грудного вскармливания; первичный альдостеронизм; возраст до 18 лет (эффективность и безопасность не установлены). **С ОСТОРОЖНОСТЬЮ:** бронхиальная астма; ишемическая болезнь сердца (ИБС); хроническая сердечная недостаточность; цереброваскулярные заболевания; стеноз аортального или митрального клапана; гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия; почечная недостаточность легкой и средней степени тяжести (КК более 30 мл/мин, но менее 60 мл/мин); заворотная гипертензия (двусторонний стеноз почечных артерий или стеноз артерии единственной почки); сахарный диабет; подагра; нарушения водно-электролитного баланса, дегидратация; заболевания соединительной ткани, в том числе системная красная волчанка; пациентам, соблюдающим диету с ограничением соли или находящимся на гемодиализе; состояние, сопровождающееся снижением объема циркулирующей крови (ОЦК), в т.ч. диарея, рвота, или предшествующая терапия диуретиками, при одновременном применении препаратов лития. Побочное действие (комбинация олинесартана медоксомила и гидрохлоротиазида): (наиболее частые, более подробную информацию см. в инструкции по применению); Со стороны нервной системы: головокружение, головная боль. Общие нарушения: астения, боль в грудной клетке, усталость, периферические отеки.

¹Riser D. et al. Circulation 2004; 110: 1103-7. ²Smith D.H. et al., J Am Soc Hypertens, 2008; 2: 165-172. ³Stumpe O. et al., Ther Adv Cardiovasc Dis 2007; 1: 97-106

ООО «Берлин-Хем» / A. Menarini, 123317, Москва, Пресненская набережная, дом 10, БЦ «Башня на Набережной», блок Б. Тел.: (495) 785-01-00, факс: (495) 785-01-01, <http://www.berlin-chemie.ru>. Материал предназначен для специалистов здравоохранения. Отпускается по рецепту врача. Подробная информация о препарате содержится в инструкциях по применению Кардосал® 10 мг от 07.07.2014, Кардосал® 20 мг от 30.06.2014, Кардосал® 40 мг от 01.07.2014.

М **БЕРЛИН-ХЕМИ**
DAICHI SANKYO
Daichi Sankyo Europe GmbH

НОВОСТИ С ЕВРОПЕЙСКОГО КОНГРЕССА КАРДИОЛОГОВ: АНТИКОАГУЛЯНТНАЯ ТЕРАПИЯ

С 29 августа по 2 сентября 2015г в Лондоне, столице Соединённого Королевства, проходил ежегодный Конгресс Европейского общества кардиологов (ЕОК). В этом году он собрал рекордное количество участников — почти 33 тысячи, что на две тысячи больше, чем в прошлом году в Барселоне. Более того, для представления на Конгрессе этого года было заявлено 11306 тезисов, из которых принято 4533 для постерных докладов. Кроме врачей и учёных, занятых в области кардиологии, Конгресс посетило около 700 представителей прессы. В выставке производителей лекарственных средств и медицинского оборудования участвовало 215 компаний, проходило 140 подерживаемых спонсорских сессий.

Конгресс ЕОК считается самым крупным ежегодным событием в мире кардиологии, а в самом Обществе состоит более 90 тысяч членов из 56 национальных объединений, включая Российское кардиологическое общество. В деятельности ЕОК участвует 15 Рабочих групп по разработке клинических Рекомендаций.

Стоит ли говорить, что такое крупное событие каждый год представляет собой ещё одну веху в развитии кардиологии и как науки, и как клинической практики.

Специальным гостем Конгресса была нобелевский лауреат по биологии и медицине профессор Элизабет Блэкбёрн (Elizabeth Blackburn), получившая эту награду за открытие и описание теломера: тема старения и, в частности, старения миокарда, генетики и эпигенетики была одной из часто упоминаемых в симпозиумах на Конгрессе. Среди других тем, привлекавших внимание, следует упомянуть методы визуализации в кардиологии, аппаратное лечение нарушений ритма, психосоциальные и другие факторы риска, первичную и вторичную профилактику и, конечно же, малоинвазивные методы лечения ишемической болезни и пороков сердца.

Большое внимание было уделено как никогда актуальному вопросу антикоагулянтной терапии и профилактики кардиоэмболических осложнений при мерцательной аритмии. Сегодня набирает обороты терапия новыми, не-витамин-К-зависимыми антикоагулянтами — пероральными средствами, не требующими контроля свёртывания крови.

На состоявшемся совещании с участием представителей прессы были представлены результаты двух исследований реальной клинической практики — XANTUS и постмаркетингового исследования безопасности препарата Ксарелто (PMSS), — проводимых компаниями Bayer Healthcare и Janssen Pharmaceuticals. В них в общей сложности были про-

анализированы данные 45 тысяч пациентов, принимавших ривароксабан по показанию профилактики инсульта при фибрилляции предсердий. В настоящее время программа исследований ривароксабана включает более 250 тысяч человек.

Совещание проводила британский журналист Nicola Hill, член правления Ассоциации медицинских журналистов. В нём приняли участие учёные и практикующие кардиологи профессор John Camm (Лондон), Dr. Raj Patel (Лондон), Dr. Anil Chopra (Торонто, Канада), Dr. Jafna L Cox (Галифакс, Канада), Dr. Martin van Eickels (компания Bayer), а также латвийская журналист Inese Maurina, основатель организации для пациентов “ParSirdi.lv”.

Как было показано на вводной презентации, одна из трёх смертей в мире связана с заболеваниями сердца. Расходы здравоохранения на заболевания сердца достигают 169 миллиардов евро ежегодно. Каждый год 15 миллионов человек переносят инсульт, причём 85% инсультов вызваны тромбом.

Для борьбы с тромбозами применяются антитромбоцитарные и антикоагулянтные средства. В 1930-е годы единственным антикоагулянтом был высокомолекулярный гепарин. В 1940-е годы в практику были внедрены пероральные антагонисты витамина К. Эти препараты требуют жёсткой титрации дозировок и имеют множество пищевых и лекарственных взаимодействий. В 2000-е годы появились пероральные ингибиторы фактора Ха. Начало их использования стало революцией в профилактике и лечении тромбозов, поскольку теперь стало возможно проводить амбулаторную терапию без изнуряющего контроля параметров свёртывания крови. Несмотря на успех рандомизированных клинических исследований III фазы, изучение препаратов продолжается в постмаркетинговых протоколах и в реальной клинической практике. Благодаря этому, объём данных достигает огромных величин, а, значит, выводы о безопасности и эффективности приобретают всё более твёрдую основу.

Первого сентября в Берлине были объявлены результаты исследования XANTUS. Главным, что показал этот протокол, была низкая частота кровотечений при применении ривароксабана в амбулаторной практике для профилактики инсульта при фибрилляции предсердий. Эти данные подтверждают полученные ранее результаты безопасности исследования ROCKET AF — исследования третьей фазы ингибитора фактора Ха ривароксабана (Ксарелто). Однако, как заявил главный исследователь XANTUS проф. John Camm, опыт реальной практики применения препаратов имеет всё возрастающее значение для врачей, он дополняет и расширяет данные рандомизированных клинических исследований.

XANTUS — международное проспективное с одной ветвью терапии обсервационное исследование, проведенное компанией Bayer HealthCare по согласованию с Европейским агентством по лекарственным средствам (ЕМА), целью которого было оценить эффективность и безопасность назначения ривароксабана с целью профилактики инсульта у 6784 пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий. В нём участвовало 311 клинических центров из Европы (включая Россию), Канады и Израиля. Все назначения, включая определение показаний и дозировок, соответствовали реальной практике. Наблюдение проходило в течение года или, при прекращении приёма препарата, в течение месяца после отмены. Важнейшие конечные точки исследования (включая большие кровотечения и тромбоэмболии) оценивались независимым комитетом. К концу периода наблюдения 96,1% пациентов не имели каких-либо требующих лечения кровотечений, а также инсультов или системной эмболии. В исследуемой популяции смертность от всех причин была на уровне 1,9 случаев на 100 пациенто-лет; частота требующих лечения кровотечений была на уровне 2,1 случая на 100 пациенто-лет. Смертельных кровотечений было 0,2 на 100 пациенто-лет. Инсульт развивался в 0,7 случаях на 100 пациенто-лет. Три четверти пациентов, 75,1%, сообщили лечащему врачу о том, что удовлетворены (satisfied) или довольны (very satisfied) своим лечением.

Помимо XANTUS, препарат ривароксабан изучается в протоколе PMSS — проходящем в настоящее время в США и одобренном FDA (Службой по контролю за пищевыми продуктами и лекарствами) пятилетнем постмаркетинговом исследовании, проводимом в рамках обязательных мероприятий после выхода препарата на рынок. Его цель — проанализировать структуру кровотечений, возникающих при амбулаторном приёме препарата ривароксабан, структуру исходов кровотечений и связанных факторов риска у пациентов с неклапанной мерцательной аритмией. Это ретроспективное исследование. В настоящий момент проанализированы данные медицинской документации более чем 39000 пациентов за 2013–2014гг. Частота больших кровотечений в этом анализе была низкой и составила 2,9 случая

на 100 пациенто-лет, что также соответствует данным, полученным в исследовании ROCKET AF.

Препарат ривароксабан (Ксарелто) — пероральный ингибитор активированного фактора свёртывания крови Ха (Стюарта-Прауэра). Он одобрен к применению в 130 странах и имеет следующие показания:

- Профилактика венозной тромбоэмболии (ВТЭ) у пациентов, подвергающихся большому ортопедическим оперативным вмешательствам на нижних конечностях;
- Профилактика инсульта и системной тромбоэмболии у пациентов с фибрилляцией предсердий неклапанного происхождения;
- Лечение тромбоза глубоких вен;
- Профилактика рецидивов ТГВ;
- Лечение тромбоэмболии легочной артерии;
- Профилактика рецидивов ТЭЛА.
- Профилактика смерти вследствие сердечно-сосудистых причин и инфаркта миокарда у взрослых пациентов после острого коронарного синдрома, протекавшего с повышением кардиоспецифических биомаркеров в комбинированной терапии с ацетилсалициловой кислотой или с ацетилсалициловой кислотой и тиаенопиридинами — клопидогрелем или тиклопидином.

Возможность исследования препарата в реальной практике, что происходило в рамках протоколов XANTUS и PMSS, даёт совершенно новый взгляд на лекарственный препарат. В классических протоколах II-III и даже иногда IV фазы отбор больных происходит согласно строгим критериям включения/исключения. Как следствие этого, — результаты, получаемые в этих исследованиях, не всегда повторяются в реальной практике. Данные, полученные в исследованиях XANTUS и PMSS соответствуют результатам рандомизированного клинического исследования III фазы ROCKET AF, что, с одной стороны, свидетельствует о том, что в последнее были включены типичные пациенты, а с другой стороны, подтверждает предсказуемые благоприятные профили эффективности и безопасности Ксарелто в повседневной клинической практике.

(Материал подготовлен представителем Российского кардиологического журнала на конгрессе ESC).

ИТОГИ ЕВРОПЕЙСКОГО КОНГРЕССА КАРДИОЛОГОВ 2015

Мамедов М. Н.

29 августа — 1 сентября 2015г в Лондоне состоялся ежегодный Европейский конгресс кардиологов.

В работе конгресса принимали участие 32773 делегата из более 50 стран мира. Россия была представлена 440 делегатами, включая ученых, врачей и организаторов здравоохранения из разных городов страны.

Оргкомитет конгресса представил ряд новых коммуникационных технологий. В дни конгресса ежедневно осуществлялась электронная рассылка с основными новостями и пресс-релизами для всех зарегистрированных на официальном сайте специалистов. Онлайн телевизионный канал в режиме реального времени транслировал научные мероприятия конгресса. Запущен проект ESC365, позволяющий в течение года на сайте Европейского общества кардиологов ознакомиться с видеоматериалами, слайдами, тезисами и прочими материалами конгресса бесплатно.

Научная программа конгресса была насыщенной, включала пленарные заседания, симпозиумы, дискуссии, постерные сессии, выступления на выставочных площадках, интерактивные заседания и др.

В первый день конгресса Европейское общество кардиологов представило 5 клинических рекомендаций:

- по диагностике и лечению легочной гипертензии;
- по диагностике, лечению и профилактике инфекционного эндокардита;
- по диагностике и лечению заболеваний перикарда;
- по ведению пациентов с желудочковыми аритмиями и предупреждению внезапной сердечной смерти;
- по ведению пациентов с острыми коронарными синдромами без стойких подъемов сегмента ST.

В ближайшее время Российским кардиологическим обществом будут представлены версии этих рекомендаций на русском языке в разделе сайта http://www.scardio.ru/rekomendacii/rekomendacii_esc/.

Традиционно наибольший интерес вызывают сессии HOT LINE с представлением результатов крупных научных и клинических исследований. На протяжении 3 дней по 6 направлениям: острый инфаркт миокарда, фибрилляция предсердий/водители ритма, сахарный диабет/фармакология, гипертензия, сердечная недостаточность, коронарная болезнь сердца; были представлены результаты 28 исследований, 18 обновлений клинических исследований и 20 регистров. Нижеперечисленные исследования вызвали большой интерес и дискуссию среди делегатов:

— PLATFORM: использование диагностической стратегии компьютерной томографии с методом дробного потока (fractional flow reserve), которая значительно снижает количество пациентов с ишемической болезнью сердца, нуждающихся в инвазивной коронарной ангиографии.

— MATRIX: является ли эффективным длительная инфузия бивалирудина?

— Терапия синдрома апноэ сна: нейтральное влияние на конечные точки с тенденцией увеличения смертности.

— PARAMETER: LCZ696 по сравнению с олесартаном лучше снижает жесткость артерий у пожилых.

— Некоторые сахароснижающие препараты увеличивают сердечно-сосудистые осложнения.

— OptiLink HF: дистанционный внутригрудной импеданс-мониторинг не улучшает выживаемость больных с хронической сердечной недостаточностью.

— PROMPT: стимуляторы левого желудочка не уменьшают ремоделирования после обширного инфаркта миокарда.

— PATHWAY3: комбинация амилорида и гидрохлортиазида нейтрально влияет на обмен глюкозы, лучше снижает артериальное давление по сравнению с монотерапией каждого из них.

— DOPPLER-CIP: небольшие размеры сердца и утолщенные стенки являются предикторами ремоделирования при ишемической болезни сердца.

В научных материалах конгресса опубликовано 4533 тезисов.

Российское кардиологическое общество в числе семи ассоциаций стало участником пилотного проекта NSC&ESC, в рамках которого национальные общества представляют внедрение европейских рекомендаций в клиническую практику своих стран. Российские ученые принимали участие в научной программе конгресса как с устными, так и стендовыми докладами.

Победителем конкурса по сложным клиническим случаям стала международная команда, капитаном которой ее участники выбрали профессора С. Т. Мацкеплишвили.

Следующий Европейский конгресс кардиологов состоится с 27 по 31 августа 2016 года в Риме. Более подробно с материалами Европейского конгресса кардиологов можно ознакомиться на официальном сайте Европейского общества кардиологов www.escardio.org

ВЫРАЖЕННОЕ СНИЖЕНИЕ АД ТОЧНОЕ ПОПАДАНИЕ В ЦЕЛЬ



ПРЕСТАНС

ПЕРИНДОПРИЛА АРГИНИН + АМЛОДИПИН

1 ТАБЛЕТКА В ДЕНЬ

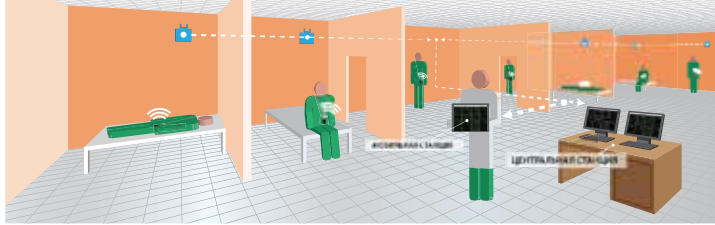


Рег. ул., N ЛСР-000836/10
Реклама

СОСТАВ*: Престанс в таблетках 5 мг/5 мг, 5 мг/10 мг, 10 мг/5 мг, 10 мг/10 мг, содержащих, соответственно, периндоприла аргинина 5 мг / амлодипина 5 мг, периндоприла аргинина 5 мг / амлодипина 10 мг, периндоприла аргинина 10 мг / амлодипина 5 мг, периндоприла аргинина 10 мг / амлодипина 10 мг. Содержит лактозу в качестве вспомогательного вещества. **ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ*:** Артериальная гипертензия и/или ишемическая болезнь сердца (ИБС): стабильная стенокардия напряжения у пациентов, которым требуется терапия периндоприлом и амлодипином. **СПОСОБ ПРИМЕНЕНИЯ И ДОЗЫ*:** Внутрь по 1 таблетке 1 раз в сутки утром перед приемом пищи. Доза препарата подбирается после ранее проведенного титрования доз отдельных компонентов препарата. Пациенты пожилого возраста и пациенты с почечной недостаточностью: Необходимо регулярно контролировать концентрацию креатинина и калия в плазме крови. Противопоказан пациентам с клиренсом креатинина (КК) менее 60 мл/мин. Пациенты с печеночной недостаточностью: Поиск оптимальной начальной и поддерживающей дозы следует проводить индивидуально, применяя препараты амлодипина и периндоприла в монотерапии. Дети и подростки: Не следует назначать детям и подросткам до 18 лет. **ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ*:** Гиперчувствительность к периндоприлу или другим ингибиторам АПФ, к амлодипину или другим производным дигидропиридина, или к любому вспомогательному веществу; ангионевротический отек в анамнезе на фоне терапии ингибитором АПФ; наследственный/идиопатический ангионевротический отек; тяжелая артериальная гипотензия, шок, включая кардиогенный, обструкция выходного тракта левого желудочка (напр., клинически значимый стеноз аорты); гемодинамически нестабильная сердечная недостаточность после острого инфаркта миокарда, почечная недостаточность, возраст до 18 лет, наследственная непереносимость лактозы, лактазная недостаточность и глюкозо-галактозная мальабсорбция. **ОСОБЫЕ УКАЗАНИЯ*:** Повышенная чувствительность/ангионевротический отек. При появлении симптомов прием препарата должен быть немедленно прекращен, а пациент должен наблюдаться до полного исчезновения симптомов. Анафилактические реакции при проведении афереза ЛПНП или десенсибилизации. Следует временно прекратить терапию перед каждой процедурой. Нейтропения/агранулоцитоз/тромбоцитопения/анемия. С особой осторожностью следует применять у пациентов с системными заболеваниями соединительной ткани, на фоне приема иммунодепрессантов, аллопуринола или прокаинамида, особенно у пациентов с нарушенной функцией почек. Таким пациентам рекомендуется контролировать лейкоциты в крови. Беременность. Необходимо прекратить лечение. При необходимости назначить другую гипотензивную терапию. Артериальная гипотензия. У пациентов с повышенным риском развития симптоматической артериальной гипотензии и у пациентов со стенокардией и цереброваскулярными заболеваниями необходимо тщательно контролировать АД, функцию почек и содержание калия в сыворотке крови. Преходящая артериальная гипотензия не является препятствием для дальнейшего приема препарата. После восстановления объема циркулирующей крови и АД лечение может быть продолжено. Митральный стеноз/аортальный стеноз/гипертрофическая обструктивная кардиомиопатия. С осторожностью. Сердечная недостаточность. С осторожностью. Нарушение функции почек. Пациентам с почечной недостаточностью (КК менее 60 мл/мин) рекомендуется индивидуальный подбор доз периндоприла и амлодипина и необходим регулярный контроль содержания калия и креатинина в сыворотке крови. У пациентов с двусторонним стенозом почечной артерии или стенозом артерии единственной почки на фоне терапии ингибиторами АПФ возможно повышение концентрации мочевины и креатинина в сыворотке крови. Наличие реноваскулярной гипертензии обуславливает повышенный риск развития тяжелой артериальной гипотензии и почечной недостаточности. Почечная недостаточность. Амлодипин не выводится из организма посредством диализа. Печеночная недостаточность. При появлении желтухи или значительного повышения активности «печеночных» ферментов следует прекратить прием препарата. Пациентам с тяжелой печеночной недостаточностью повышать дозу следует постепенно, обеспечивая тщательный мониторинг клинического состояния. Этнические различия. У пациентов негроидной расы чаще, чем у представителей других рас развивается ангионевротический отек. Кашель. Сухой кашель. Хирургические вмешательства под общей анестезией. Прекратить прием препарата за 24 ч до хирургического вмешательства. Гиперкалиемия. Лечение должно проводиться на фоне регулярного контроля содержания калия в сыворотке крови у пациентов с почечной недостаточностью, в возрасте старше 70 лет, сахарным диабетом, некоторыми сопутствующими состояниями (дегидратация, острая декомпенсация хронической сердечной недостаточности, метаболический ацидоз), одновременным приемом калийсберегающих диуретиков, а также препаратов калия. Сахарный диабет. В течение первого месяца терапии необходимо контролировать концентрацию глюкозы в крови. Гипернатриемический криз. Эффективность и безопасность не установлены. Пожилые пациенты. Повышение дозы с осторожностью. **ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ДРУГИМИ ЛЕКАРСТВЕННЫМИ СРЕДСТВАМИ*:** Не рекомендуются сочетания: калийсберегающие диуретики, препараты калия или калийсодержащие заменители пищевой соли, препараты лития, эстрамусти, дантролен (внутривенное введение), грейпфрутовый сок. Сочетания препаратов, требующие особого внимания: нестероидные противовоспалительные средства (НПВС), включая ацетилсалициловую кислоту ≥ 3 г/сут, гипогликемические средства для приема внутрь, производные сульфонилмочевины и инсулины, индукторы и ингибиторы изоферментов цитохрома CYP3A4, баклофен. Сочетания препаратов, требующие внимания: диуретики, симпатомиметические средства, препараты золота, гипотензивные средства, вазодилаторы, кортикостероиды, тетракозактид, α -адреноблокаторы (празозин, альфузозин, доксазозин, тамсулозин, теразозин), амфостин, трициклические антидепрессанты, нейролептики, средства для общей анестезии, аллопуринол, цитостатические и иммуносупрессивные средства, прокаинамид. **БЕРЕМЕННОСТЬ И КОРМЛЕНИЕ ГРУДЬЮ*:** Препарат не рекомендуется применять в первом триместре беременности и при кормлении грудью. Препарат противопоказан во втором и третьем триместрах беременности. **ОБЕДИТЕЛЬНOSTЬ*:** Обратимое снижение подвижности тромбоцитов у некоторых пациентов, принимавших блокаторы кальциевых каналов. **ВЛИЯНИЕ НА СПОСОБНОСТЬ УПРАВЛЯТЬ АВТОМОБИЛЕМ И ВЫПОЛНЯТЬ РАБОТЫ, ТРЕБУЮЩИЕ ПОВЫШЕННОЙ СКОРОСТИ ФИЗИЧЕСКИХ И ПСИХИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ*:** Вследствие возможного развития головокружения, сонливости и других побочных реакций, следует соблюдать осторожность. **ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ*:** Часто: Сонливость, головокружение, головная боль, парестезия, вертиго, нарушения зрения, шум в ушах, сердцебиение, «приливы» крови к коже лица, артериальная гипотензия, одышка, кашель, боль в животе, тошнота, рвота, диспепсия, диарея, запор, зуд, сильная экзема, отек голеней, мышечные спазмы, отек, повышенная утомляемость, астения. Нечасто: аллергические реакции, бессонница, лабильность настроения, нарушение сна, ринит, бронхоспазм, изменение ритма дефекации, сухость слизистой оболочки полости рта, тремор, гипестезия, депрессия, обморок, ангионевротический отек лица, конечностей, губ, слизистых оболочек, языка, голосовых складок и/или гортани, аллопеция, геморрагическая сыпь, изменение цвета кожи, повышенная потливость, крапивница, артралгия, миалгия, боль в спине, нарушение мочеиспускания, никтурия, учащенное мочеиспускание, нарушение функции почек, импотенция, гинекомастия, боль в грудной клетке, недомогание, боли, увеличение массы тела, снижение массы тела. Редко: спутанность сознания, повышение концентрации билирубина. Очень редко: лейкопения/нейтропения, агранулоцитоз, панцитопения, тромбоцитопения, гемолитическая анемия у пациентов с врожденным дефицитом глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, снижение гемоглобина и гематокрита, гипергликемия, периферическая нейропатия, гипертонус, стенокардия, инфаркт миокарда, аритмия, инсульт, васкулит, зоонозная пневмония, панкреатит, гиперплазия десен, гастрит, гепатит, желтуха, повышение активности «печеночных» ферментов, цитолитический или холестатический гепатит, отек Квинке, мультиформная эритема, синдром Стивенса-Джонсона, эксфолиативный дерматит, фоточувствительность, острая почечная недостаточность. Неутонченной частоты: гипогликемия, повышение концентрации мочевины и креатинина в сыворотке, крови, гиперкалиемия. Зарегистрированы отдельные случаи экстрапирамидного синдрома. **ПЕРЕДОЗИРОВКА* ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ*:** Периндоприл - ингибитор фермента, превращающего ангиотензин I в ангиотензин II (ингибитор АПФ). Амлодипин - БМКК, производное дигидропиридина, ингибирует трансмембранный переход ионов кальция в кардиомиоциты и гладкомышечные клетки сосудистой стенки. **ФОРМА ВЫПУСКА*:** Таблетки, содержащие 5 мг периндоприла аргинина + 5 мг амлодипина, 10 мг периндоприла аргинина + 10 мг амлодипина, 5 мг периндоприла аргинина + 10 мг амлодипина, 10 мг периндоприла аргинина + 5 мг амлодипина. По 30 таблеток во флакон из полипропилена, снабженный дозатором и пробкой, содержащей влагопоглощающий гель (силикагель). По 1 флакону с инструкцией по медицинскому применению в пачку картонную с контролем первого вскрытия. Упаковка для стационаров. По 30 флаконов в картонном поддоне с ячейками для флаконов, с равным количеством инструкций по медицинскому применению в пачку картонную с контролем первого вскрытия. По 3 флакона с равным количеством инструкций по медицинскому применению в пачку картонную с контролем первого вскрытия. **Предоставление АО «Лаборатории Сервье» (Франция), 115054, Москва, Павелецкая пл., д. 2, стр. 3, тел. (495) 937-07-00, факс (495) 937-07-01, www.servier.ru**
* Для получения полной информации, пожалуйста, обратитесь к инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата.
Регистрационное удостоверение: ЛСР-000836/10.

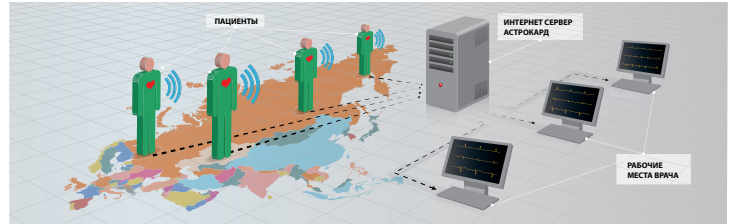
Комплекс для телеметрической регистрации ЭКГ «Астрокард® - Телеметрия»

- ✓ Мониторирование ЭКГ в реальном времени по 2-3 или 12 отведениям 1-64 пациентов одновременно.
- ✓ Свободное перемещение пациентов по отделению.
- ✓ Компактные, удобные регистраторы ЭКГ по 2-3 или 12 отведениям.
- ✓ Центральная мониторинговая станция дает широкие возможности наблюдения, выдачи сигнала «Тревога», записи в Базу данных.
- ✓ Ретроспективный анализа ЭКГ в программе холтеровского мониторирования.
- ✓ Возможность использования мобильной центральной мониторинговой станции.



Комплекс для телеметрической регистрации ЭКГ «Астрокард® - Телеметрия» ЗС

- ✓ Мониторирование по сетям мобильного интернета на любой удаленности
- ✓ Свободное перемещение пациента
- ✓ Непрерывное мониторирование ЭКГ по 3 отведениям в течении длительного (более 24 часов, многосуточного) времени
- ✓ Мониторирование ЭКГ по 3 отведениям неограниченного количества пациентов одновременно
- ✓ Компактные, удобные регистраторы ЭКГ
- ✓ Ретроспективный анализа ЭКГ в программах холтеровского мониторирования



Комплекс для проведения суточного мониторирования ЭКГ и АД «Холтеровский анализ — Астрокард®» (Astrocard® Holtersystem).

- ✓ Анализ нарушений ритма и динамики ST,
- ✓ Анализ мерцательной аритмии,
- ✓ Анализ искусственного водителя ритма,
- ✓ Вариабельность ритма сердца,
- ✓ Анализ ЭКГ высокого разрешения,
- ✓ Анализ интервала QT,
- ✓ Анализ микровольтной альтернации волны Т,
- ✓ Анализ турбулентности сердечного ритма,
- ✓ Регистрация и анализ поздних желудочковых и предсердных потенциалов,
- ✓ Технология PTADEF®,
- ✓ Регистрация дыхательных движений и АПНОЭ, а также другие возможности.



Комплекс для проведения проб с физической нагрузкой — Астрокард® Полисистем ФС (Astrocard® Polysystem-FS)

- ✓ Совместная работа с тредмилом, велоэргометром, велоэргометром стресс-эхо
- ✓ Применение как современной беспроводной, так и классической (с помощью провода) передачи ЭКГ по 12 отведениям
- ✓ Автоматический анализ нарушений сердечного ритма и динамики ST
- ✓ Автоматическая регистрация АД
- ✓ Высочайшая надежность и отказоустойчивость
- ✓ Использование пульсоксиметрии
- ✓ Дополнительные научные возможности: анализ вариабельности ритма, поздние желудочковые потенциалы, микровольтная альтернация Т
- ✓ Детекция импульсов ЭКС. Построение петель гистерезиса ST и ЧСС



Система для кардиореабилитации Astrocard®

- ✓ Система для кардиореабилитации Astrocard предназначена для поэтапного восстановительного лечения с использованием различных программ тренировок и нагрузочных устройств. Система позволяет контролировать одновременно до 10 велоэргометров или беговых дорожек, и осуществляет непрерывную регистрацию ЭКГ (до 3-х каналов) и контроль основных параметров ЭКГ (ЧСС, ST, нарушения ритма).



Polysystem-EP/L ("КардиоЭфи") комплекс для неинвазивных электрофизиологических исследований (ЧПЭС)

- ✓ Автоматизация основных программ исследования
- ✓ Автоматическое измерение интервалов
- ✓ Отображение результатов исследования в графической форме с возможностью редактирования в реальном времени
- ✓ Уникальная технология стабилизации изолинии после электростимулов
- ✓ Широкие возможности фильтрации в реальном времени
- ✓ Высочайшая надежность и отказоустойчивость
- ✓ Дополнительные научные возможности: микровольтная альтернация Т волны



Комплекс для полисомнографических исследований — Астрокард® Сомностудия

Верификация ночных нарушений ритма на предмет апноэ

- ✓ Регистрация и автоматический анализ эпизодов апноэ, храпа, десатурации, дыхательного потока, дыхательных движений, активности и положения тела пациента.
- ✓ Рекордно малый вес и габариты носимого регистратора
- ✓ Удобный и информативный интерфейс
- ✓ Регистрация и анализ ЭКГ и АД (при совместной работе с комплексом суточного мониторирования ЭКГ и «Холтеровский анализ - Астрокард®»)
- ✓ Полная совместимость и возможность совместной работы с Комплексом суточного мониторирования ЭКГ и АД «Холтеровский анализ - Астрокард®»



Polysystem-EP\H Нефлюороскопический комплекс для проведения внутрисердечных электрофизиологических исследований сердца (Астрокард® - КардиоЭфи II)

- ✓ Регистрация 128 эндокардиальных каналов и 12 отведений ЭКГ
- ✓ Совместимость с электродами (катетерами) различных производителей
- ✓ 2-х каналный электрокардиостимулятор
- ✓ Мощный радиочастотный деструктор
- ✓ Высоточная нефлюороскопическая навигационная система
- ✓ 3 канала инвазивного давления
- ✓ Совместимость с другими продуктами Астрокард

